UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
COMISIÓN ORGANIZADORA

RESOLUCIÓN DE COMISIÓN ORGANIZADORA N° 0030-2020-UNAM

Moquegua, 15 de enero de 2020

VISTOS, el Oficio N° 016-2020-VPI/UNAM del 15.01.2020, Informe N° 041-2020-DGI/VPI/UNAM del 13.01.2020, Informe N° 009-2020-UPI-DGI-VPI/UNAM del 08.01.2020, Informe Legal N° 1622-2019-OAL/CO-UNAM del 31.12.2019, Informe N° 1121-2019-DGI/VPI/UNAM del 26.11.2019, Informe N° 277-2019-UPI-DGI-VPI/UNAM del 21.11.2019, Informe N° 193-2019-YORB-DGI del 17.09.2019, y el Acuerdo de Sesión Ordinaria de Comisión Organizadora de fecha 15 de enero de 2020, y;

CONSIDERANDO:

Que, el párrafo cuarto del artículo 18° de la Constitución Política del Estado, concordante con el artículo 8° de la Ley N° 30220, Ley Universitaria, reconoce la autonomía universitaria, en el marco normativo, de gobierno, académico, administrativo y económico, que guarda concordancia con el Capítulo IV del Estatuto de la UNAM.

Que, mediante Resolución de Comisión Organizadora N° 405-2014-UNAM, de fecha 21.07.2014, en su artículo primero dispone: *Aprobar el resultado... del I Concurso de proyectos de investigación con fondos de canon minero, sobre canon y regalías mineras de la Universidad Nacional de Moquegua...*, de cuyo primer cuadro, que comprende a los proyectos de carácter multidisciplinario, en su ítem 04, se menciona el Proyecto de Investigación denominado: *"Obtención de biodiesel a partir de micro algas cuantificando su potencial bioenergético en el litoral de la Provincia de Ilo del año 2014"*, el equipo de investigación está conformado por el Director: Dr. Walter Merma Cruz, los Investigadores Asociados: Blga. Isabel del Carmen Espinoza Reynoso, Ing. Giovanna Verónica Guevara Cancho y Mg. Katy Consuelo Alejandro Pérez, y, el Investigador Externo: Q.F. Stamber Álvaro Ramírez Revilla; asimismo, conforme al artículo segundo, la asignación económica para dicho proyecto de investigación equivale a S/ 250,000.00 Soles.

Que, mediante Carta N° 74-2017-WMC/DPI-UNAM, recibido en fecha 09.01.2018, el director del proyecto de investigación, remite el informe final y económico, sugiriendo la revisión y se le notifique las observaciones que pudieran existir. El Informe Contable Final, presentado hacia agosto del año 2018, señala que existe una variación o diferencia entre los montos del presupuesto aprobado y el gasto ejecutado por específica de gasto, según el siguiente detalle:

Ítem	Descripción	Programado		Ejecutado		Variación	
		Importe	%	Importe	%	Importe	%
1	Personal	0.00		0.00		0.00	
2	Bienes	0.00		9,670.15		-9,670.15	
3	Servicios	0.00		73,194.80		-73,194.80	
4	Equipamiento y bienes duraderos	0.00		180,308.18		-180,308.18	
	TOTAL (S/)	**250,000.00**	**100**	**263,173.13**	**105.27**	**-13,173.13**	**-5,27**

Se concluye que el gasto financiero, del proyecto de investigación citado, asciende a un monto de S/ 263,173.13 Soles, representando una ejecución del 105.27 del presupuesto aprobado. Asimismo, el no existe saldo financiero, por el contrario, se verifica que existe un sobregasto (exceso de gasto) con respecto al presupuesto aprobado, por el importe de S/ 13,173.13 Soles. Con Informes N° 156-2019/EPIP/UNAM/FILIAL ILO, de fecha 30.05.2019, el director del proyecto de investigación, señala que se ha efectuado el internamiento de equipos a la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera, mediante la Carta N° 003-2019-EPIP-WMC/UNAM-FILIAL ILO, de fecha 09.05.2019, adjuntándose el Ficha de levantamiento de información –inventario patrimonial. Hecho concordante con el Acta de internamiento de bienes N° 027-2019, suscrita el 30.05.2019, por el director del proyecto y el encargado por la Unidad de Patrimonio. A través del Informe N° 193-2019-YORB-DGI, de fecha 17.09.2019, la especialista administrativo de la Dirección de Gestión de la Investigación, concluye que según la evaluación del informe final del proyecto de investigación titulado: "Obtención de biodiesel a partir de micro algas cuantificando su potencial bioenergético en el litoral de la Provincia de Ilo del año 2014", evaluado por pares evaluadores externos con nota aprobatoria de 97.5; sin embargo, es preciso la subsanación del porcentaje de similitud hasta un 20% y que se informe el excedente de S/ 13,173.13 Soles que se gastaron. Mediante Carta N° 022-2019-WMC/DPI-UNAM, recibido en fecha 08.11.2019, el director del proyecto de investigación, remite el levantamiento de observaciones al informe final, señalando: respecto de la primera observación solo se adjunta una página, no indicándose las frases, párrafos, líneas, palabras, páginas lo cual no ayuda a levantar ninguna observación. Sobre el gasto adicional, señala que la entidad adquirió el equipo liofilizador el cual superó el costo previsto. Por medio del Informe N° 277-2019-YORB-DGI, de fecha 20.11.2019, la especialista administrativo de la Dirección de Gestión de la Investigación, concluye que según la evaluación del informe final del proyecto de investigación titulado: "Obtención de biodiesel a partir de micro algas cuantificando su potencial bioenergético en el litoral de la Provincia de Ilo del año 2014", evaluado por pares evaluadores externos con nota aprobatoria de 97.5, y habiéndose levantado las observaciones correspondientes al informe final técnico económico, se solicita la aprobación del informe final según el siguiente detalle:

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
COMISIÓN ORGANIZADORA

RESOLUCIÓN DE COMISIÓN ORGANIZADORA N° 0030-2020-UNAM

Proyecto de Investigación	Equipo de Investigación	Escuela profesional	Línea de Investigación	Evaluador Técnico Investigador	Puntaje
Obtención de biodiesel a partir de micro algas cuantificando su potencial bioenergético en el litoral de la Provincia de Ilo del año 2014	*Director:* Dr. Walter Merma Cruz *Investigadores Asociados:* Blga. Isabel del Carmen Espinoza Reynoso, Ing. Giovanna Verónica Guevara Cancho Mg. Katy Consuelo Alejandro Pérez, *Investigador Externo:* Q.F. Stamber Álvaro Ramírez Revilla	Ingeniería Pesquera	Biocombustible/ Energías renovables	Dr. Cesar Augusto Andrade Taca Dra. Patricia Liliana Gil Kodaka	97.5

A través del Informe N° 1121-2019-DGI/VPI/UNAM, de fecha 21.11.2019, el director de la Dirección de Gestión de la Investigación, recomienda tramitar la aprobación del proyecto de investigación finalizado mediante acto resolutivo.

Que, con Informe Legal N° 1622-2019-OAL/CO-UNAM del 31.12.2019, el jefe de la Oficina de Asesoría Legal, señala respecto a la investigación, que la Ley N° 30220 Ley Universitaria, en su artículo 48°, dispone: *"La investigación constituye una función esencial y obligatoria de la universidad, que la fomenta y realiza, respondiendo a través de la producción de conocimiento y desarrollo de tecnologías a las necesidades de la sociedad, con especial énfasis en la realidad nacional. Los docentes, estudiantes y graduados participan en la actividad investigadora en su propia institución o en redes de investigación nacional o internacional, creadas por las instituciones universitarias públicas o privadas.* Como se aprecia, la investigación constituye como una función esencial y obligatoria de las universidades, ya que estás la fomentan. Sobre los proyectos de investigación e informe final, señala que el Reglamento General de Investigación de la UNAM, aprobada mediante Resolución de Comisión Organizadora N° 1133-2018-UNAM, en su artículo 25°, sobre el proyecto de investigación, señala: *El proyecto de investigación es un constructo teórico del investigador en el cual se define el objeto de estudio, la naturaleza y título del trabajo, los recurso a emplearse, el problema de investigación e hipótesis, los objetivos, la metodología a usarse, la población y muestra a investigarse, el diseño experimental o no experimental a aprobarse y la literatura que servirá de sustento para la posterior ejecución del trabajo.* Ahora, según el literal a) del artículo 26 del reglamento aludido, sobre las clases de proyectos de investigación, estos pueden ser: Proyectos concursales que perciben financiamiento de la UNAM. Tal es el caso del presente proyecto de investigación de carácter multidisciplinario. El numeral 9.2 del ítem 9 respecto de las evaluaciones del informe final de la Directiva N° 001-2016-UNAM/VPI-DGI "Directiva para la ejecución de gastos en los proyectos de investigación financiados con fondos de canon minero, sobre canon, regalías, renta de aduanas y participaciones", aprobada mediante R.C.O. N° 439-2016-UNAM, dispone: *Al finalizar la ejecución del proyecto, el director del proyecto presentará a la DGI el informe final...* el cual según el numeral 9.3 constará de dos partes independientes: *a) El informe técnico conteniendo los resultados de investigación acorde a los objetivos del proyecto de investigación... b) El informe económico acorde al cronograma de ejecución de gastos documentado que sustente los gastos realizados por el proyecto de investigación y que acredite que ha realizado las rendiciones de cuentas a las dependencias correspondientes.* Ahora bien, el resultado de la investigación conforme al numeral 9.11 será: a) Aceptado cuando el proyecto de investigación ha alcanzado sus objetivos generales y específicos; b) Rechazado, cuando el proyecto no alcanzó sus objetivos y existen deficiencias de fondo insuperables (...); en ese orden de ideas, el Proyecto de Investigación de carácter multidisciplinario "Obtención de biodiesel a partir de micro algas cuantificando su potencial bioenergético en el litoral de la Provincia de Ilo del año 2014", ha sido financiado por la Universidad Nacional de Moquegua, ejecutado durante los años 2014, 2015, 2016 y 2017, cuyo gasto financiero representa el 105.27%, existiendo un sobregasto de S/ 13,173.13 (según informe económico); asimismo, dicho proyecto ha sido aceptado, de conformidad con la evaluación de pares evaluadores externos, habiendo obtenido un puntaje de 95.7, estando dentro del rango de 91 a 120 puntos. Sobre el gasto en exceso, el director de la investigación alude que se debe a la adquisición de un equipo liofilizador, sin embargo, el literal b) del numeral 8.7 de la directiva acotada, señala que la oficina de logística podrá ajustar las características de lo que se va a contratar o adquirir según plan de trabajo, previa autorización del director del proyecto de investigación. Al respecto cabe indicar que, al firmar el contrato, se asume los compromisos y obligaciones de cumplir fielmente con el cronograma de ejecución del proyecto de acuerdo a su plan de trabajo y demás acciones correspondientes; por lo que corresponde APROBAR el Informe Final y culminación del Proyecto de Investigación de carácter multidisciplinario, denominado: "Obtención de biodiesel a partir de micro algas cuantificando su potencial bioenergético en el litoral de la Provincia de Ilo del año 2014", financiado por la Universidad Nacional de Moquegua, según R.C.O. N° 405-2014-UNAM; cuyo resultado ha sido aceptado, según la calificación otorgada por los pares evaluadores. Por tanto, debe emitirse el acto resolutivo correspondiente.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
COMISIÓN ORGANIZADORA

RESOLUCIÓN DE COMISIÓN ORGANIZADORA N° 0030-2020-UNAM

El equipo de investigación estuvo conformado, por los siguientes miembros:
Director : *Dr. Walter Merma Cruz*
Investigadores Asociados : *Blga. Isabel del Carmen Espinoza Reynoso,*
: *Ing. Giovanna Verónica Guevara Cancho*
: *Mg. Katy Consuelo Alejandro Pérez,*
Investigador Externo : *Q.F. Stamber Álvaro Ramírez Revilla*

Asimismo, del informe económico, se desprende que el gasto financiero asciende a S/ 263,173.13 Soles, en consecuencia, existe un sobregasto equivalente a S/ 13,173.13 Soles, respecto del presupuesto aprobado de S/ 250,000.00 Soles, por lo tanto, dispóngase si corresponde o no iniciar, las acciones administrativas para la determinación de la responsabilidad administrativa, respecto del director del proyecto de investigación. Recomendando a la Dirección de Gestión de la Investigación, emitir lineamientos o directivas para efectuar la liquidación financiera de Proyectos de Investigación.

Que, con Oficio N° 016-2020-VPI/UNAM del 15.01.2020, el Vicepresidente de Investigación, en atención al Informe N° 041-2020-DGI/VPI/UNAM del 13.01.2020, solicita al Despacho de la Presidencia la aprobación del Informe Final y culminación del Proyecto de Investigación de carácter multidisciplinario, denominado: "Obtención de biodiesel a partir de micro algas cuantificando su potencial bioenergético en el litoral de la Provincia de Ilo del año 2014", financiado por la Universidad Nacional de Moquegua, presentado por el Dr. Walter Merma Cruz, Director General del referido proyecto y financiado por la Universidad Nacional de Moquegua, a través de la Resolución de Comisión Organizadora N° 405-2014-UNAM; habiendo obtenido nota aprobatoria efectuado por los pares evaluadores, reporte anti plagio *URKUND* y la respectiva opinión legal favorable.

Que, la Comisión Organizadora de la Universidad Nacional de Moquegua, en Sesión Ordinaria de Comisión Organizadora de fecha 15 de enero de 2020, por UNANIMIDAD, acordó, aprobar, el Informe Final y culminación del Proyecto de Investigación de carácter multidisciplinario, denominado: "Obtención de biodiesel a partir de micro algas cuantificando su potencial bioenergético en el litoral de la Provincia de Ilo del año 2014", presentado por el Dr. Walter Merma Cruz, Director General del referido proyecto y financiado por la Universidad Nacional de Moquegua, a través de la Resolución de Comisión Organizadora N° 405-2014-UNAM.

Que, estando a las consideraciones precedentes y en uso de las atribuciones que concede la Ley Universitaria N° 30220, Resolución de Consejo Directivo N° 103-2017-SUNEDU-CD y el *Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua*, aprobado con Resolución de Comisión Organizadora N° 278-2019-UNAM de fecha 11 de abril del 2019.

SE RESUELVE

ARTÍCULO PRIMERO. – APROBAR, el Informe Final y culminación del Proyecto de Investigación de carácter multidisciplinario, denominado: **"Obtención de biodiesel a partir de micro algas cuantificando su potencial bioenergético en el litoral de la Provincia de Ilo del año 2014"**, presentado por el Dr. Walter Merma Cruz, Director General del referido proyecto y financiado por la Universidad Nacional de Moquegua, a través de la Resolución de Comisión Organizadora N° 405-2014-UNAM, con el siguiente equipo de trabajo:

Director : Dr. Walter Merma Cruz
Investigadores Asociados : Blga. Isabel del Carmen Espinoza Reynoso,
: Ing. Giovanna Verónica Guevara Cancho
: Mg. Katy Consuelo Alejandro Pérez,
Investigador Externo : Q.F. Stamber Álvaro Ramírez Revilla

ARTÍCULO SEGUNDO. - DISPONER, a la Comisión de Procesos Administrativos Disciplinarios para Docentes, si corresponde o no iniciar, las acciones administrativas para la determinación de responsabilidad administrativa, respecto del director del proyecto de investigación, por el sobregasto equivalente a S/. 13,173.13 Soles, respecto del presupuesto aprobado de S/ 250,000.00 Soles; en vista que, del informe económico, se desprende que el gasto financiero asciende a S/ 263,173.13 Soles.

ARTÍCULO TERCERO. - ENCARGAR, a la Vicepresidencia de Investigación, emitir lineamientos o directivas para efectuar la liquidación financiera de Proyectos de Investigación, así como adoptar las acciones necesarias para el cumplimiento de la presente resolución.

Regístrese, Comuníquese, Publíquese y Archívese.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA - PRESIDENCIA

DR. WASHINGTON ZEBALLOS GÁMEZ
PRESIDENTE

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA - SECRETARIA GENERAL

ABOG. GUILLERMO S. KUONG CORNEJO
SECRETARIO GENERAL

Presidencia
VIPAC
VPI
DGI
OTIN
Interesado

LJCQ/Esp.
Arch. (2)

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

VICEPRESIDENCIA DE INVESTIGACIÓN

UNAM
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

VICEPRESIDENCIA DE INVESTIGACIÓN

INFORME CIENTÍFICO FINAL

"OBTENCIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE MICROALGAS NATIVAS CUANTIFICANDO SU POTENCIAL BIOENERGÉTICO EN EL LITORAL DE LA PROVINCIA DE ILO DEL AÑO 2014"

NOMBRE DEL DIRECTOR Dr. Walter Merma Cruz

NOMBRE DE INVESTIGADORES ASOCIADOS
Ing. Giovanna Verónica Guevara Cancho
Mg. Katy Consuelo Alejandro Pérez
Blga. Isabel del Carmen Espinoza Reynoso

NOMBRE DE INVESTIGADOR ASOCIADO EXTERNO
Quim. Stamber Ramirez Revilla

OCTUBRE 2017

MOQUEGUA – PERÚ

1. Título

"OBTENCIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE MICROALGAS NATIVAS CUANTIFICANDO SU POTENCIAL BIOENERGÉTICO EN EL LITORAL DE LA PROVENCIA DE ILO DEL AÑO 2014"

2. Autor (es)

2.1. Nombre Del Director:

Dr. Walter Merma Cruz

2.2. Investigadores Asociados:

Ing. Giovanna Verónica Guevara Cancho

Mg. Katy Consuelo Alejandro Pérez

Blgo. Isabel del Carmen Espinoza Reynoso

2.3. Investigador Asociado Externo:

Quim. Stamber Ramírez Revilla

Índice

"OBTENCIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE MICROALGAS NATIVAS CUANTIFICANDO SU POTENCIAL BIOENERGÉTICO EN EL LITORAL DE LA PROVINCIA DE ILO DEL AÑO 2014" 1

1. Título 2

2. Autor (es) 2

2.1. Nombre Del Director: 2

2.2. Investigadores Asociados: 2

2.3. Investigador Asociado Externo: 2

3. **Resumen** 6

4. **Abstract** 7

5. **Introducción** 9

6. Marco teórico 11

6.1. **Antecedentes** 11

6.2. **Objetivos** 14

6.2.1. Objetivo general 14

6.2.2. Objetivo específico 14

6.3. Hipótesis 15

6.3.1. Hipótesis de investigación 15

6.3.2. Hipótesis específica 15

6.4. Bases teóricas 15

6.4.1. Generalidades de las microalgas 15

6.4.1.1. Microalgas oleaginosas 18

6.4.1.2. Factores físico químicos y crecimiento de las microalgas 19

6.4.1.3. Microalgas y su importancia en la producción de biodiesel 20

6.4.2. Microalgas utilizadas en el proyecto 23

6.4.2.1. Chlorella vulgaris 23

6.4.2.2. Nannochloropsis oculata 24

6.4.2.3. Tetraselmis striata 25

6.4.3. Cultivo de microalgas marinas 26

6.4.3.1. Tipos de cultivo 26

6.4.3.2. Factores para el cultivo 27

6.4.3.3. Medio de cultivo 29

6.4.3.4. Fertilizante Bayfolan 30

6.4.4. Obtención de biomasa húmeda 32
6.4.4.1. Biomasa húmeda 32
6.4.4.2. Tipos de procesos para obtener biomasa húmeda 32
6.4.4.2.1. Centrifugación 32
6.4.4.2.2. Filtración 33
6.4.4.2.3. Flotación 34
6.4.4.2.4. Sedimentación por gravedad 35
6.4.4.2.5. Floculación 35
6.4.4.2.6. Electroforesis 36
6.4.4.2.7. Secado o deshidratación 36
7. Material y Métodos 37
7.1. Población y muestra 37
7.2. Variables 38
7.2.1. Variables independientes 38
7.2.2. Variable dependiente 38
7.3. Cultivo de microalgas 38
7.3.1. Equipos y materiales 38
7.3.2. Metodología 40
7.3.3. Preparación del medio de cultivo Guillard 44
7.3.4. Conteo e identificación de microalgas 45
7.4. Centrifugado 49
7.4.1. *Tetraselmis striata* 50
7.4.2. *Chlorella vulgaris* 51
7.4.3. *Nannochloropsis oculata* 51
7.5. Biomasa húmeda 51
7.6. Liofilizado 52
7.6.1. Congelación de la muestra 53
7.6.2. Secado (liofilizado) del producto congelado 53
7.6.3. Almacenamiento del producto 55
7.7. Extracción de lípidos 55
7.8. Caracterización de ácidos grasos 57
7.9. Rendimiento 57
7.10. Obtención del biodiesel 58

7.10.1. Determinación de los gramos de catalizador 58
7.10.2. Preparación de métoxido de sodio 58
7.10.3. **Transesterificación** 59
10.1.1. Caracterización del biodiesel 63
10.1.1.1. Determinación de la densidad por el método del picnómetro. 63
10.1.1.2. Determinación del índice de refracción 644
11. Análisis Estadístico 655
12. Resultados y Discusión 666
13. Conclusiones 744
14. Recomendaciones 755
15. Referencias Bibliográficas 766
ANEXOS 866

INDICE DE TABLAS **PAG.**

Tabla N° 01 : Análisis Garantizado en peso/volumen Bayfolan 31

Tabla N° 02 : Cultivo de *Tetraselmis striata* 43

Tabla N° 03 : Cultivo de *Chlorella vulgaris* 43

Tabla N° 04 : Cultivo de *Nannochloropsis oculata* 44

Tabla N° 05 : Nutrientes para medio F/2 Guillard Modificado 45

Tabla N° 06 : Porcentajes de lípidos en muestras de algas 66

Tabla N° 07 : Rendimiento de biomasa seca 67

Tabla N° 08 : Porcentajes de Humedad, lípidos y cenizas en muestras 68

Tabla N° 09 : Perfil lipídico de muestras de *Nannochloropsis oculata* 70

Tabla N° 10 : Perfil lipídico de *Tetraselmis striata* 70

Tabla N° 11 : Perfil lipídico de *Chlorella vulgaris* 71

Tabla N° 12 : Porcentaje de rendimiento de aceite de microalgas 72

INDICE DE FIGURAS **PAG**

Figura N° 01 Colocación de muestra en cámara 46

Figura N° 02 Centro de cámara Neubauer 47

Figura N° 03 Conteo en diagonal 47

Figura N° 04 Conteo en diagonal de izquierda a derecha 47

Figura N° 05 Diagrama del proceso de lavado de materiales 49

Figura N° 06 Diagrama del Proceso de Liofilizado 52

Figura N° 07 Equipo Soxhl 56

Figura N° 08 Preparación del catalizador (Metoxido) 59

Figura N° 09 Transesterificacion de biodiesel 60

Figura N° 10 Instalación del Sistema de Transesterificación 60

Figura N° 11 Sedimentación de la muestra 61

Figura N° 12 Separación del Biodiesel del agua 61

Figura N° 13 Lavado del Biodiesel 62

Figura N° 14 Viscosímetro Cannon-Fenske 65

Figura N° 15 Comparación de composición humedad, lípidos y ceniza de las muestras de microalgas. 69

INDICE DE ANEXOS **PAG**

Anexo N° 01 Identificación de microalgas 87

Anexo N° 02 Medio CHU 10 (Modificado por Gerloff) 89

Anexo N° 03 Medio Enriquecido 89

Anexo N° 04 Medio END-SCHEREIBER Enriquecido 90

Anexo N° 05 Medio de Yashima (SISFFAA, 1964a) 90

Anexo N° 06 Yanase & Ima (1988) 91

Anexo N° 07 Medio de Cultivo Agua Dulce 91

Anexo N° 08 Medio MET 44 (Schoene & Schoene, 1982) 92

Anexo N° 09 Composición de Medio Guillard, Medio F/2 Modificado 93

Anexo N° 10 Galería de fotos de equipos utilizados en el proyecto 94

Anexo N° 11 Galería de fotos de Metodología del cultivo de microalgas 95

Anexo N° 12 Galería de fotos Metodología de centrifugado 96

Anexo N° 13 Metodología para la obtención de biomasa seca 97

Anexo N° 14 Características del biodisel obtenido 99

3. Resumen

Debido al incremento del precio del petróleo en el mercado mundial, limitados recursos de combustibles fósiles y a las consecuencias ambientales negativas del su uso, se ha producido un renovado enfoque en la producción de biocombustibles. El Perú no es ajeno a esta realidad y mediante la Ley No 28054 para la Promoción del Mercado de Biocombustibles, se estableció la obligatoriedad del uso en mezcla del biodiesel y del bioetanol en el parque automotor, a partir del año 2009.

El biodiesel, potencial combustible alternativo del diésel de petróleo, es renovable y biodegradable, además de emitir menos gases contaminantes a la atmósfera, como dióxido de carbono y sulfuros, siendo así beneficioso para el ambiente y la salud. Pero desafortunadamente, el biodiesel producido a partir de aceite de productos agrícolas (palma aceitera); aceite de cocina usado y grasa animal, ha producido un incremento sustancial en el precio de los alimentos; además de no satisfacer, ni en una pequeña fracción, la demanda existente de combustible; por lo que se buscan nuevas y económicas fuentes de lípidos que puedan ser convertidos en biodiesel.

Como una alternativa viable de esta forma es que surge el interés en las microalgas que poseen la capacidad para mitigar las emisiones de CO_2 y producir lípidos como un recurso potencial para la producción de biodiesel. Esto debido a su mayor eficiencia fotosintética, mayor producción de biomasa y más rápido crecimiento. Por estas razones las microalgas (*Chlorella vulgaris, Nannochloropsis oculata, Tetraselmis striata*) serían capaces de producir más aceite por unidad de área en comparación a los cultivos agrícolas.

Por estas consideraciones la presente investigación pretende, mediante ensayos, contribuir en la implementación de las bases científicas y técnicas para la producción de biodiesel a nivel de laboratorio; para el escalamiento comercial posterior, como una alternativa energética ambientalmente

sostenible y tecnológicamente limpia a partir de la obtención de la biomasa, un adecuado proceso (liofilización, hidratación, centrifugación y esterificación) de las tres especies microalgales, para la obtención de lípidos con una productividad elevada y perfil adecuado para la producción de biodiesel.

PALABRAS CLAVE: **Biodiesel, biodegradable, microalgas, lípidos, liofilización, hidratación, centrifugación, esterificación, transesterificación**.

4. Abstract

Aque to the increase in the price of oil in the world market, limited resources of fossil fuels and the negative environmental consequences of its use, there has been a renewed focus on the production of biofuels. Peru is not oblivious to this reality and through Law No. 28054 for the Promotion of the Biofuels Market, it was established the mandatory use of biodiesel and bioethanol in the automotive fleet, starting in 2009

Biodiesel, the alternative fuel potential of diesel oil, is renewable and biodegradable, as well as emitting less polluting gases into the atmosphere, such as carbon dioxide and sulfides, thus being beneficial for the environment and health. But unfortunately, biodiesel produced from oil from agricultural products (oil palm); used cooking oil and animal fat, has produced a substantial increase in the price of food; besides not satisfying, even in a small fraction, the existing demand for fuel; Therefore, new and economic sources of lipids that can be converted into biodiesel are sought.

As a viable alternative in this way, interest arises in microalgae that have the capacity to mitigate CO2 emissions and produce lipids as a potential resource for the production of biodiesel. This is due to its greater photosynthetic efficiency, higher biomass production and faster growth. For these reasons microalgae (*Chlorella vulgaris, Nannochloropsis oculata, Tetraselmis striata*) would be able to produce more oil per unit area compared to agricultural crops.

For these reasons, the present research intends through trials to contribute to the implementation of the scientific and technical bases for the production of biodiesel at the laboratory level; for the subsequent commercial scaling, as an environmentally sustainable and technologically clean energy alternative from obtaining the biomass, an adequate process (lyophilization, hydration, centrifugation and esterification) of the three microalgal species, to obtain lipids with a high productivity elevated and suitable profile for the production of biodiesel.

KEY WORDS: **Biodiesel, biodegradable, microalgae, lipids, lyophilization, hydration, centrifugation, esterification, transesterification**

5. Introducción

A partir de la revolución industrial (siglo XVIII y XIX) se comenzó a observar la presencia de gases emitidos (el metano, ozono troposférico, clorofluorocarbonatos y principalmente, el dióxido de carbono - CO2), por la quema de los combustibles fósiles durante los procesos productivos, y recién desde el siglo XX, los científicos y los políticos comenzaron a tomar en consideración las alteraciones generadas a los ecosistemas y a la población humana. En los últimos siglos están disminuyendo las reservas petroleras y la consecuencia más grave es el efecto invernadero que está produciendo el calentamiento global (Fernández, 2012).

En la actualidad, con el fin de mitigar estos impactos, las investigaciones están centradas a la reducción del uso de combustibles fósiles, y buscar nuevas fuentes de energía, como la energía solar, la térmica, la hidroeléctrica, la eólica y los biocombustibles, entre otras; las cuales están siendo evaluadas y se encuentran en diferentes fases de estudio y aplicación, cada una con sus propias ventajas y desventajas. El uso de los biocombustibles líquidos, biodiesel y bioetanol, como recurso energético resulta atractivo porque se deriva de una fuente renovable que podría ser suministrada de manera sostenible. Actualmente el bioetanol, se viene obteniendo a partir de caña de azúcar y del maíz y el biodiesel a partir de aceite de soya, canola, girasol, palma de aceite (Quezada y Olguín, 2010). Sin embargo, ante la creciente demanda por biocombustibles, se corre el riesgo del desplazamiento de los cultivos alimenticios por cultivos energéticos (Osorio, 2008).

Esta investigación pretendió proponer como una alternativa el cultivo de microalgas para la obtención de biodiesel mediante técnica de esterificación; la ventaja competitiva de las microalgas es su elevada tasa de reproducción y sus ciclos cortos, generando mayor producción de biomasa, crecimiento y metabolitos secundarios, además como producto del metabolismo fotosintético (conversión de CO_2 en metabolitos), las microalgas pueden producir azucares,

lípidos y proteínas. Mediante el uso de medios de cultivo controlado se puede inducir a la producción de metabolitos específicos, se destaca entre ellos los lípidos de cadena corta, que son usados primordialmente como recurso para la producción de biodiesel.

Por estas razones es que se usó las microalgas nativas (*Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata, Tetraselmis striata)* como potenciales productores de lípidos para luego esterificarlos y obtener biodiésel.

6. Marco teórico

6.1. Antecedentes

Díaz (2014), en un trabajo descriptivo sobre la viabilidad de obtención de biodiesel a partir de microalgas, afirma que, en los años 50 se da los primeros pasos en la producción de biodiesel a partir de microalgas, y es tomada con seriedad hasta los años 70 tras una crisis energética y países como EUA, Japón y Australia van tomando importancia a esta relativa nueva tecnología, y así es como el "Programa de Especies Acuáticas" del Laboratorio Nacional de Energía Renovable, del departamento de Energía de Estados Unidos, dando importantes avances en aislamiento, identificación, fisiología, bioquímica e ingeniería genética de especies microalgales junto a los avances en el análisis económico y escalamiento de cultivos, que han constituido las bases para el actual desarrollo de biocombustibles a partir de microalgas. Además la producción de biocombustibles a partir de microalgas continúa siendo un tópico de grandes posibilidades y de gran controversia. Mientras que por muchos es visto como uno de los biocombustibles sustentables más promisorios, las algas han generado también un gran número de críticas e incredibilidades a medida que se realizan análisis para entender el potencial impacto económico y ambiental. Las señales son confusas; importantes empresas petroleras y biotecnológicas habían entrado en esta línea. Varios proyectos se iniciaron intentando producir combustible a partir de las algas, la mayoría se han enfocado en hacer crecer y cultivar los microorganismos para obtener sus aceites, después refinar ese aceite en biocombustible.

Arias, Martínez y Cañizares (2013), en su trabajo titulado "Producción de biodiesel a partir de microalgas: parámetros del cultivo que afectan la producción de lípidos", afirman que, en ambiente de laboratorio las microalgas han mostrado potencial debido a su alto contenido y productividad de lípidos, por lo que su rendimiento de aceite es mayor comparado con el de las plantas oleaginosas. Sin embargo, a pesar de los resultados prometedores que se han obtenido, para producir comercialmente el biodiesel a partir de microalgas, es necesaria más investigación para la producción masiva de las especies identificadas como potenciales, por su alta productividad de lípidos y su adecuado perfil de ácidos grasos, todo ello debido a la gran variabilidad que presenta cada especie a determinadas condiciones de cultivo, no existe una cepa ideal, sin embargo las más estudiadas y con potencial reconocido pertenecen a los géneros *Chlorella* , por su facilidad para crecer bajo condiciones autotróficas, heterotróficas y mixotróficas, en especial por su capacidad de desarrollarse en oscuridad total consumiendo una fuente orgánica de carbono, alcanzando altas productividades de lípidos; *Nannochloropsis*, por su capacidad de adaptación a altas intensidades de luz y su acumulación de lípidos en periodos breves de tiempo, en condiciones de alta salinidad; *Nannochloris, Dunaliella* y *Tetraselmis* por su alto contenido de lípidos y su tolerancia a altas concentraciones de salinidad. Concluyendo Finalmente que el comportamiento de las microalgas ante condiciones de estrés fisiológico es variable entre especies; la limitación de nutrientes especialmente nitrógeno y fósforo, asociado al crecimiento heterotrófico o a altas intensidades luminosas en fototrofía se consideran como las estrategias más eficientes para incrementar el contenido de lípidos en las microalgas, en particular de triglicéridos constituidos por ácidos grasos saturados y monoinsaturados, ideales para la producción de biodiesel. De igual forma, señala que la presencia de pequeñas cantidades de CO_2

y la cosecha de la biomasa en la fase estacionaria de crecimiento, incrementan el contenido de lípidos.

Garibay et al. (2009), en el Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, en su estudio denominado "Biodiesel a Partir de Microalgas", determinan que, la producción de biodiesel a partir de microalgas es una alternativa ventajosa debido al elevado contenido de lípidos y por lo tanto un perfil idóneo para la obtención del biocombustible que éstas ofrecen, además de tener elevada eficiencia fotosintética, por otro lado indica que la tecnología microalgal presenta limitaciones diversas, siendo las más destacadas la dificultad para mantener monocultivos con altos rendimientos de biomasa, la selección de cepas de microalgas oleaginosas, la escasez de información relativa al escalamiento de sistemas de producción y el consumo elevado de energía por procesos de bombeo, transferencia de gases, mezclado, recolección y deshidratación de la biomasa. Concluye además que, los costos de producción de biodiesel microalgal pueden ser reducidos a través de distintas estrategias, avances en la ingeniería de fotobioreactores, además del desarrollo de procesos económicos para la recolección de biomasa y su posterior transesterificación sin el requerimiento previo de procedimientos de deshidratación, son aspectos trascendentales para la reducción de costos.

Serrano (2012), en un trabajo de investigación denominado "Estudio de cuatro cepas nativas de microalgas para evaluar su potencial uso en la producción de biodiesel" comparo y evaluó la composición y capacidad de acumulación de lípidos en cuatro microalgas nativas de Colombia y un alga de referencia como fuentes potenciales para la producción de biodiesel. Las microalgas *Scenedemus ovalternus* y *Chlorella vulgaris* presentaron las mayores productividades de lípidos con 18,8 y 18,7mg·L -1 ·día-1 , respectivamente, equivalentes a 4,1 veces la productividad de

aceite de la palma africana, actual materia prima empleada en Colombia para la producción industrial de biodiesel.

6.2. Objetivos

6.2.1. Objetivo general

Obtener biodiesel a escala experimental, a partir de microalgas nativas, cuantificando su potencial bioenergético en el litoral de la Provincia de Ilo, durante el año 2014.

6.2.2. Objetivo específico

1. Obtener biomasa seca de tres especies microalgales nativas (*Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata, Tetraselmis striata)* de la provincia de Ilo.

2. Extraer lípidos de la biomasa seca proveniente del cultivo de microalgas.

3. Realizar los procesos de esterificación de los lípidos extraídos de la biomasa.

4. Evaluar las características del biodiesel obtenido a partir de microalgas nativas.

6.3. Hipótesis

6.3.1. Hipótesis de investigación

La obtención de biodiesel a partir de microalgas nativas con potencial bioenergético del litoral de la provincia de Ilo durante el año 2014.

6.3.2. Hipótesis específica

- Se puede obtener biomasa seca de tres especies microalgales nativas (*Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata, Tetraselmis striata)* de la provincia de Ilo.

- La biomasa seca proveniente del cultivo de microalgas si contiene lípidos.

- Si se puede realizar los procesos de esterificación de los lípidos extraídos de la biomasa.

- Las características del biodiesel obtenido a partir de microalgas nativas cumplen con la normativa de biocombustibles.

6.4. Bases teóricas

6.4.1. Generalidades de las microalgas

Existen tres principales clases de microorganismos que utilizan la energía de la luz: a) Las cianobacterias, que presentan fotosíntesis isoxigénica, en la cual se produce O_2 y presentan fotosistemas I y II y fijan el CO_2., b) Eubacterias fotosintéticas,

que realizan fotosíntesis anaerobia, no producen O_2 y solo presentan el fotosistema I. y c) Halobacterias, no presentan clorofila ni transporte fotosintético de electrones. Poseen una bomba de protones dependiente de la luz, la cual produce energía pero no poder reductor. Requiere de una fuente orgánica de carbono (Fernández-Linares, L. C., Montiel-Montoya, J., Millán-Oropeza, A., & Badillo-Corona, J. A., 2012).

Las microalgas son organismos unicelulares microscópicos (2-200 µm), polifiléticos, su metabolismo puede ser autótrofo o heterótrofo y suelen ser eucariontes, aunque las cianobacterias procariontes son frecuentemente incluidas como microalgas (Greenwell et al. 2009)

Las microalgas, algas fitoplanctónicas o "carbón verde", son organismos microscópicos fotosintéticos que viven en suspensión en la zona eutrófica de una columna de agua. Son de rápido crecimiento y forman parte esencial de la cadena trófica de los ambientes acuáticos (Pacheco, 2013). Como cualquier planta, para su supervivencia necesitan de CO_2, luz y agua a partir de los cuales pueden producir biomasa y liberar oxígeno (Hakeem, Jawaid, & Rashid, 2014). Además las microalgas producen una variedad de metabolitos los que aprovechamos en nutrición humana, piensos para animales, control de contaminación, biofertilizantes y tratamiento de efluentes.

Por ser autotróficos, son los principales responsables de la producción primaria de los ambientes acuáticos marinos, dulceacuícolas o salobres (Reynolds, 2006). Además, estas actúan como los principales componentes da base de la cadena alimentaria de los ambientes acuáticos. Comúnmente las algas fitoplanctónicas son bioindicadores de la calidad de las aguas,

debido à la rápida respuesta en las variaciones ambientales (de Assis., 1998) y por tener un ciclo de vida corto.

Las microalgas se encuentran clasificadas en cuatro tipos: diatomeas, algas verdes, cianobacterias y algas doradas que se organizan como fitoplancton y filamentosas. (Brennan y Owende, 2010). Los cultivos de microalgas poseen numerosas ventajas: a gran escala son simples en su implementación y según para qué procesos pueden resultar interesantes desde el punto de vista económico. Muchas microalgas crecen en ambientes salinos e hipersalinos, por lo que no compiten con la agricultura tradicional por los limitados recursos de tierra arable y agua dulce (Catalá, 2013)

Los cultivos de microalgas ha sido una importante herramienta para elucidar diversos aspectos de la biología de las especies, principalmente cuanto à variabilidad morfológica, la plasticidad fenotípica, características bioquímicas, metabolismo vegetativo y reproductivo, ciclo de vida, contribuyendo así mismo para aumentar el conocimiento sobre la ecología y taxonomía de estos organismos (Lourenço, 2006).

Su aumento gradual, es el interés para el cultivo de microalgas, debe no solo por su importancia ambiental y biológica, más bien por su producción de compuestos de relevancia comercial como proteínas, carbohidratos, vitaminas, ácidos grasos poliinsaturados, y pigmentos como carotenóides y clorofila (Derner; Ohse; Villela, 2006). En los últimos años las investigaciones con microalgas con fines comerciales se expandieron, y hubo un aumento en las investigaciones que buscan la producción de biodiesel teniendo como fuente estos microorganismos, una vez identificado su potencial como materia prima (Lourenço, 2006) Al igual que las plantas mayores,

producen y almacenan aceites en forma de triacilgliceroles (TAG) y en comparación con las algas multicelulares y especies vegetales superiores, tienen la capacidad de almacenar mayor proporción de lípidos. De alrededor de 50.000 especies de microalgas que existen en el mundo, cerca de 30.000 han sido utilizadas para distintas investigaciones de biodiesel. (Brennan y Owende, 2010)

La demanda creciente por formas de energía limpia o menos degradable para la sustitución de combustibles fósiles llevó en todo el mundo el lanzamiento de programas para la producción de biocombustibles. Los biocombustibles vienen siendo vistos como una óptima alternativa para sustituir los combustibles fósiles, no sólo por provenir de fuentes renovables y sostenibles, sino también por su composición libre de azufre y compuestos aromáticos (Ferrari; Oliveira; Scabio, 2005).

6.4.1.1. Microalgas oleaginosas

La historia evolutiva de las microalgas se puede categorizar por la pigmentación, ciclo de vida y estructura celular (Brennan y Owende., 2010). Así, las microalgas procariontes se clasifican en dos divisiones: Cyanophyta y Prochlorophyta y las eucariontes en nueve divisiones: Glaucophyta, Rhodophyta, Heterokontophyta, Haptophyta, Cryptophyta, Dinophyta, Euglenophyta, Chlorarachniophyta y Chlorophyta (Mutanda et al., 2010).

Sin embargo, según Khan, S. A., Hussain, M. Z., Prasad, S., & Banerjee, U. C. (2009) la clasificación de microalgas se realiza en cuatro grupos debido a su abundancia: diatomeas, algas verdes, algas verde-azules y algas doradas. Esta diversidad muestra un

gran potencial de explotación de éstos microorganismos para la producción de productos de alto valor agregado y biocombustibles (Chisti, 2007).

6.4.1.2. Factores físico químicos y crecimiento de las microalgas

El cultivo de las microalgas como cualquier cultivo de especies acuícolas, está condicionado por una serie de requerimientos físico-químicos y nutritivos que modulan el crecimiento. Entre los primeros tenemos la luz, el pH, la turbulencia, la salinidad, la temperatura y CO_2, dentro los segundos tenemos los macro nutrientes que son utilizados para sintetizar compuestos orgánicos, y los micronutrientes, usados como catalizadores

El crecimiento microalgal se rige por la ley del mínimo, es decir, el factor limitante del crecimiento es aquel que está presente en cantidades más próximas al mínimo crítico necesario (Aznay, M. G., López, T. R., Valdivia, L. A., & Nodar, R. P., 2009).

La salinidad es un factor abiótico importante, porque afecta el crecimiento y densidad celular de las microalgas en cultivo como en el ambiente marino, en este último, además, determina su distribución e influye en la densidad, temperatura y gases disueltos del agua marina, lo cual ocasiona una respuesta de las microalgas a cambios en la salinidad regulado por cambios rápidos en el volumen celular y ajuste osmótico. La variación en la salinidad provoca que la célula libere iones, sintetice compuestos orgánicos, disminuya la fijación de CO_2 y afecte el metabolismo del nitrógeno (Kirst, 1989).

El fotoperiodo (tiempo de exposición a la luz) es otro factor importante que tiene efecto sobre los ciclos de vida y actividades metabólicas de las microalgas tanto en cultivo como en la naturaleza. En condiciones naturales, la mayoría de las algas se establecen en periodos alternos de luz: oscuridad, sin embargo, en la mayoría de los laboratorios de microalgas se mantiene constante la iluminación en los cultivos al interior, debido a que esta favorece la división celular en ciertas microalgas como las diatomeas; cuando se llegan a utilizar los ciclos luz: oscuridad, es con el fin de simular las condiciones naturales o la de sincronizar los cultivos (Humprey, 1979)

6.4.1.3. Microalgas y su importancia en la producción de biodiesel

Actualmente en el mundo se están invirtiendo muchos recursos para investigación, dirigida a minimizar los costos de la materia prima para la obtención de biodiesel (Li, X., Xu, H., & Wu, Q., 2007). Algunos estudios recientes se han inclinado en el uso de semillas de jatropha y karanja y de microalgas como fuente de lípidos, sin embargo, para que cualquiera de ellas pueda sustituir eventualmente los combustibles fósiles debe tener características como ser competitiva en cuanto a su precio con respecto a los combustibles derivados del petróleo, requerir poca cantidad de suelo y agua, que contribuya a mejorar la calidad del aire (por ejemplo, que en su proceso de producción se utilice CO_2), que exista en cantidad suficiente para que dicha producción tenga un impacto significativo en la demanda y que proporcione una ganancia neta de energía sobre la demandada para producirlo (Demirbas, 2009; Meng, X., Yang, J., Xu, X., Zhang, L., Nie, Q., & Xian, M., 2009).

Un aspecto de vital importancia es que el biocombustible obtenido cumpla con las especificaciones de calidad internacionales (ASTM D6751; EN 14214). El uso de microalgas podría cumplir estas condiciones, y por lo tanto, contribuir de manera significativa a la resolución de la demanda de energía primaria y al mismo tiempo, proporcionar beneficios ambientales a través de la captura de CO_2 (Wang et al., 2008 citado por Arias, M. T., Martínez, A., & Cañizares, R. (2013); Brennan y Owende, 2009). Las ventajas del uso de microalgas para la obtención de biodiesel ya han sido demostradas, sin embargo, aún no se ha definido una cepa ideal, dada la diversidad de factores que influyen en la productividad de los lípidos y por ende en el costo de producción del biodiesel. (Arias, M., Martínez, A., & Cañizares, R., 2013).

El interés en las microalgas para la producción de biodiesel se debe a su alto contenido de lípidos en algunas especies y al hecho de que la síntesis de estos, especialmente de triglicéridos (TG) no polares (que son el mejor sustrato para la producción de biodiesel), puede ser manipulada por cambios de las condiciones de cultivo. (Brennan y Owende, 2010)

Las microalgas poseen algunas ventajas sobre otras materias primas disponibles para producir biodiesel, entre las que se mencionan:

- Mayor eficiencia fotosintética que las plantas superiores (Meng, X., Yang, J., Xu, X., Zhang, L., Nie, Q., & Xian, M., 2009; Posten y Schaub, 2009), logrando convertir entre el 3 y el 8 % de la energía solar en biomasa, mientras que el rendimiento observado en las plantas es de aproximadamente un 0,5 % (Lardon, L., Helias, A., Sialve, B., Steyer, J. P., & Bernard, O., 2009)).

- Tasa de crecimiento elevada, duplicando su biomasa en aproximadamente 24 horas (Meng, X., Yang, J., Xu, X., Zhang, L., Nie, Q., & Xian, M., 2009).
- Periodos de cosecha muy cortos (menores a diez días dependiendo del proceso), lo que permite múltiples o continuas cosechas a diferencia de las plantas que se cosechan una o dos veces por año (Vyas, A. P., Verma, J. L., & Subrahmanyam, N., 2010).
- Cálculos teóricos estiman que las microalgas tienen el potencial para producir mayor cantidad de biomasa y de aceite por hectárea que cualquier planta oleaginosa (Chisti, 2007; Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2010).
- Fácil cultivo, crecen casi en cualquier lugar y solo necesitan luz del sol y algunos nutrientes. Pueden cultivarse en zonas áridas y semi-áridas, donde no pueden desarrollarse cultivos agrícolas, pueden utilizar agua no potable y su cultivo no requiere la adición de herbicidas o pesticidas (Avagyan, 2008).
- Capaces de fijar grandes cantidades de CO_2 (Amin, 2009; Sydney et al., 2010), su demanda estequiométrica de CO_2 es de aproximadamente 1,7 kg de CO_2/kg de biomasa seca (Packer, 2009; Posten y Schaub, 2009; Rodolfi, L., Chini Zittelli, G., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G., & Tredici, M. R. (2009), lo que permitiría acoplar su producción a una corriente de gases de combustión industrial para disminuir el efecto invernadero y contribuir al restablecimiento del equilibrio térmico del planeta (Lim y Teong, 2010).
- Capacidad para utilizar los nutrientes de aguas residuales en su crecimiento (especialmente nitrógeno y fósforo) (Xue, F., Zhang, X., Luo, H., & Tan, T., 2006; Kim, M. K., Park, J.

W., Park, C. S., Kim, S. J., Jeune, K. H., Chang, M. U., & Acreman, J., 2007; Chinnasamy, S., Bhatnagar, A., Hunt, R. W., & Das, K. C., 2010; Xin, L., Hong-ying, H., Ke, G., & Jia, Y., 2010, Xin, L., Hong-Ying, H., & Jia, Y. (2010), podría disminuir el costo del medio de cultivo y evitar la descarga de estos nutrientes a cuerpos de agua.

- La biomasa residual, posterior a la extracción de los lípidos, encuentra aplicación en las industrias alimentaria, farmacéutica, agropecuaria e incluso en la producción de alcoholes combustibles y en la generación de energía (Wang et al., 2008; Zamalloa, C., Boon, N., & Verstraete, W., 2012).

6.4.2. Microalgas utilizadas en el proyecto

6.4.2.1. Chlorella vulgaris

Imperio: *Eukaryota*
Reino*: Plantae*
Sub reino: *Viridiplantae*
Infrareino: *Chlorophyta*
Phylum*: Chlorophyta*
Sub phylum: Chlorophytina
Clase*: Trebouxiophyceae*
Orden*: Chlorellales*
Familia*: Chlorellaceae*
Género*: Chlorella*
Especie*: Chlorella vulgaris (Beijerinck, 1890)*
(Guiry, M &Guiry, G 2019)

Presenta forma de vida unicelular o colonial, y puede acumular pigmentos como clorofila a y b, -caroteno y xantinas. La principal sustancia de reserva es el almidón, pero bajo ciertas condiciones pueden almacenar aceite. La reproducción puede ser por división binaria, esporas asexuales y reproducción sexual (*Hoek, C., Mann, D., & Jahns, H. M. 1995*).

Actualmente, representa un sistema biológico ideal para experimentación, gracias a su alta eficiencia y su fácil adaptación en condiciones de laboratorio (Huss, V. A., Frank, C., Hartmann, E. C., Hirmer, M., Kloboucek, A., Seidel, B. M. & Kessler, E., 1999; Morris, H., Quintana, M., Almares, A., & Hernández, L., 1999)

6.4.2.2. Nannochloropsis oculata

La clasificación científica de esta especie es:

Imperio: Eukaryota

Reino: Chromista

Phylum: Ochrophyta

Clase: Eustigmatophyceae

Orden: Eustimagmatales

Familia: Monodopsidaceae

Género: Nannochloropsis

Especie: Nannochloropsis oculata (Droop) D.J. Hibberd 1981

(Guiry, M &Guiry, G , 2019)

Son inmóviles, desprovistas de flagelos y poseen un cromatóforo sencillo parietal de color verde pálido que ocupa gran parte de la célula. El citoplasma posee una gran acumulación de lípidos. Además, se observa frecuentemente la presencia de un globo

extraplastidial, de color rojo, sobre todo en cultivos envejecidos. La pared celular es lisa. No tiene zoosporas ni forma s de resistencias y la reproducción se realiza exclusivamente mediante fisión binaria de las células (Lubian, 1982). Esta microalga es menos sensible a la contaminación (Ushilo, M. J., Hino, A., & Maeda, M., 1999) por eso es óptima para los cultivos en el exterior (Catala, 2013)

Es una microalga muy importante en acuicultura debido a su valor nutricional. Esta microalga pertenece a la clase Eustigmatophyceae, que agrupa a las especies que contienen la mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), especialmente ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido araquidónico (ARA), docosahexaenoico (DHA) de gran importancia en la nutrición de animales marinos, especialmente en el crecimiento y desarrollo de larvas de peces, moluscos y crustáceos (Otero, A., García, D., & Fábregas, J., 1997; Brown, M. R., Mular, M., Miller, I., Farmer, C., & Trenerry, C., 1999).

La microalga N. oculata ha sido sugerida como un alimento preferible para el rotífero Brachionus plicatilis Mueller, el cual transfiere eficientemente los ácidos grasos poliinsaturados algales a las larvas de peces marinos (Sukenik, A., Zmora, O., & Carmeli, Y. 1993; Hoshida, H., Ohira, T., Minematsu, A., Akada, R., & Nishizawa, Y., 2005)

6.4.2.3. Tetraselmis striata

La clasificación científica de esta especie es:

Imperio: Eukaryota

Reino: Plantae

Sub reino: Viridiplantae

Infrareino: Chlorophyta

Phylum: Chlorophyta

Sub phylum: Chlorophytina

Clase: Chlorodendrophyceae

Orden: Chlorodendrales

Familia: Chlorodendraceae

Género: Tetraselmis

Especie: Tetraselmis striata (Butcher, 1959)

(Guiry, M &Guiry, G, 2019)

Las microalgas pertenecientes al género *Tetraselmis*, presentan el color verde, debido a la presencia de clorofila a y b. Su reproducción celular se realiza por división celular binaria, momento en el cual las células pierden el estado móvil y las dos células hijas ya están completamente flageladas antes de la liberación de la teca (Butcher, 1959 citado por Lisa C. 2015)

Tetraselmis striata es una microalga unicelular de color verde que forma pequeñas colonias, cada una cuenta con su propia envoltura y mucílago transparente, agrupándose en 2 células de forma sub esféricas, y su tamaño celular es de alrededor de 10 µm. de diámetro (Liza C. 2015). Presenta alta productividad, rápido crecimiento y altísimo interés económico (Ohse et al., 2008).

6.4.3. Cultivo de microalgas marinas

6.4.3.1. Tipos de cultivo

Atendiendo a la fuente de energía y de carbono las microalgas se pueden cultivar en distintos modos (Makareviciene, V., Skorupskaite, V., & Andruleviciute, V. 2013):

- Autotrófico: Utiliza luz, natural o artificial, como fuente de energía y CO_2 como fuente de carbono.

- Heterotrófico: La energía y el carbono se obtienen de la oxidación de sustratos orgánicos. No todas las especies de microalgas pueden crecer en heterotrofía. Los costes de operación y riesgos de contaminación son elevados pero el control del proceso es máximo rindiendo elevadas productividades (Doucha y Lívanský, 2011; Perez-Garcia et al., 2011)

- Mixotrófico: Las microalgas realizan la fotosíntesis, pero en presencia de una fuente de carbono orgánico (Abreu et al., 2012; Mitra et al., 2012). Dependiendo del régimen de operación, los cultivos de microalgas pueden clasificarse en estancos, semicontinuos, continuos e inmovilizados (Yuan-Kun y Hui, 2004).

6.4.3.2. Factores para el cultivo

- Agua. Para que los cultivos mencionados existan, es necesario contar con grandes volúmenes de agua, para el crecimiento y producción de aceite. Las fuentes de agua pueden ser: aguas salinas provenientes del mar, aguas dulces (ríos, lagos u otros) o aguas residuales provenientes del sector agropecuario. En caso de aguas residuales, las cuales poseen nitrógeno y fosforo el aporte de nutrientes es menor (Knauer, J., & Southgate, P. C. 1996).

- Nutrientes. Para la producción de biomasa de microalgas es necesario tener en cuenta el tipo de alga utilizado debido a que tienen diferente comportamiento acorde a los tipos de nutrientes. Cuando se utiliza el método de cultivo de micro algas por medio de la masificación, se prepara un medio donde las microalgas puedan alcanzar su máximo rendimiento productivo. Uno de los medios de cultivo universalmente más utilizados es el F/2 de GUILLARD que ha demostrado ser eficiente para el crecimiento de un gran número de micro algas, pero que demanda la utilización de una gran cantidad de nutrientes (Knauer, J., & Southgate, P. C. 1996).

- Dióxido de carbono. Los cultivos de microalgas tienen la capacidad para utilizar altos volúmenes de CO_2 provenientes de procesos industriales y de generación de energía eléctrica. Los estanques para el cultivo de estas algas pueden ser altamente eficientes en la utilización de este gas, hasta 90% o más del CO_2 inyectado en los estanques es utilizado de manera eficaz por los microorganismos (Rawat, I., Kumar, R. R., Mutanda, T., & Bux, F. 2011)

- Luz. Para un crecimiento adecuado de la biomasa microalgal autotróficamente, se hace necesario una fuente de luz que garantice una adecuada función metabólica de los microorganismos. Dicha fuente de luz puede ser de la luz solar en un día común o de una fuente externa (lámparas, Led's entre otros) cuidando que la iluminación no sature la microalga y se produzca

daño fotoquímico (Molina, E., Acien, F., Garcia F., & Yusuf C. 1999).

6.4.3.3. Medio de cultivo

A lo largo de los años se han desarrollado diferentes medios para el cultivo de microalgas que van desde las fórmulas para enriquecer el agua de mar natural, hasta las que agregando este medio artificial al agua de mar natural permite que el agua sea constante en cuanto a propiedades que entre otros factores depende del lugar donde se colecta ésta, y el tiempo de almacenamiento de la misma.

Los medios artificiales se usan principalmente para fines experimentales, ya que como se ha mencionado, brinda resultados constantes, aunque existen algunas especies que no crecen en medios artificiales por factores desconocidos que afectan su crecimiento, las principales fórmulas utilizadas van desde el agua de Miguel, que data de 1910, desarrollada por Allen-Nelson; el medio de End-Schereiber de 1934, hasta fórmulas específicas para familias como la fórmula del Laboratorio Haskins de Nueva York para diatomeas, Provasoli et al., 1975; Matthiesen & Thorner, 1966; Mclachlan, 1973; Guillard F., 1973; Droop, 1975, 1979; Schoene, 1982, etc. Las principales formulaciones de los medios de cultivo, tanto de mantenimiento de cepas como de producción masiva (minerales, enriquecidos y orgánicos) (FAO, 2017) que son descritas en: Anexo N° 02 Medio CHU 10 (Modificado por Gerloff), Anexo N° 03 Medio Enriquecido, Anexo N° 04 Medio END- SCHEREIBER Enriquecido, Anexo N° 05 Medio de Yashima (SISFFAA, 1964a), Anexo N° 06 Yanasi & Ima (1978), Anexo N° 07 Medio de cultivo

(Agua dulce) (Guillard In, Stein 1979), Anexo N° 08 Medio MET 44 (Shoene & Sheone, 1982), Anexo N° 09 Tabla de Composición de Medio Guillard, Medio F/2 Modificado (Guillard 1975) y Anexo N° 10 Técnicas de Asepsia y Esterilización del Material.

El fitoplancton se desarrolla y multiplica en relación de las condiciones fisicoquímicas del medio. En términos generales son los macronutrientes o factores limitantes del crecimiento el carbono, Nitrógeno, Fósforo, Silicio, Magnesio, Potasio y Calcio, que se requieren en cantidades relativamente grandes, mientras que los llamados micronutrientes (Fierro, Manganeso, Cobre, Zinc, Sodio, Molibdeno, Cloro y Cobalto) se necesitan en menores cantidades (FAO, 2017).

Existen otros medios que incluyen en su composición sustancias orgánicas (vitaminas, aminoácidos) necesarios para aquellas especies de microalgas Auxótrofas, es decir que no sintetizan por medio de la fotosíntesis este tipo de compuestos y resultan factores que pueden limitar su crecimiento; tal es el caso de Platimonas, Chrysophytas y algunas Bacillariophyceas. (FAO, 2017)

6.4.3.4. Fertilizante Bayfolan

Según EA (2007) citado por Corrales (2013), BAYFOLAN® FORTE es una fórmula especial concentrada de nutrimentos que contiene vitaminas y fitohormonas, actúa estimulando los procesos metabólicos de las plantas, vigorizándolas al proporcionarles los nutrientes indispensables para su buen desarrollo, la planta los aprovecha íntegramente y su efecto se manifiesta en cultivos vigorosos y cosechas más abundantes y

de calidad. BAYFOLAN® FORTE Tabla N° 01 ayuda a resolver deficiencias de micro elementos, frecuentes en zonas con aguas duras. Para optimizar los resultados del producto, aplíquelo cuando los cultivos estén en etapa de desarrollo vegetativo o en producción intensiva

TABLA N° 01

Contenido del fertilizante Bayfolan en porcentaje en peso/volumen.

Nitrógeno total (N)	11.470%
Fósforo (P_2O_5)	8.000%
Potasio (K_2O)	6.000%
Boro (B)	0.036%
Cobre (Cu)	0.040%
Fierro (Fe)	0.050%
Molibdeno (Mo)	0.005%
Zinc (Zn)	0.080%
Clorhidrato de tiamina	0.004%
Azufre (S)	0.230%
Calcio (CaO)	0.025%
Cobalto (Co)	0.002%
Manganeso (Mn)	0.036%
Magnesio (MgO)	0.025%
Ácido indolacético	0.003%

Fuente: Corrales A. (2009)

6.4.4. Obtención de biomasa húmeda

6.4.4.1. Biomasa húmeda

Se denomina biomasa húmeda al conjunto de microalgas que son cosechadas después de cumplirse el ciclo de cultivo, que se inicia con la siembra del inoculo en un tubo de ensayo y culmina con la cosecha de las microalgas de los tanques. Esta biomasa es obtenida a través de diversos métodos, para luego ser sometida a un proceso de preparación para las etapas siguientes, hasta la obtención del biodiesel.

6.4.4.2. Tipos de procesos para obtener biomasa húmeda

6.4.4.2.1. **Centrifugación**

Es un proceso mecánico que se emplea para la separación de solidos de un medio acuoso, mediante el uso de la fuerza centrífuga, que permite la recuperación de los sólidos en el tambor de la centrifuga y en los extremos de los platos, una vez concluida la cosecha, se procede a recolectar la biomasa del tambor y de los platos con el empleo de una espátula de plástico, esta biomasa se va colocando en recipientes adecuados para facilitar las siguientes etapas de producción de biodiesel.

El líquido (parte acuosa) del cultivo, por el proceso de centrifugación se va concentrando en la parte central del tambor y es descargando hacia el exterior por una tubería de acero inoxidable de ½", por el momento este líquido se está descartando, pero a futuro se

debe aprovechar para ser utilizado nuevamente en el siguiente ciclo de cultivo, es agua con algo de fertilizante y posiblemente algunas microalgas que pueden haber pasado la centrifugación.

6.4.4.2.2. **Filtración**

Los filtros-prensa operan bajo presión o al vacío y pueden ser usados para recobrar una gran cantidad de biomasa, pero para algunas aplicaciones el filtrado puede ser relativamente lento lo cual es insatisfactorio. El filtrado puede ser adecuado para grandes microalgas tales como *Coelastrum proboscideum* y *S. platensis* pero no para recobrar organismos con dimensiones más pequeñas tales como *Scenedesmus, Dunaliella*, o *Chlorella* (Lee, J. Y., Yoo, C., Jun, S. Y., Ahn, C. Y., & Oh, H. M. 2010). Alternativamente membranas de micro filtración y ultra-filtración son ahora una posible alternativa a la filtración convencional para recobrar algas, las cuales son más adecuadas para células frágiles y pequeños procesos de producción. Sin embargo, estos procesos de filtración son más costosos especialmente porque se necesita membranas y sustituir el bombeo (Naghavi, B., & Malone, R. F. 1986). Una concentración alta de microalgas puede resultar en el bloqueo de la pantalla de selección, mientras que la concentración de microalgas baja puede resultar en la captura de ineficiente (Brennan, L., & Owende, P., 2010)

6.4.4.2.3. **Flotación**

Es un proceso de separación por gravedad en el cual se agrega burbujas de aire y gas a las partículas sólidas las cuales son llevadas a la superficie del líquido. La flotación es más beneficiosa y efectiva que la sedimentación con respecto a la remoción de 24 microalgas. La flotación puede capturar partículas con un diámetro menor a 500 micras por la colisión entre la partícula y la burbuja y en consecuencia la adhesión de la burbuja a la partícula. Basado en el tamaño de la burbuja utilizada en el proceso de flotación, el proceso se puede dividir en flotación por aire disuelto, flotación por dispersión y flotación electrolítica (Shirai, F., Kunii, K., Sato, C., Teramoto, Y., Mizuki, E., Murao, S., & Nakayama, S., 1998).

- Flotación por aire disuelto (DAF): Supone la reducción de la presión de una corriente de agua que es presurizada con aire a alta presión para producir burbujas de 10-100. Factores que determinan la cosecha DAF de microalgas incluyen la presión del tanque, la tasa de reciclaje, tiempo de retención hidráulica y flotación de partículas. La floculación química ha sido usada con DAF para separar microalgas (Vismara, R., Vestri, S., Barsanti, L., & Gualtieri, P., 2003; Shirai et al, 1998)
- Floculación de aire dispersado: implica burbujas de 700-1500 micras, formadas por un agitador de alta velocidad mecánica con un sistema de inyección de aire [131]. (Shirai et al, 1998)

6.4.4.2.4. Sedimentación por gravedad

Es comúnmente aplicada para separar microalgas en agua y tratar deshechos en agua. La densidad y radio de las algas induce a la sedimentación influenciada por el asentamiento característico de los sólidos suspendidos. Una mejora para la recolección de microalgas por sedimentación puede realizarse a través de laminillas separadoras y tanques de sedimentación. La floculación es frecuentemente usada para aumentar la eficiencia de la sedimentación por gravedad. El éxito de remover sólidos por sedimentación por gravedad depende de la alta densidad de las partículas de las microalgas (Tang, Y., Ma, X., & Lai, Z., 2011).

6.4.4.2.5. **Floculación**

La floculación es un proceso químico que facilita la decantación de solidos suspendidos en un medio acuoso, mediante la adición al medio de un catalizador (agente precipitador) que permite aglomeración de los sólidos suspendidos en masas más grandes llamadas floculas, y por tener mayor peso van decantando hacia el fondo del medio (tanques o recipientes), y son retirados utilizando la succión por sifoneo o mediante la apertura de válvulas que sacan los flóculos del medio. La floculación de solidos suspendidos, partículas coloidales y sustancias disueltas, permite reducir el tiempo de residencia hidráulica en un

proceso de decantación y agilizar el tratamiento o recuperación de sólidos.

6.4.4.2.6. **Electroforesis**

El método electrolítico es otro método para separar las algas sin necesidad de agregar componentes químicos. En este método un campo cargado eléctricamente conduce el alga a hace la superficie de la solución. La hidrólisis del agua genera hidrógeno el cual se adhiere a los flóculos de las microalgas y les lleva a la superficie. Hay varias ventajas al usar métodos electroquímicos, incluida la compatibilidad ambiental, versatilidad, eficiencia energética, la seguridad, la selectividad, y la rentabilidad (De Morais, M. G., & Costa, J. A. V. 2007).

6.4.4.2.7. Secado o deshidratación

La biomasa cosechada es un producto perecedero y debe tratarse con rapidez después de la cosecha, la deshidratación o secado se suele utilizar para ampliar la viabilidad en función del producto final requerido. Los métodos que han sido utilizados son el secado al sol Merin, D. D., Prakash, S., & Bhimba, B. V., 010), el secado por aspersión (Desmorieux, H., Madiouli, J., Herraud, C., & Mouaziz, H., 2010), tambor de secado, en lecho fluido de secado (Dissa, A. O., Desmorieux, H., Savadogo, P. W., Segda, B. G., & Koulidiati, J. 2010)., liofilización (Desmorieux, H., & Decaen, N. (2006). El secado al sol es el método más barato, pero las

principales desventajas son los largos tiempos de secado, necesidad de grandes superficies, y el riesgo de pérdida de material

7. Material y Métodos

7.1. Población y muestra

Por antecedentes de investigaciones realizadas de las especies de microalgas nativas, identificadas como potenciales productores de lípidos esterificables, se ha determinado que hay gran variabilidad a determinadas condiciones de cultivo, no existe una cepa ideal específica para el mar del Perú, sin embargo las más estudiadas por su potencial pertenecen a los géneros *Chlorella*, por ser una especie recia, desarrollándose en situaciones de cultivo que otras especies no sobrevivirían, así se ha cultivado en autotrofía, heterotrofía y mixotrofía axénica y no axénica, se ha logrado cultivos en oscuridad total y altas productividades de lípidos; otra especie propuesta para la investigación en biodiesel es *Nannochloropsis*, por su veloz capacidad de producción de lípidos y adaptación a zonas hipersalinas e hiperlumínicas; y finalmente *Tetraselmis* que soporta medios hipertónicos y producción de lípidos de cadena corta.

De estos géneros el Instituto del Mar del Perú (IMARPE) cedió 3 cepas experimentales conocidas como *Chlorella vulgaris, Nannochloropsis oculata y Tetraselmis striata.*

El proyecto de investigación utilizó un inóculo de 1 ml obtenido de la cepa donada, el cual se inoculó en 10 ml del medio de cultivo Guillard y a partir de ello se trabajó todo el volumen obtenido y biomasa obtenida, por lo que no hay toma de muestra pues el inoculo se convierte en la semilla de la siguiente generación, duplicando su volumen de cultivo hasta obtener el volumen final.

Del total del cultivo obtenido de cada cepa, se extrae por única vez toda la biomasa, la cual es centrifugada totalmente, por lo que se obtiene una biomasa de cada cepa por tanque de cultivo

7.2. Variables

7.2.1. Variables independientes

- Biomasa seca de *Chlorella vulgaris*
- Biomasa seca de *Nannochloropsis oculata*
- Biomasa seca de *Tetraselmis striata*

7.2.2. Variable dependiente

- Producción de Biodiesel

7.3. Cultivo de microalgas

7.3.1. Equipos y materiales

7.3.1.1. Materiales

- Tubo de ensayo de 10 ml marca Pirex
- Matraz de 250 ml marca Pirex
- Matraz de 500 ml marca Pirex
- Matraz de 1 L marca Pirex
- Matraz de 5 L marca Pirex
- Placas Petri marca Normax
- Pipetas de 10 ml marca Boeo
- Pipetas de 2 ml marca Kintel
- Pipetas Pasteur marca Normax
- Botella de 7 L marca Boeco

- Botella de 2 L marca Kintel
- Matraz Erlenmeyer de 250 mL
- Micropipetas marca Boeco
- Balón aforado de 1L marca Pirex
- Manga plástica
- Estructura metálica de fotobiorreactor
- Deposito plástico de 40 L
- Tanques plásticos de 1000 l marca Rotoplast
- Válvulas de pase rápido
- Aireadores
- Mangueras para aireación ¼"
- Mangueras plásticas de ½"
- Gradilla para tubos de ensayo
- Perilla de succión para pipetas
- Manguera plástica 12m x 16 mm.
- Andamios de Metal
- Llaves y tubos para acuarios
- Papel aluminio
- Bandas elásticas (ligas)
- Llaves y destornilladores
- Cinta adhesiva
- Selladora térmica marca Safari Import
- Bandeja Plástica
- Espátula de plástico
- Bolsas ziploc

7.3.1.2. *Equipos*

- Bombas para recepción de agua de mar marca Aquamax
- Liofilizador marca LabConco
- Centrifuga marca GEA

- Blower marca ACC-003
- Ultra congelador marca LabConco
- Refrigerador marca Bosh
- Balanza analítica marca A & D Company Limited
- Microscopio marca Asturia
- Cámara de Newbauer marca Kintel
- Autoclave marca Boeco
- Vórtex marca Labconco
- Luxómetro marca Control Company
- Multiparámetro marca WTW

7.3.1.3. **Reactivos**

- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Medio Guillard F/2
- Fertilizante Bayfolan
- Cloroformo
- nhexano
- Isopropanol
- Acetonitrilo
- Lugol
- Alcohol Metílico
- Glicerina
- Agua Destilada
- Jabón neutro

*7.3.2. **Metodología***

El cultivo de las microalgas que se seleccionaron para el proyecto, se realizó por separado, es decir cada especie de

microalgas en un envase, desde la siembra del inoculo, hasta la etapa de cosecha al final del ciclo.

En el laboratorio, de microalgas, un ambiente físico de 24 m^2, con paredes de drywall, estructura metálica y techo de cielo raso, existe una estructura metálica donde se colocan los envases para el escalamiento, con la iluminación respectiva, y las correspondientes instalaciones para los aireadores (Ver Fotos del 1 al 6, en Anexo N° 11); el inicio del cultivo para las cepas de las tres microalgas marinas seleccionadas, en tubos de ensayo de 10 ml, los matraces de 250 ml para la primera siembra, y después se escala a un matraz de 500 ml, luego a un envase de 5 l, después a una botella de 7 l, seguidamente a una botella de 20 l, el siguiente escalamiento es a las mangas en los fotobioreactores.

El espacio físico donde se desarrolló el cultivo es un invernadero con un área afectiva de 72 m^2, más un área adicional de 12 m2, para dos tanques plásticos con capacidad de 1000 litros; elevados sobre una estructura de metal y otros. La estructura del galpón es de tubos de metal, con techo a dos aguas. Paredes y techo de lámina plástica transparente, piso de cemento, con una canaleta central con su respectiva rejilla, en la zona se distribuyen seis estructuras metálicas que componen los fotobioreactores (Ver Foto N° 07, de Anexo N° 11), en los que se colocan cuatro mangas plásticas dobles (para ocho bolsas), de estas mangas el cultivo se escala hacia los tanques plásticos con capacidad de 1000 l para cumplir su última etapa del ciclo.

El cultivo se realizó con cepas procedentes del Instituto del Mar del Perú (IMARPE-Ilo) se inicia el cultivo, sembrando las cepas en un tubo de ensayo de 10 ml, de los tubos se hizo el

escalamiento a un matraz de 250 ml., para luego al cabo de 07 días se escaló a un matraz de 500 ml, para el cultivo intermedio se escaló el cultivo a un bidón plástico de 7 L y luego se realizó la transferencia del cultivo a un envase plástico de 20 L, para posteriormente ser escalado el cultivo a un fotobiorreactor (modulo con 8 bolsas plásticas) de 20 L cada una que previamente son selladas, ya en su etapa estacionaria se escaló en tanque plástico de 1000 L. En la **Tabla N° 02**, **Tabla N° 03**y **Tabla N° 04**, se presentan los detalles de la cantidad de inoculo por etapa de cultivo, y para cada especie cultivada

En las etapas inicial e intermedia el recipiente (tubo y matraz) de cultivo es tapado con papel aluminio y pegando con cinta adhesiva, alrededor de la manguera de aireación para evitar contaminación del medio exterior, asegurándolo en el cuello con una banda elástica.

En el caso de las mangas plásticas el orificio para llenado de agua y manguera de aireación, es sellado con cinta adhesiva para evitar su contaminación, se repite la operación después de cada recarga.

Durante todo el periodo del aumento de la concentración de microalgas, se le agrega Medio F/2 de cultivo Guillard, debido a que este enriquecedor de microalgas contiene los nutrientes que estas necesitan para proliferar.

Para el caso del bayfolan se agrega solo cuando las microalgas están en su fase masiva intermedia (mangas plásticas) y estacionaria (tanques de cultivo).

Tabla N°02: Cultivo de *Tetraselmis striata*

Cultivo	Envase	Capacidad de envase (L)	Inoculo (L)	Agua de mar (L)	Aditivo (ml)		Fecha del cultivo	
					½ Guillar	Bayfolan	Inicio	termino
Inicial	Matraz	0.250	0.005	0.150	0.02			
		0.500	0.150	0.300	0.03			
		1	0.400	0.550	0.05			
Intermedio	Bidón	5	0.830	3.200	1			
		20	4.100	11	3			
	Mangas plásticas	120	16	96	10	15		
Final	Tanque	1000	150	350	-	350	15-08-2017	04-10-2017

Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 03: Cultivo de *Chlorella vulgaris*

Cultivo	Envase	Capacidad de envase (L)	Inoculo (L)	Agua de mar (L)	Aditivo (ml)		Fecha del cultivo	
					½ Guillar	Bayfolan	Inicio	termino
Inicial	Matraz	0.250	0.005	0.150	0.02		20-06-2017	29-06-2017
		0.500	0.130	0.210	0.03		29-06-2017	05-07-2017
Intermedio	Bidón	3	0.320	2.180	0.05		05-07-2017	13-07-2017
		7	1.150	5.200	1		13-07-2017	24-07-2017
		20	3.000	14.500	3		24-07-2017	04-08-2017
	Mangas plásticas	120	17	103	10	10	04-08-2017	20-08-2017
Final	Tanque	1000	120	280	-	280	20-08-2017	30-10-2017

Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 04: Cultivo de *Nannochloropsis oculata*

Cultivo	Envase	Capacidad de envase (L)	Inoculo (L)	Agua de mar (L)	Aditivo (ml)		Fecha del cultivo	
					½ Guillard	Bayfolan	Inicio	termino
Inicial	Matraz	0.250	0.005	0.150	0.02			
		0.500	0.120	0.240	0.03			
Intermedio	Bidón	3	0.330	2.270	0.05			
		7	1.800	4.200	1			21-06-17
		20	3.000	16.500	3		04-06-17	20-06-17
	Mangas plásticas	120	15	110	10		20-06-17	04-07-17
Final	Tanque	1000	120	280	-	280	04-07-17	08-08-17

Fuente: Elaboración propia

7.3.3. Preparación del medio de cultivo Guillard

Para la obtención del medio F/2 modificado (Guillard 1975) para microalgas marinas se debe pesar y mezclar los diferentes reactivos mencionados en la Tabla N° 05

Tabla N°05: Cantidades para preparación del medio F/2 modificado (Guillard 1975) para microalgas marinas

Macronutrientes	g/L
KNO_3	75.00
$NaH_2PO_4 . 2 H_2O$	5.65
Micronutrientes	**g/L**
EDTA Na_2	4.360
$FeCl_3 . 6 H_2O$	3.150
$CuSO_4 . 5 H_2O$	0.010
$ZnSO_4 . 7 H_2O$	0.022
$CoCl_2 . 6 H_2O$	0.010
$MnCl_2 . 4 H_2O$	0.180
$Na_2MoO_4 . 2 H_2O$	0.006
Vitaminas	**g/L**
Cyanocobalamina	0.002
Tamina HCl	0.100
Biotina	0.001

Fuente: Zevallos, S., IMARPE (2010)

7.3.4. Conteo e identificación de microalgas

7.3.4.1. Seguimiento del cultivo

Desde el inicio del ciclo de cultivo, en la fase de cepas, se realiza un seguimiento del progreso del cultivo mediante un análisis de la población de microalgas de las tres cepas seleccionadas (*Chlorella vulgaris, Nannochloropsis oculata, Tetraselmiss striata),* mediante la observación de las muestras en el microscopio, para determinar su progreso y respuesta al manejo en el medio.

7.3.4.2. Conteo de microalgas

El objetivo de contar microalgas es establecer la población (densidad) de células por mililitro que hay en un biorreactor.

Para el recuento de microalgas se debe utilizar una cámara de Neubauer.

7.3.4.2.1. Proceso de conteo de microalgas

- Homogenizar el cultivo para permitir que las células se dispersen en toda la columna de agua.
- Tomar una muestra representativa (1 ml) y colocarla en un tubo de ensayo.
- Agregar una gota de lugol para fijar las células.
- Usando una pipeta Pasteur, depositar una gota en cada campo de la cámara de conteo (Neubauer).
- Colocar el cubreobjetos limpio sobre los campos de la cámara cuidando de no se mezclen las gotas.

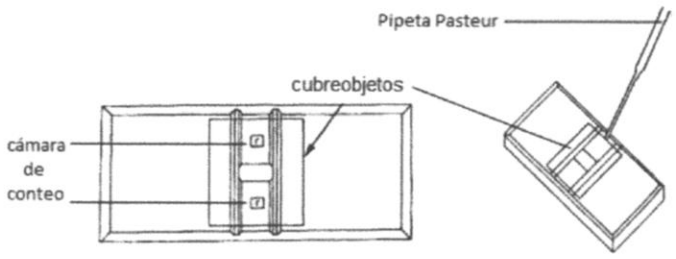


FIGURA N° 01: COLOCACION DE MUESTRA EN CAMARA NEUBAUER

- Es conveniente esperar por tres minutos antes de proceder al contaje en el microscopio, para dejar que las unidades algales se asienten debidamente.
- Enfocar con objetivo de 4x y luego de 10x según permitan visualizar las microalgas.
- Realizar el conteo en el cuadrante central y en diagonal.

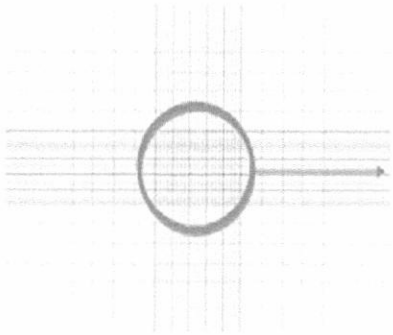


FIGURA Nº02 Centro de cámara Neubauer

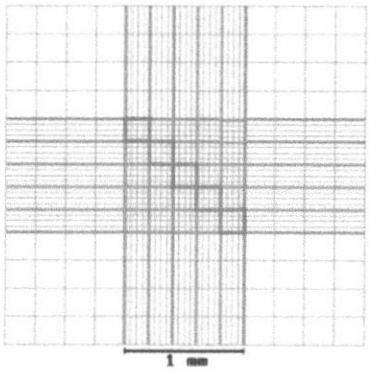


FIGURA Nº03 Conteo en diagonal

- Mantener un orden en la secuencia del contaje para evitar errores de suma. No considere las células que estén asentadas justo en medio de cualquier línea de los cuadros seleccionados.

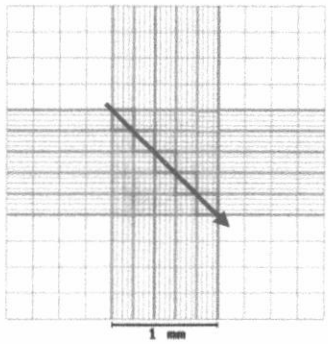


FIGURA Nº04: Conteo en diagonal de izquierda a derecha

- Realizar 6 repeticiones y promediar el conteo de las mismas.
- Utilizar la siguiente fórmula para determinar densidad celular:

Densidad celular (cel/mL) = (Promedio del conteo * 5 * 10 000)

7.3.4.3. Identificación de microalgas

Después de cumplido el protocolo respectivo para identificación de microalgas, se procede a la observación de cada una de las tres especies objeto del estudio. En Anexo N° 01, se presentan las observaciones al microscopio, de las tres especies de microalgas, con las que se desarrolló la presente investigación; distinguiéndose cada una de ellas.

7.3.4.4. Técnicas de asepsia y esterilización del material

7.3.4.4.1. Lavado del material

- Enjuagar el material de vidrio con abundante agua potable
- Depositar en un recipiente con jabón neutro y agua potable (1mL/1L) (1dia).
- Remover y retirar los residuos para su posterior enjuague con abundante agua potable.
- Realizar un último enjuague con agua destilada.
- Secar en la estufa por 30 minutos a 150 °C.

- Almacenar material en gavetas limpias para su posterior uso.

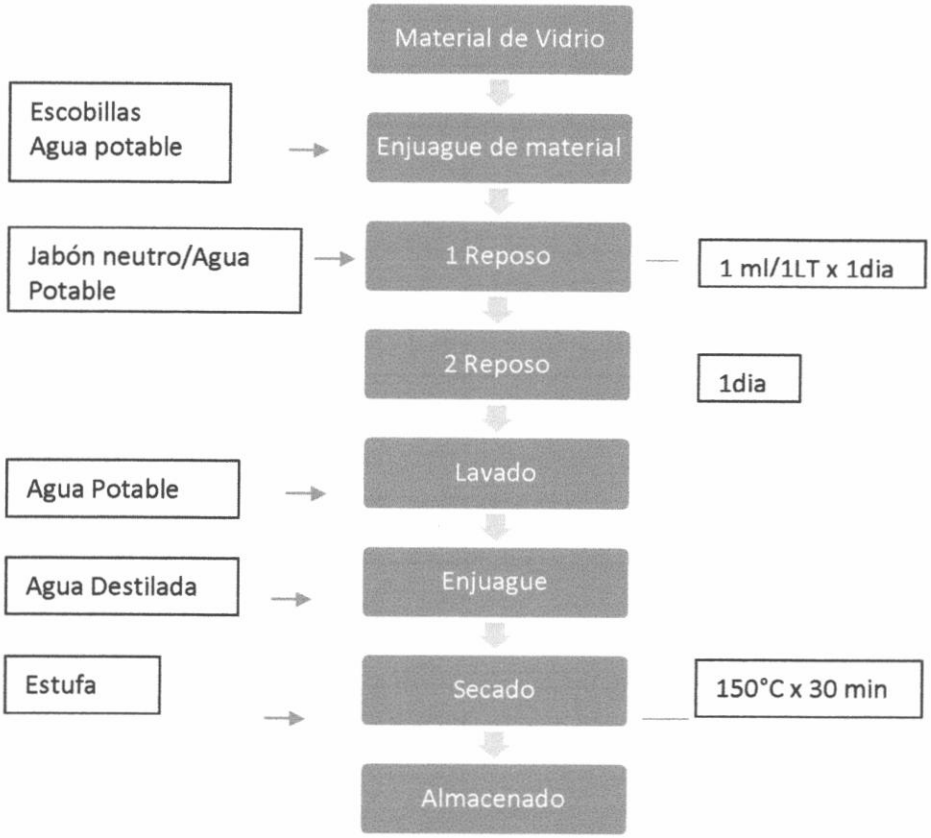


FIGURA Nº 05: Diagrama del proceso del lavado de material
Fuente: Elaboración propia

7.4. Centrifugado

- Para el centrifugado del cultivo de cada una de las microalgas se utilizó una centrifuga Westfalia Separator Mineral Oil Systems GmbH modelo OTC 3- 02- 137, cuya velocidad nominal máxima es de 1000 rpm, el espacio para lodo del cuenco de la centrifuga es de 0.75 L, cuenta con un motor de 1.1 kW, (Ver Galería Fotográfica en Anexo 05, Foto N° 02).
- Para el inicio del proceso, se procede a ensamblar la centrifuga, colocando el tambor y los platos de acuerdo al instructivo, todos

los platos tienen una posición de caída, se colocan los demás accesorios, después se procede al ajuste de tornillos de la centrifuga.

- Posteriormente se coloca el extremo suelto de la manguera de la bomba centrifuga (con válvula) en un envase con agua dulce procedente del servicio público. Se enciende la bomba centrifuga, progresivamente se incrementa la velocidad de succión de la bomba realizando así un cebado de la bomba centrífuga, seguidamente se pone en marcha la centrifuga esperando un tiempo prudencial hasta máxima velocidad; se introduce el extremo de la manguera dentro del tanque de cultivo para proceder a la cosecha del lote de cada especie de microalga por separado, y así obtener biomasa húmeda en el interior del tambor de la centrífuga y en los extremos de los platos.
- Al finalizar el proceso de centrifugado se reduce la intensidad de succión de la bomba y se procede a apagar la bomba. Así mismo se presiona el botón de "PARAR" de la centrifuga para que este deje de funcionar, se procede al desajuste de los tornillos, quitar el tambor de la centrifuga para proceder a la extracción de las microalgas (biomasa húmeda).
- Luego de extraer la biomasa húmeda, se realiza el lavado del tambor y cada pieza de la centrifuga y otros componentes, con agua dulce de la red pública. Después de esta acción la centrifuga queda en condiciones de iniciar otra cosecha, previo ensamble de los componentes respectivos.

7.4.1. *Tetraselmis striata*

El cultivo de *Tetraselmis striata* se desarrolló durante los meses de septiembre y octubre, dando inicio un 08 de septiembre del 2017 y culminado el 04 de octubre del 2017.

El centrifugado de la *Tetraselmis striata* se desarrolló durante las 12:15 h y 15:45 h, haciendo un tiempo de 03:30 horas.

7.4.2. *Chlorella vulgaris*

El cultivo de *Chlorella vulgaris* se desarrolló durante el mes de octubre, dando inicio un 03 de octubre del 2017 y culminado el 12 de octubre del 2017.

El centrifugado de la *Chlorella vulgaris* se desarrolló durante las 08:35 h. y 12:13 h., haciendo un tiempo de 03:38 horas.

7.4.3. *Nannochloropsis oculata*

El cultivo de *Nannochloropsis oculata* se desarrolló durante el mes de octubre, dando inicio un 04 de octubre del 2017 y culminado el 12 de octubre del 2017.

El centrifugado de la *Nannochloropsis oculata* se desarrolló durante las 18:34 h. y 22:23 h., haciendo un tiempo de 03:49 horas.

7.5. Biomasa húmeda

Dentro del tambor de la centrifuga, por acción de la fuerza centrífuga, la biomasa húmeda (microalgas) se adhiere a las paredes de dicho tambor y en el extremo de los platos (Ver Foto N° 04, de Anexo N° 12).

Con el empleo de espátulas de plástico se procede al acopio y recolección de las microalgas, colocándolas en papel aluminio previamente pesado y tarado en una balanza analítica (Ver Foto N° 03, de Anexo N° 10).

Se obtuvieron los siguientes pesos de biomasa:

- *Nannochloropsis oculata= 181,43 g.*
- *Chlorella vulgaris= 198,00 g.*
- *Tetraselmis striata= 207,05 g.*

Las muestras que se enviaron para liofilización y determinación de perfil lipídico en el laboratorio del Instituto del Mar del Perú (IMARPE-CALLAO). Las muestras de biomasa húmeda se conservaron en congelación, hasta su envío al laboratorio

7.6. Liofilizado

El liofilizado se realizó en una liofilizadora de 2.5 L de capacidad, modelo Freezone, marca LABCONCO; en frascos especiales para liofilizar que soportan las bajas temperaturas del ultra congelador.

El proceso de liofilizado de la muestra se realizó según el siguiente diagrama Figura N° 06.

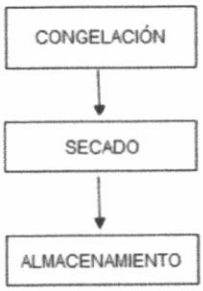


Figura N°06: Diagrama del proceso de liofilizado

7.6.1. Congelación de la muestra

Se colocó la biomasa húmeda en placas Petri, esparciéndola de manera homogénea, formando una capa delgada no mayor a 1 cm de espesor, se cubrieron las placas Petri con bolsas plásticas herméticas, etiquetadas y codificadas.

Para un adecuado proceso, la biomasa húmeda se debe colocar en envases (placas, laminas delgadas, etc.) tratando de obtener una mayor área de exposición de la muestra al momento de la congelación y el proceso sea más efectivo; si se colocan las muestras para congelar en los envases (frascos de liofilizado) estos se deben colocar inclinados (Ver Foto N° 03, de Anexo N° 13) y después de un tiempo prudencial, se procede a invertir los frascos de manera que la parte que aun este liquida caiga por gravedad y se congela en la parte opuesta del frasco, obteniéndose una mayor superficie de contacto. Las muestras se introducen en los frascos de liofilizado, que se colocan en el interior de la ultra congeladora a una temperatura de - 80 °C, después de 30 min. las muestras congeladas están en condiciones de ingresar al siguiente proceso.

7.6.2. Secado (liofilizado) del producto congelado

Transcurrido el tiempo de congelación, se procede a secar las muestras en un liofilizador, por un periodo de 24 h. a una presión de 0.04 mbar.

La muestra congelada en el ultra congelador (-80 °C), se coloca en la tapa del frasco un filtro, luego se conecta un tubo de acero inoxidable de ½", ¾" con una ligera curvatura, se procede a insertar cada frasco en los puestos (puertos) del equipo

respectivo (Ver Fotos N°06, de Anexo N° 13). Una vez colocadas las muestras, se procede a la verificación de las válvulas respectivas; se abren las que contengan muestras, realizando un giro de la perilla en sentido de las agujas del reloj, hasta el tope respectivo; se verifica que las demás válvulas se encuentren cerradas. La temperatura de operación del equipo es de -50 °C, con un margen de tolerancia ± 15 °C. Una vez en ´posición se enciende el equipo (liofilizador), a medida que avanza el proceso entra en funcionamiento la bomba de vacío que está conectada al liofilizador y operan en simultaneo hasta que concluye el proceso (Ver Foto N°06, de Anexo N° 10). Los frascos con muestras se colocan uno por uno con un tiempo mínimo entre frasco y frasco de dos minutos para que el equipo se estabilice adecuadamente.

Durante el proceso de liofilización, en el interior del liofilizador se va a generar un condensado que es eliminado por una válvula ubicada en la parte inferior del mismo, a la que se le conecta una manguera de plástico de ½", en la bomba de vacío también se genera una purga de aire y un condensado que se elimina periódicamente por una válvula, por seguridad se debe colocar una manguera plástica de ½". En un envase de vidrio de la bomba de vacío se recolectan algunas impurezas que se deben eliminar después de concluido el proceso, es recomendable cambiar el filtro en forma periódica; igualmente se debe cambiar el aceite de la bomba cuando su color se torna amarillento; es recomendable que el equipo funcione un tiempo prudencial para inmediatamente realizar el cambio, así se logra el escurrimiento de la mayor cantidad de aceite.

Culminada la liofilización, se retira la biomasa seca de las placas con la ayuda de espátulas y se procedió a triturar en morteros de porcelana para su posterior homogenización

Se homogeniza el producto de manera mecánica, pesando y almacenando en bolsas herméticas, correctamente etiquetadas y codificadas (Ver Foto N° 08, de Anexo N° 13).

7.6.3. Almacenamiento del producto

Los productos liofilizados y adecuadamente cerrados se pueden guardar por largos períodos de tiempo con la retención de las propiedades físicas, químicas, biológicas y organolépticas de sus estados originales.

El almacenamiento de los productos liofilizados en lugares con temperaturas bajas evita la desnaturalización de proteínas. Se recomienda almacenar en un desecador la muestra embolsada, protegida de la humedad y la luz, para su posterior análisis. La calidad de la biomasa seca se comprueba, realizando la prueba de humedad, mediante el método de estufa de aire a 50 °C por 5 h hasta que el peso sea constante. El rango de humedad aceptable está entre 5 a 7%.

7.7. Extracción de lípidos

Los lípidos fueron obtenidos mediante un proceso de esterificación que se detalla en la Figura N° 07. Este proceso se desarrolló en el laboratorio de química orgánica de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, entregando 03 repeticiones por cada tratamiento (cada microalga) con pesos de entre 50 a 60 g. cada uno.

Se arma el dispositivo Soxhlet y se prepara un cartucho de papel filtro con aprox. 5 g de biomasa seca, el cartucho se tapa bien para evitar fugas de biomasa y prevenir la contaminación de la muestra, el

cartucho de papel filtro se coloca dentro del tubo de extracción, se vierten 250 ml de hexano al matraz de fondo redondo y se arma completamente el dispositivo de extracción Soxhlet.

Se calienta el solvente (hexano) a baño maría a una temperatura interna de 67°C a 68 °C, el solvente se evapora circulando por el brazo del dispositivo condensando sobre el cartucho, llenando por completo el deposito captando las moléculas de aceite y de esta manera se recuperen los ácidos grasos junto con el Hexano, el proceso de recirculación se lleva a cabo por aprox. 2 horas para garantizar la mayor extracción de lípidos.

Una vez obtenida la mezcla hexano/ácido graso se realiza una destilación de la mezcla, tomando el punto de ebullición del hexano como límite de temperatura para evitar la quema y degradación de los ácidos grasos, se colecta en un matraz Erlenmeyer el Hexano resultante y la fracción de ácidos grasos se queda contenida en el matraz de fondo redondo.



Figura N°07: Foto del equipo Sohlet utilizado para el proceso de extracción de lípidos

Fuente: Elaboración propia

7.8. Caracterización de ácidos grasos

- Se desarrolló el método de Ichibahara y Fukubuyashi (2010) que se aplica a partir de ésteres de esteroles, triglicéridos y fosfolípidos para gas-líquido cromatografía. El método desarrollado se recomienda en análisis de ácidos grasos de varias muestras de lípidos, incluidos aceites de pescado, aceites vegetales y lípidos en sangre.
- Se preparó una solución de HCl al 8% (p / v) en metanol / agua (85:15, v / v) diluyendo 9,7 ml de HCl concentrado con 41,5 ml de metanol, Tolueno (0.2 ml), metanol (1.5 ml) y la solución de HCl como catalizador ácido para la preparación de ésteres metílicos de ácidos grasos
- Se le agrega a 1 mg de los lípidos extraídos previamente
- Se incuba la mezcla a 45º C para la derivatización durante una noche o se calentó a 100 ° C durante 1 a 1.5 h.
- Se extrajeron con hexano los metilesteres producidos para ser analizados por cromatografía gaseosa en el equipo Varian CP-3800.

7.9. Rendimiento

- Pesar el cartucho de papel filtro vacío y tomar nota de la masa leída. (M1)
- Colocar dentro del cartucho de papel filtro una cantidad de masa de la microalga.
- Cerrar el cartucho con cuidado y pesar. (M2)
- La masa real de biomasa (polvo de microalgas) se obtiene: M2 - M1
- Realizar la extracción del aceite empleando el método descrito anteriormente (metodología Soxhlet)

- Retirar el cartucho (después de 2 horas) y colocarlo en una estufa secadora para que seque y luego pesarlo cuando enfríe. (M3)

$$\%\ Rendimiento = \frac{M_3 - M_1}{M_2 - M_1}\ x\ 100$$

7.10. Obtención del biodiesel

7.10.1. Determinación de los gramos de catalizador

- Para saber cuánta sosa cáustica o NaOH es necesaria, hay que medir la **acidez del aceite** con el método de **valoración**. La **valoración** debe ser lo más exacta posible usando como indicador fenolftaleína y como titulante el NaOH a 0,01 N; esto en caso de ser un aceite ya usado.

7.10.2. Preparación de métoxido de sodio

- Generalmente la cantidad de metanol necesario es del 20% en masa de la cantidad de aceite. Cuando se mezcla el metanol con el hidróxido de sodio (NaOH) se produce una reacción exotérmica cuyo resultado es el metóxido de sodio (CH_3ONa).
- Para producir esta reacción se agregó un volumen específico de metanol en un beaker, y a éste se le adicionó una cantidad previamente pesada de NaOH Q.P., el cual se disolvió completamente en 30 min con la ayuda de un agitador de paleta a 347 rpm.
- Ésta solución debe ser preparada en el momento que se usará para impedir que reaccione con el dióxido de carbono y la humedad el medio.

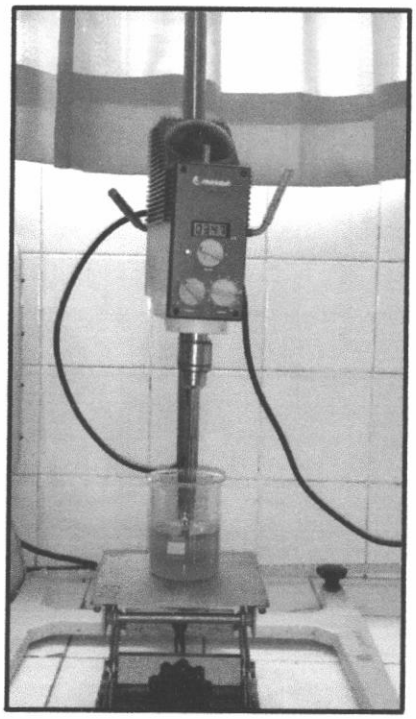


Figura 08: Preparación del catalizador (Metóxido de sodio)

7.10.3. **Transesterificación**

- Es el proceso que convierte los aceites y grasas en biodiesel.

- Para que la reacción química se produzca sin problemas, de calentó el aceite de la microalga *Chlorella vulgaris* hasta aproximadamente los 50 °C.
- Luego en un beaker se procedió a mezclar el aceite con el metóxido de sodio recién preparado.
- Para una mezcla homogénea se usó un agitador de paleta por 45 min evitando las salpicaduras y burbujas que **perjudican al resultado final**.
- La reacción de transesterificación se muestra en la figura a continuación.

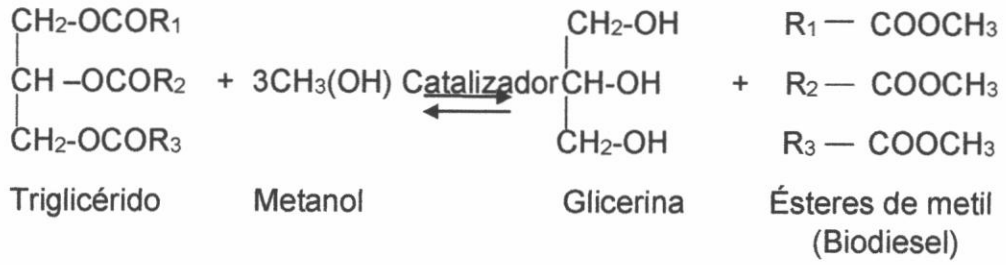


Figura 09. Transesterificación del aceite a Biodiesel. R_{1-3} son grupos hidrocarbonados

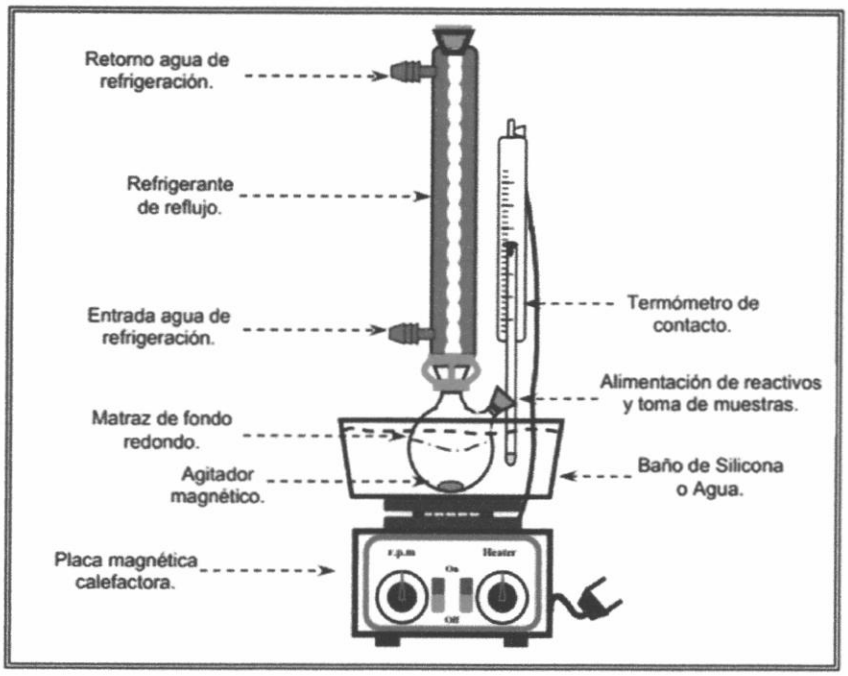


Figura N° 10 Instalación del sistema de transesterificación

7.10.4. Sedimentación

Se deja que la mezcla, aceite de microalga con el metóxido de sodio, repose y se enfríe por lo menos durante ocho horas, preferiblemente más tiempo. La glicerina forma una masa gelatinosa en el fondo y los metil ésteres (biodiésel) flotan encima.

La Fig. 5 muestra esta operación

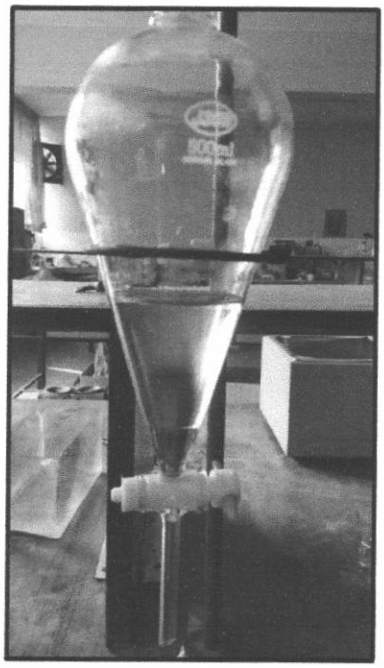


Figura 11: Sedimentación de la mezcla aceite de *Chlorella vulgaris* con el metóxido de sodio

7.10.5. Separación

La glicerina semilíquida es de color marrón oscuro; el biodiésel es del color claro. Se separaron sacándolos por el tubo transparente de la pera de decantación.

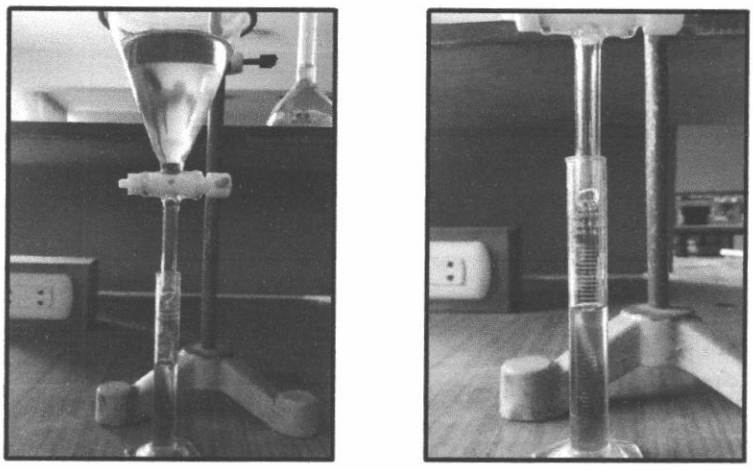


Figura 12: Separación del biodiesel del agua

7.10.6. Lavado

En el biodiésel también hay jabón. Cuando el metanol se une a los ácidos grasos se forma agua. El jabón se forma porque el ion Na^+ del hidróxido de sodio (NaOH) reacciona con los ácidos grasos en presencia de agua.

Para limpiar el biodiesel es necesario lavarlo con agua caliente (aprox. 80°C), esto consistió entonces, en mezclar el agua caliente con el biodiesel obtenido dentro de la pera de decantación. Se agito profusamente hasta homogenizar la mezcla y se dejó en reposo 10 horas, después se observó las 2 fases una con agua jabonosa y otra el biodiesel. Se repitió el mismo procedimiento hasta obtener agua clara, resultando un volumen final de Biodiesel de 25 ml.

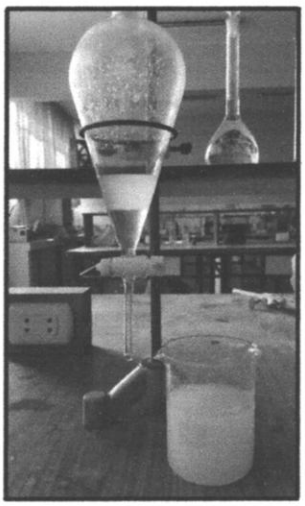


Figura 13: Lavado del biodiesel con agua

En cuanto al rendimiento obtenido de biodiesel a partir del aceite fresco (aceite sin lavar) de microalgas, en este caso de

la *Chlorella vulgaris,* luego del lavado se obtuvo un rendimiento 83,33%.

7.11. Caracterización del biodiesel

Las muestras de biodiesel obtenidas de las diferentes especies microalgales se someterán a las siguientes pruebas para su caracterización fisicoquímica.

7.11.1. Determinación de la acidez del biodiesel

A partir de una muestra del biodiesel obtenido se la colocará en un tubo de ensayo para poder medir el pH utilizando cinta pH universal, remojando la tira por espacio de 10 segundos en todos los espacios de indicador, se saca del tubo y se retira el sobre nadante. La tira no debe quedar saturada ni debe gotear el biodiesel.

Se espera 30 segundos para que asiente el color en la cinta pHmetro alojada en la tira respectiva. Según las especificaciones del fabricante.

Se coloca la tira sobre la escala de color ubicada en el mismo envase de las tiras de pH universal, moviendo hacia la derecha e izquierda hasta que coincida el color en los 4 recuadros correspondientes.

7.11.2. Determinación de la densidad por el método del picnómetro.

Se registrará el peso del picnómetro completamente seco y se transfiere un poco de muestra al picnómetro hasta su línea de

aforo procurando no agitar la muestra ya que se debe evitar la formación de burbujas de aire, y si hay presencia de estas, entonces deben ser removidas.

Se sitúa el picnómetro sobre una balanza analítica, en un lugar sin corrientes de aire, donde la temperatura no varié más de 2ºC durante el ensayo, se registra el peso del picnómetro con la muestra y se repite las mediciones más de 2 veces.

7.11.3. Determinación del índice de refracción

Se define como el cociente entre el seno del ángulo de incidencia y el seno del ángulo de refracción de la luz monocromática al pasar del aire a un medio ópticamente más denso y se denota n^t D.

El índice de refracción depende de la composición de la muestra, la temperatura y la longitud de onda de la radiación utilizada. Generalmente se mide a 20, 25 o 40 grados Celsius, tomando como referencia la línea D del sodio (589 nm), y se realizan como mínimo dos mediciones de donde se toma la media en un Refractómetro de Abbe. Su utilidad radica en casos como la identificación y caracterización de líquidos puros, grasas y aceites, entre otras.

Se calibró según la visión del operario la línea media del refractómetro y se purgará una pipeta con una pequeña cantidad de muestra, se dejará caer algunas gotas en el lente del refractómetro, teniendo cuidado que la pipeta no toque el lente para evitar el desgaste del mismo, se acerca a la luz del aparato al lente y se procede a leer el valor del índice de refracción.

7.11.4. Viscosidad

Consiste en una prueba de laboratorio de comparación entre el biodiesel obtenido a partir de la microalga Clhorella vulgaris y el agua destilada. Se utiliza agua destilada, debido a que es un fluido con viscosidad conocida. Se miden los tiempos que tardan los fluidos en descender por el viscosímetro capilar. Se utiliza un viscosímetro de tipo Cannon-Fenske en donde la fuerza impulsora es la gravedad.

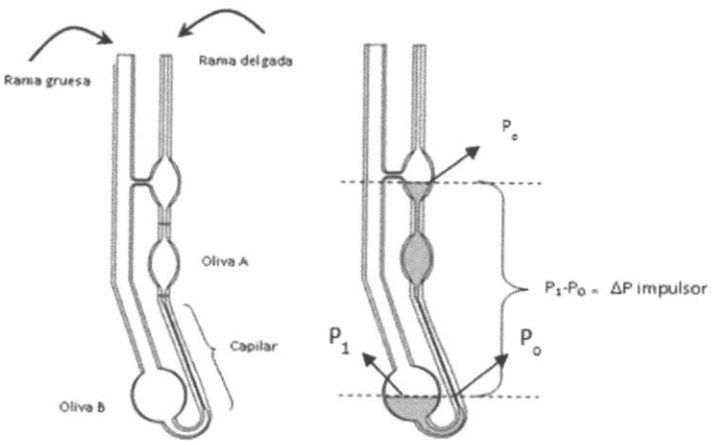


Figura 14: Viscosímetro Cannon-Fenske
Fuente: Sears & Zemansky, Fisica Universitaria. 13ª Edición

8. Análisis Estadístico

El análisis estadístico de los resultados de porcentaje de lípidos; obtenidos de las tres muestras de biomasa húmeda de microalgas marinas *Nannochloropsis oculata, Chlorella vulgaris y Tetraselmis striata,* se realizó utilizando el método ANOVA un solo factor, con seis repeticiones por muestra, con las hipótesis:

Ho: donde Hn = Ht = Hc y

H_1: donde Hn ≠ Ht ≠ Hc

Considerando un factor α= 0,01.

Introduciendo los datos relacionados en la **Tabla N°06** y aplicando el programa estadístico Mega Stat, se obtuvo un resultado de análisis de varianza p= 0,0051, que es menor al factor α= 0,01, por lo tanto, la hipótesis Ho se descarta y es válida la hipótesis H_1. Donde se asume que las muestras de las tres especies de microalgas marinas analizadas son diferentes.

TABLA N° 06

Porcentajes de lípidos en las muestras de Nannochloropsis, Chlorella y Tetraselmis analizadas

MUESTRAS (N°)	*Nannochloropsis* % lípidos	*Chlorella* % lípidos	*Tetraselmis* % lípidos
1	6,38	3,42	4,76
2	6,15	3,39	5,77
3	5,37	4,02	4,50
4	6,00	3,77	4,66
5	12,93	3,79	5,41
6	12,99	3,48	5,18

Fuente: Elaboración propia

9. Resultados y Discusión

Después del proceso de liofilizado de la biomasa húmeda, se obtuvieron los datos mencionados en la TABLA N° 07, teniendo así un rendimiento de entre 31 % y 47 % de todas las muestras de microalgas. En promedio se obtuvo un rendimiento de 37.8 % de todas las microalgas.

Realizando una comparación de cada una de las microalgas utilizadas se estima que la *Tetraselmis striata* es la que contiene menos humedad al mostrar un rendimiento promedio de 43.03 %, en comparación con la *Nannochloropsis oculata* que posee un rendimiento promedio de 36.92 % y a su vez es superior a *Chlorella vulgaris* que tiene un rendimiento promedio de 34.75 %.

Tabla N° 07

Rendimiento de Biomasa de Microalgas

MICROALGA	MUESTRAS	BIOMASA		RENDIMIENTO (%)
		HUMEDA	SECA	
Chlorella vulgaris	C0	48.5202	15.2667	31.46
	C1	41.7824	14.8998	35.66
	C2	41.5574	14.5387	34.98
	C3	38.8142	14.3247	36.91
	C4	40.8965	11.4710	28,05
	C5	44.4285	12.4977	28.13
Tetraselmis striata	T0	50.4223	17.9132	35.53
	T2	43.7534	20.4912	46.83
	T3	43.4661	20.3097	46.73
	T4	41.1777	11.3006	27.44
	T5	29.7083	7.8542	26.44
Nannochloropsis oculata	N0	50.2029	17.0528	33.97
	N1	53.8887	19.078	35.40
	N2	31.1298	12.6771	40.72
	N3	47.8435	17.9824	37.59
	N4	39.0712	10.4420	26.72

Fuente: Elaboración propia

Después de realizados los análisis en laboratorio, de las muestras de tres especies de microalgas marinas, donde se obtienen valores para, humedad, lípidos y cenizas; se observa que los resultados relacionados con los lípidos, tienen una cierta similitud, y los promedios más bajos son del orden del 3,41 % para la *Chlorella* y el promedio más alto es de 12,96 % para la *Nannochloropsis*.

Merece especial atención los resultados de la muestra N° 03 de *Nannochloropsis*, que reporta una porcentaje de 12,33 % y 12,99 %, para las dos repeticiones, pero se observa una relación inversa con la cantidad de cenizas, que reportan 24,69 % y 25,03 %; que en las muestras anteriores está en el orden del 49,85 % y 50,61 %, con porcentajes de lípidos del 6,26 % y 5,69 %, pero cuando los resultados de lípidos suben en promedio al 12,96 %, las cenizas se reportan con valores de 24,86 %.

Teniendo la biomasa seca se realizaron análisis de caracterización físico-química, en la Tabla N° 08 se presentan los resultados de los análisis en porcentajes de humedad, lípidos y cenizas, realizados a las muestras.

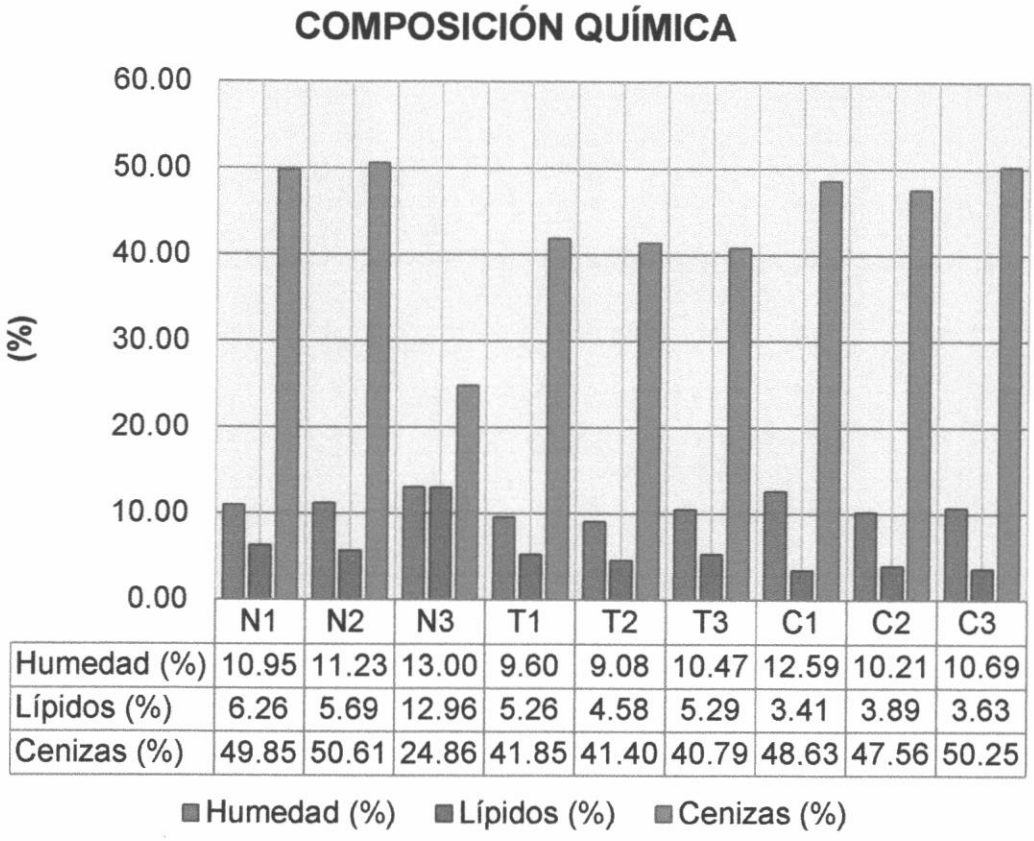
Tabla N° 08 Porcentajes de Humedad, Lípidos y Cenizas en muestras de *Nannocloropsis*, *Chlorella* y *Tetraselmis*.

Código de muestra	Humedad (%)	Lípidos (%)	Cenizas (%)
N1 (Rep1)	11,43	6,38	48,76
N1 (Rep2)	10,47	6,15	50,93
N1 ($\bar{x}$ ± SD)	10,95 ± 0,68	6,26 ± 0,16	49,85 ± 1,53
N2 (Rep1)	11,84	5,37	50,56
N2 (Rep2)	10,63	6,00	50,66
N2 ($\bar{x}$ ± SD)	11,23 ± 0,85	5,69 ± 0,44	50,61 ± 0,07
N3 (Rep1)	12,63	12,93	24,69
N3 (Rep2)	13,37	12,99	25,03
N3 ($\bar{x}$ ± SD)	13,00 ± 0,52	12,96 ± 0,04	24,86 ± 0,24
T1 (Rep1)	9,93	4,76	42,24
T1 (Rep2)	9,26	5,77	41,45
T1 ($\bar{x}$ ± SD)	9,60 ± 0,48	5,26 ± 0,72	41,85 ± 0,56
T2 (Rep1)	8,16	4,50	41,59
T2 (Rep2)	9,99	4,66	41,20
T2 ($\bar{x}$ ± SD)	9,08 ± 1,29	4,58 ± 0,11	41,40 ± 0,28
T3 (Rep1)	10,54	5,41	40,96
T3 (Rep2)	10,40	5,18	40,62
T3 ($\bar{x}$ ± SD)	10,47 ± 0,10	5,29 ± 0,16	40,79 ± 0,24
C1 (Rep1)	12,65	3,42	48,42
C1 (Rep2)	12,54	3,39	48,84
C1 ($\bar{x}$ ± SD)	12,59 ± 0,07	3,41 ± 0,02	48,63 ± 0,30
C2 (Rep1)	10,67	4,02	47,89
C2 (Rep2)	9,75	3,77	47,23
C2 ($\bar{x}$ ± SD)	10,21 ± 0,65	3,89 ± 0,18	47,56 ± 0,46
C3 (Rep1)	10,70	3,79	51,11
C3 (Rep2)	10,68	3,48	49,39
C3 ($\bar{x}$ ± SD)	10,69 ± 0,02	3,63 ± 0,22	50,25 ± 1,22

Fuente: Elaboración propia

Las tres especies de microalgas marinas (*Nannochloropsis, Chlorella y Tetraselmis*) fueron cultivadas utilizando los mismos métodos, las mismas condiciones, los mismos equipos, las mismas cepas, los mismos nutrientes y el mismo personal técnico.

En el figura 15, se presentan los resultados de los análisis en porcentajes de humedad, lípidos y cenizas, realizados a las muestras.



	N1	N2	N3	T1	T2	T3	C1	C2	C3
Humedad (%)	10.95	11.23	13.00	9.60	9.08	10.47	12.59	10.21	10.69
Lípidos (%)	6.26	5.69	12.96	5.26	4.58	5.29	3.41	3.89	3.63
Cenizas (%)	49.85	50.61	24.86	41.85	41.40	40.79	48.63	47.56	50.25

Figura 15: Comparación composición en humedad, lípidos y cenizas de las muestras de microalgas

Fuente: Elaboración propia

A pesar que el contenido de lípidos de *Nannochloropsis* y *Tetraselmis* resultó mayor que la *Chlorella* en la biomasa total, el factor determinante, no es la presencia de cualquier tipo de lípido o ácido graso, resulta crucial una buena selección de microalga, siendo más importante la productividad de

lípidos, pero también el tipo de lípidos y la velocidad de crecimiento (Brenann y Owende, 2010). Por lo que se requiere más pruebas antes de decidir qué especie es la más recomendable. Así se demandó el estudio del perfil lipídico.

Tabla Nº 09: Perfil lipídico de las muestras de *Nannochloropsis oculata*

Ácidos grasos (mg/g)	N1			N2			N3		
	(Rep1)	*(Rep2)*	*($\bar{x}$ ± SD)*	*(Rep1)*	*(Rep2)*	*($\bar{x}$ ± SD)*	*(Rep1)*	*(Rep2)*	*($\bar{x}$ ± SD)*
C 14:0	1,0	0,9	0,94 ± 0,09	0,8	0,9	0,85 ± 0,07	2,3	2,3	2,32 ± 0,04
C 16:0	4,5	4,0	4,23 ± 0,37	3,5	4,0	3,77 ± 0,38	9,8	9,7	9,73 ± 0,04
C 16:1n-9	2,2	2,0	2,07 ± 0,14	1,8	2,1	1,96 ± 0,20	4,3	4,4	4,37 ± 0,08
C 16:1n-7	6,6	5,9	6,24 ± 0,47	5,1	6,1	5,62 ± 0,67	14,9	14,9	14,87 ± 0,03
2*	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 18:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 18:1n-9	1,0	0,9	0,96 ± 0,10	0,8	0,8	0,83 ± 0,03	1,9	2,0	1,94 ± 0,03
C 18:1n-7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 18:2n-6	1,3	1,1	1,22 ± 0,12	0,9	1,0	0,95 ± 0,03	2,6	2,7	2,69 ± 0,06
C 18:3n-3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 18:3n-6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 18:4n-3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 20:4n-3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 20:4n-6	1,8	1,6	1,71 ± 0,09	1,5	1,6	1,54 ± 0,09	4,2	4,4	4,28 ± 0,14
C 20:5n-3 (EPA)	13,2	12,2	12,68 ± 0,66	10,9	11,8	11,38 ± 0,63	28,8	30,0	29,40 ± 0,83
C 22:5n-3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 22:6n-3 (DHA)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Fuente: Elaboración propia

Tabla Nº10: Perfil lipídico de las muestras de *Tetraselmis striata*

Ácidos grasos (mg/g)	T1			T2			T3		
	(Rep1)	*(Rep2)*	*($\bar{x}$ ± SD)*	*(Rep1)*	*(Rep2)*	*($\bar{x}$ ± SD)*	*(Rep1)*	*(Rep2)*	*($\bar{x}$ ± SD)*
C 14:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 16:0	5,2	5,7	5,43 ± 0,40	5,0	4,5	4,75 ± 0,36	5,0	5,6	5,30 ± 0,41
C 16:1n-9	1,7	1,9	1,77 ± 0,14	1,6	1,6	1,59 ± 0,06	1,8	2,0	1,89 ± 0,18
C 16:1n-7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2*	3,8	4,4	4,12 ± 0,40	3,8	3,4	3,63 ± 0,28	4,0	4,4	4,22 ± 0,29
C 18:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 18:1n-9	3,5	4,2	3,90 ± 0,50	3,6	3,3	3,46 ± 0,17	3,7	4,1	3,93 ± 0,30
C 18:1n-7	0,7	0,9	0,81 ± 0,09	0,7	0,7	0,72 ± 0,04	0,8	0,9	0,81 ± 0,06
C 18:2n-6	1,7	2,0	1,81 ± 0,22	1,7	1,5	1,59 ± 0,09	1,7	1,9	1,80 ± 0,14
C 18:3n-3	4,1	5,0	4,56 ± 0,59	4,1	3,8	3,97 ± 0,24	4,4	4,9	4,66 ± 0,33
C 18:3n-6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 18:4n-3	2,1	2,5	2,29 ± 0,25	2,1	1,9	2,03 ± 0,12	2,3	2,5	2,42 ± 0,16
C 20:4n-3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 20:4n-6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 20:5n-3 (EPA)	1,8	1,6	1,71 ± 0,16	1,3	1,2	1,25 ± 0,04	1,4	1,5	1,48 ± 0,09
C 22:5n-3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 22:6n-3 (DHA)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Fuente: Elaboración Propia

Tabla N°11: Perfil lipídico de las muestras de *Chlorella vulgaris*

Ácidos grasos (mg/g)	C1			C2			C3		
	(Rep1)	*(Rep2)*	*($\bar{x}$ ± SD)*	*(Rep1)*	*(Rep2)*	*($\bar{x}$ ± SD)*	*(Rep1)*	*(Rep2)*	*($\bar{x}$ ± SD)*
C 14:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 16:0	4,0	3,8	3,91 ± 0,09	4,5	4,2	4,31 ± 0,20	4,1	4,0	4,05 ± 0,04
C 16:1n-9	1,2	1,1	1,15 ± 0,04	1,5	1,4	1,44 ± 0,06	1,3	1,2	1,23 ± 0,04
C 16:1n-7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2*	1,6	1,6	1,64 ± 0,00	2,0	1,9	1,96 ± 0,09	1,7	1,7	1,70 ± 0,02
C 18:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 18:1n-9	2,5	2,4	2,48 ± 0,09	2,9	2,7	2,77 ± 0,13	2,6	2,5	2,57 ± 0,08
C 18:1n-7	1,0	1,0	0,98 ± 0,01	1,1	1,1	1,12 ± 0,03	1,0	0,9	0,96 ± 0,03
C 18:2n-6	1,0	0,9	0,93 ± 0,03	1,1	1,0	1,08 ± 0,05	1,0	1,0	0,98 ± 0,03
C 18:3n-3	2,2	2,2	2,21 ± 0,05	2,7	2,5	2,63 ± 0,13	2,4	2,3	2,32 ± 0,09
C 18:3n-6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 18:4n-3	0,9	0,9	0,93 ± 0,00	1,2	1,1	1,14 ± 0,06	1,0	0,9	0,97 ± 0,03
C 20:4n-3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 20:4n-6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 20:5n-3 (EPA)	0,6	0,6	0,60 ± 0,00	0,7	0,7	0,72 ± 0,04	0,7	0,6	0,64 ± 0,02
C 22:5n-3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 22:6n-3 (DHA)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Fuente: Elaboración Propia

El biodiesel por ser un combustible análogo del gasóleo, requiere estar comprendido en una solución heterogénea de ésteres alquílicos de ácidos grasos , en el caso de las microalgas estas deberán producir triglicéridos cuyo largo carbonado se encuentre entre C14 - C22 así el biodiesel sería de gran calidad (Demirbas, 2009) como se observa en las tablas 09,10 y 11 los lípidos obtenidos de las 3 microalgas experimentales son de cadena carbonada en estos rangos, pero solo *Chlorella* presenta una cadena por cada largo comprendido entre C16-C20 mientras que *Tetraselmis* y *Nannochloropsis* no tienen todos los ácidos grasos en estos rangos por lo que no justificaba su uso como fuente de ácidos grasos esterificables para producción de biodiesel. Aquí surgiría la necesidad de encontrar otros usos para estas cadenas carbonadas como puede ser un uso como nutracéuticos.

Rendimiento de lípidos

Las muestras de biomasa fueron tratadas por triplicado y cada replica analizada por separado, para luego obtener el valor promedio de rendimiento el cual se muestran en la Tabla 12:

Tabla N° 12: Porcentaje de rendimiento de aceite de microalgas

Tipo de alga	*% Rendimiento (en peso seco)*
Chlorella vulgaris	7,024
Tetraselmis striata	4,808
Nannoclhoropsis oculata	2,500

Fuente: Elaboración propia

Tal como se evidencia en los resultados de la Tabla 12, la biomasa correspondiente a la *Chlorella vulgaris* es la que tiene mayor porcentaje de rendimiento en la extracción de lípidos, nuevamente las recomendaciones de Demirbas (2009) afirman que se requiere un alto contenido de lípidos en la muestra a esterificar para obtener un biodiesel de calidad.

Otros estudios realizados con la especie *Botryococcus braunii* frente a Chlorella, demostraron que la primera puede alcanzar niveles de aceite del 75% (Mata, Martins y Caetano, 2010) que comparados con la *Chlorella* de esta investigación resulta 10 veces mayor, pero la gran desventaja de esta especie es una baja productividad de biomasa por lo que *Chlorella vulgaris* justifica su investigación como productora de metabolitos primarios como son los aceites debido principalmente a su productividad más altas y con poco requerimiento nutricional (Yoo,2010).

Para poder esterificar el aceite de *Chlorella vulgaris*, se requirió el cálculo de los gramos de catalizador, esto es necesario por el tipo tan diverso de aceites en la muestra (Tabla 11); por cada litro de aceite se necesitó 3,5 gr

de NaOH para la reacción, haciéndose un cálculo proporcional al volumen obtenido.

En cuanto al rendimiento obtenido de biodiesel a partir del aceite fresco (aceite sin lavar) de microalgas, en este caso de la *Chlorella vulgaris,* luego del lavado se obtuvo un rendimiento 83,33%.

Índice de refracción

Como el índice de refracción es sensible a los cambios de temperatura y varia con la longitud de onda de la luz, deben especificarse ambas variables al expresar el índice de refracción de una sustancia.

El índice de refracción del biodiesel obtenido a partir de *Clhorella vulgaris* fue de*:* 1,400 a 25 °C

pH

Se alcanzó antes del lavado del biodiesel, un pH de 6,5 y el producto final obtuvo un pH de 5,5.

Densidad

V_{pic} = Volumen del picnómetro = 9,590 ml

M_b = Masa del biodiesel = 8,485 g

T = Temperatura 25 °C

$$\rho = \frac{M_b}{V_{pic}}$$

$$\rho = \frac{8{,}485\ g}{9{,}590\ ml} = 0{,}884\ g/ml$$

Según la norma EN 14214 de la unión europea, los valores de densidad para un combustible tipo biodiesel están comprendidos entre 860-900 Kg/m^3 y el valor obtenido del biodiesel de *Chlorella* fue de*:* **0,884 Kg/m^3 por lo que se puede afirmar que si cumple la norma**, por otro lado el valor obtenido como viscosidad del biodiesel partir del aceite de *Chlorella* fue de*:* **0,36 Cp**, que equivale a 3,6 mm^2/s, que según la misma norma 14214,

exige valores de viscosidad entre 3,5-5 mm^2/s para valores aceptables de biodiesel.

10. Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos de las muestras de microalgas marinas nativas para la obtención de biodiesel, se puede asumir:

- La relación biomasa húmeda biomasa seca para *Chlorella* (C_0) el 31,46 % y para la *Tetraselmis* (T_2) es de 46,83%.
- La *Chlorella* presenta la mayor producción de biomasa húmeda.
- El promedio de lípidos para las muestras de *Nannochloropsis* es de 8,30%, para *Chlorella* es de 3,64 % y para *Tetraselmis* es de 5,04%.
- La extracción de aceite por el método Soxhlet presentó un rendimiento del 7,024% para el caso de la microalga *Chlorella vulgaris*, 4,808% con la *Tetraselmis striata* y 2,500% *Nannochloropsis oculata* en peso seco.
- Con las muestras correspondientes a las microalgas *Tetraselmis striata* y *Nannochloropsis oculata* no se pudo obtener suficiente volumen de aceites para la reacción de transesterificación y obtener el biodiesel. Entonces se trabajó solo con la *Chlorella vulgaris.*
- El rendimiento obtenido de biodiesel a partir del aceite fresco después del lavado fue de 83,33%.
- Se realizó la transesterificación del aceite de C*hlorella vulgaris* y se logró verificar su conversión a biodiesel a través de diversas pruebas que se hizo al mismo siendo estas: el pH del biodiesel proveniente del aceite de *Chlorella vulgaris* fue de 5,5, la densidad resultó 0,884 g/ml, la viscosidad fue de 0,36 Cp (centipoise) y el valor del índice de refracción fue de 1,400; los resultados fueron obtenidos a una temperatura de trabajo de 25°C. Esta caracterización del producto obtenido muestra que el biodiesel de microalgas cumple con los estándares internacionales y que presenta similitud con las propiedades del diesel comercial.

11. **Recomendaciones**

- Orientar esfuerzos en la producción de la microalga *Nannochloropsis*.
- Hacer un seguimiento más estricto del cultivo, para mejorar % de lípidos.
- Provocar la condición de estrés oportunamente a cada ciclo de cultivo.
- Considerar el aspecto de costos para obtención del producto.
- Considerar el proyecto y su incidencia ambiental favorable.
- Ajustar los tiempos de centrifugación y de liofilización en forma progresiva.

12. Referencias Bibliográficas

Aguilar Samanamud, C., Chang, I., Tenorio, L., Ynga Huamán, G., Oscanoa, A., & Flores, L. (2011). Compendio metodológico para la extracción de lípidos totales a partir de Biomasa Microalgal. Proyecto IMARPE – FINCyT Recuperado de: http://biblioimarpe.imarpe.gob.pe:8080/bitstream/handle/123456789/2327/proc_culti_microalgas.pdf?sequence=1

Abreu, A. P., Fernandes, B., Vicente, A. A., Teixeira, J., & Dragone, G. (2012). Mixotrophic cultivation of Chlorella vulgaris using industrial dairy waste as organic carbon source. Bioresource technology, 118, 61-66. Recuperado de: https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/22392/1/Artigo8.12_JAT.pdf

Amin, S. (2009). Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae. *Energy conversion and management*, *50*(7), 1834-1840. Recuperado de: https://es.scribd.com/document/328198600/Review-on-biofuel-oil-and-gas-production-processes-from-microalgae

Andrade, R. D., Torres, R., Montes, E. J., & Fernández, A. C. (2007). Obtención de harina a partir del cultivo de Chlorella vulgaris y su análisis proteico. *Temas agrarios*, *12*(1). Recuperado de: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/46775137/OBTENCIN_DE_HARINA_A_PARTIR_DEL_CULTIVO_20160625-28064-842mbp.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1511800990&Signature=z9UwJMedcOrHDcVX5%2B6sRUeboSc%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DOBTENCION_DE_HARINA_A_PARTIR_DEL_CULTIVO.pdf

Arias, M., Martínez, A., & Cañizares, R. (2013). Producción de biodiesel a partir de microalgas: Parámetros del cultivo que afectan la producción de lípidos. *Acta Biológica Colombiana*, *18*(1), 43-68. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v18n1/v18n1a4.pdf

Avagyan, A. B. (2008). A contribution to global sustainable development: inclusion of microalgae and their biomass in production and bio cycles. *Clean Technologies and Environmental Policy*, *10*(4), 313-317. Recuperado de: https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10098-008-0180-5.pdf

Brennan, L., & Owende, P. (2009). Biofuels from microalgae—a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and sustainable energy reviews*, *14*(2), 557-577. Recuperado de: https://pdfs.semanticscholar.org/ce69/980068751d551204776abaa99c5e0cf8d535.pdf

Brown, M. R., Mular, M., Miller, I., Farmer, C., & Trenerry, C. (1999). The vitamin content of microalgae used in aquaculture. *Journal of Applied Phycology*, *11*(3), 247-255. Recuperado de: https://www.researchgate.net/profile/Daniela_Hampel/post/How_can_I_extract_and_quantify_Vitamins_from_microalgae/attachment/59d63f31c49f478072ea9811/AS:273776615329792@1442284839089/download/Brown+et+al+1999.pdf

Catalá Esteve, L. (2013). Contribución al estudio del crecimiento y las posibilidades del aprovechamiento termoquímico de las microalgas Nannochloropsis gaditana y Nannochlorpsis oculata.

https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/36415/1/tesis_catala_esteve.pdf

Chinnasamy, S., Bhatnagar, A., Hunt, R. W., & Das, K. C. (2010). Microalgae cultivation in a wastewater dominated by carpet mill effluents for biofuel applications. *Bioresource technology*, *101*(9), 3097-3105.

Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology advances*, *25*(3), 294-306. Recuperado de: https://pdfs.semanticscholar.org/bd75/3033ff5bae79552fb5e4652f7856262c70a6.pdf

Corrales, A. (2009). *Influencia de Azotobacter Chroococcum, Vermicompost y Bayfolan Forte® en el rendimiento del cultivo del tomate L. esculentum, MILL), en un suelo del municipio Amancio Rodríguez* (Doctoral dissertation). Recuperado de: http://roa.ult.edu.cu/bitstream/123456789/892/1/Alexy%20Corrales.pdf

Coutteau, P. (1996). Micro-algae. *Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper*, *361*, 7-48. Recuperado de: http://www.fao.org/docrep/003/W3732E/w3732e06.htm#2.3.%20Algal%20production

De Assis Esteves, F. (1998). *Fundamentos de limnologia*. Interciência. Recuperado de:

https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/34568317/Fundamentos_de_Limnologia_-_Francisco_de_Assis_Esteves_1_.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1510685819&Signature=dVozGVg6PMX7roEpPalXVEAzyl4%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DFundamentos_de_Limnologia_-_Francisco_de.pdf

Derner, R. B., Ohse, S., Villela, M., Carvalho, S. M. D., & Fett, R. (2006). Microalgae, products and applications. *Ciência Rural*, *36*(6), 1959-1967. Recuperado de: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782006000600050

Desmorieux, H., Madiouli, J., Herraud, C., & Mouaziz, H. (2010). Effects of size and form of Arthrospira Spirulina biomass on the shrinkage and porosity during drying. *Journal of food engineering*, *100*(4), 585-595. Recuperado de: http://eprints.kku.edu.sa/1174/1/Effects%20of%20size%20and%20form%20of%20Arthrospira%20Spirulina%20biomass%20on%20the.pdf

Demirbas, A. (2009). Progress and recent trends in biodiesel fuels. *Energy conversion and management*, *50*(1), 14-34. Recuperado de: http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.463.9156&rep=rep1&type=pdf

Diaz, C. (Setiembre de 2014). *REVISIÓN DE ANTECEDENTES DE MICROALGAS EN EL USO DE BIOCOMBUSTIBLES Y PROYECCIÓN PARA LA REGIÓN DE ARICA Y PARINACOTA.* Centro de Investigación del hombre en el desierto, Arica. Arica y Parinacota: Innova Chile de CORFO. Obtenido de: http://repositoriodigital.corfo.cl/bitstream/handle/11373/9122/REVISION%20DE%20ANTECEDENTES%20BIOCOMBUSTIBLES%20VF.pdf?sequence=13

Dissa, A. O., Desmorieux, H., Savadogo, P. W., Segda, B. G., & Koulidiati, J. (2010). Shrinkage, porosity and density behaviour during convective drying of spirulina. *Journal of food Engineering*, *97*(3), 410-418.

Doucha, J., & Lívanský, K. (2011). Production of high-density Chlorella culture grown in fermenters. *Journal of applied phycology*, *24*(1), 35-43. Recuperado de: https://www.researchgate.net/profile/Jiri_Doucha/publication/226902313_Production_of_high-

density_Chlorella_culture_grown_in_fermenters/links/00b495236bd3e3c71d000000.pdf

FAO (2017) La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. Departamento de Pesca. FAO. Recuperado de: http://www.fao.org/docrep/field/003/AB473S/AB473S02.htm

Fernández-Linares, L. C., Montiel-Montoya, J., Millán-Oropeza, A., & Badillo-Corona, J. A. (2012). Producción de biocombustibles a partir de microalgas. *Ra Ximhai*, *8*(3b), 101-115. Recuperado de: http://uaim.edu.mx/webraximhai/Ej-25barticulosPDF/10%20FERNANDEZ-LINARES.pdf

Ferrari, R. A., Oliveira, V. D. S., & Scabio, A. (2005). Biodiesel de soja–taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. *Química Nova*, *28*(1), 19-23. Recuperado de: http://www.scielo.br/pdf/qn/v28n1/23031.pdf/

Garibay, A., Vázquez-Duhalt, R., Sánchez, M., Serrano, L., & Martínez, A. (2009). Biodiesel a Partir de Microalgas. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. BioTecnología, Vol.13 No.3. 38–61. Recuperado de: http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2009_3/Biodiesel.pdf

Greenwell, H. C., Laurens, L. M. L., Shields, R. J., Lovitt, R. W., & Flynn, K. J. (2009). Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of the technological challenges. *Journal of the Royal Society Interface*, rsif20090322. Recuperado de: http://rsif.royalsocietypublishing.org/content/early/2009/12/22/rsif.2009.0322#aHR0cDovL3JzaWYucm95YWxzb2NpZXR5cHVibGlzaGluZy5vcmcvY29udGVudC9yb3lpbnRlcmZhY2UvZWFybHkvMjAwOS8xMi8yMi9yc2lmLjIwMDkuMDMyMi5mdWxsLnBkZkBAQDA=

Guiry, M.D., Guiry, G.M. (2019) AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland. Galway. www.algaebase.org.

Hakeem, K. R., Jawaid, M., & Rashid, U. (Eds.). (2014). *Biomass and bioenergy: processing and properties*. Springer. Recuperado de: https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=t1hbBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=+Biomass+and+bioenergy:+processing+and+properties.+Springer&ots=mFnK3hCpNg&sig=os5fz1M5O1TROXRbJBAMmoxlqgM#v=onepage&q=Biomass%20and%20bioenergy%3A%20processing%20and%20properties.%20Springer&f=false

Hoek, C., Mann, D., & Jahns, H. M. (1995). *Algae: an introduction to phycology. Cambridge university press.* 623 pp

Hoshida, H., Ohira, T., Minematsu, A., Akada, R., & Nishizawa, Y. (2005). Accumulation of eicosapentaenoic acid in Nannochloropsis sp. in response to elevated CO 2 concentrations. *Journal of Applied Phycology*, *17*(1), 29-34.

Huss, V. A., Frank, C., Hartmann, E. C., Hirmer, M., Kloboucek, A., Seidel, B. M. & Kessler, E. (1999). Biochemical taxonomy and molecular phylogeny of the genus Chlorella sensu lato (Chlorophyta). *Journal of Phycology*, *35*(3), 587-598. Recuperado de: http://www.bashanfoundation.org/huss/hussphylogenia.pdf

Ichihara K, Fukubayashi Y. (2010). Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. J Lipid Res 51: 635-640. doi: 10.1194/ jlr.D001065

Khan, S. A., Hussain, M. Z., Prasad, S., & Banerjee, U. C. (2009). Prospects of biodiesel production from microalgae in India. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *13*(9), 2361-2372. Recuperado de: http://14.139.56.90/bitstream/1/37841/1/K-Prospects%20of%20biodiesel.pdf

Kim, M. K., Park, J. W., Park, C. S., Kim, S. J., Jeune, K. H., Chang, M. U., & Acreman, J. (2007). Enhanced production of Scenedesmus spp.(green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater. *Bioresource technology*, *98*(11), 2220-2228. Recuperado de: https://pdfs.semanticscholar.org/6a39/b5666f4166c7b9c9d6561fb8a15b31ed2d99.pdf

Knauer, J., & Southgate, P. C. (1996). Nutritional value of a spray-dried freshwater alga, Spongiococcum excentricum, for Pacific oyster (Crassostrea gigas) spat. *Aquaculture*, *146*(1), 135-146.

Lardon, L., Helias, A., Sialve, B., Steyer, J. P., & Bernard, O. (2009). Life-cycle assessment of biodiesel production from microalgae. Recuperado de: http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/es900705j

Lee, J. Y., Yoo, C., Jun, S. Y., Ahn, C. Y., & Oh, H. M. (2010). Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Bioresource technology*, *101*(1), S75-S77. Recuperado de: https://pdfs.semanticscholar.org/1daa/b156a7df4b3f1bde42787ffba7a350ce8564.pdf

Li, X., Xu, H., & Wu, Q. (2007). Large-scale biodiesel production from microalga Chlorella protothecoides through heterotrophic cultivation in bioreactors. *Biotechnology and bioengineering*, *98*(4), 764-771

Lim, S., & Teong, L. K. (2010). Recent trends, opportunities and challenges of biodiesel in Malaysia: an overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *14*(3), 938-954. Recuperado de: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/46898834/j.rser.2009.10.02720160629-6186-njldct.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1511277970&Signature=zHuF4Q%2Fua4wvwUew%2BTie6C1RENU%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DRecent_trends_opportunities_and_challeng.pdf

Liza, C. (2015). Efecto de dietas con tres microalgas bentónicas en el crecimiento y supervivencia post larval del *Loxechinus albus*, Erizo Verde.

Lourenço, S. O. (2006). *Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações* (Vol. 606). São Carlos: RiMa.

Lubián, L. M. (1982). Nannochloropsis gaditana sp. nov., una nueva Eustigmatophyceae marina. *Lazaroa*, *4*, 287-293. Recuperado de: evistas.ucm.es/index.php/LAZA/article/download/LAZA8282110287A/11194

Makareviciene, V., Skorupskaite, V., & Andruleviciute, V. (2013). Biodiesel fuel from microalgae-promising alternative fuel for the future: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, *12*(2), 119-130.

Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renewable and sustainable energy reviews*, *14*(1), 217-232. Recuperado de: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/42793628/MataMartinsCaetano_MicroalgaeForBiodieselProductionOtherApplications_Review.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1511219776&Signature=DQk6%2FNLKcknMboMfwnhHUM1AtbU%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DMicroalgae_for_biodiesel_production_and.pdf

Meng, X., Yang, J., Xu, X., Zhang, L., Nie, Q., & Xian, M. (2009). Biodiesel production from oleaginous microorganisms. *Renewable energy*, *34*(1), 1-5. Recuperado de: http://124.16.151.184/bitstream/337004/442

Merin, D. D., Prakash, S., & Bhimba, B. V. (2010). Antibacterial screening of silver nanoparticles synthesized by marine micro algae. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 3(10), 797-799.

Mitra, D., van Leeuwen, J. H., & Lamsal, B. (2012). Heterotrophic/mixotrophic cultivation of oleaginous Chlorella vulgaris on industrial co-products. *Algal Research*, *1*(1), 40-48.

Molina, E., Acien, F., Garcia F., & Yusuf C. (1999). Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. *Journal of biotechnology*, *70*(1), 231-247. Recuperado de: http://tur-www1.massey.ac.nz/~ychisti/Asterio.pdf

Morris, H & Moran, L. (2002). Determinación del contenido de triptófano en suplementos nutricionales de microalgas mediante espectrofotometría derivativa. Revista Cubana de Química. 16 (1): 65-70.

Morris, H., Quintana, M., Almares, A., & Hernández, L. (1999). Composición bioquímica y evaluación de la calidad proteica de la biomasa autotrófica de la Chlorella vulgaris. *Rev. Cub. Alim. Nutr*, *13*, 123-128. Recuperado de: http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol13_2_99/ali07299.pdf

Mutanda, T., Ramesh, D., Karthikeyan, S., Kumari, S., Anandraj, A., & Bux, F. (2010). Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuel production. *Bioresource technology*, *102*(1), 57-70. Recuperado de: http://portal.ftc.br/bioenergia/wp-content/uploads/2011/06/Bioprospecting-for-hyper-lipid-producing-microalgal-strains-for-sustainable.pdf

Naghavi, B., & Malone, R. F. (1986). Algae removal by fine sand/silt filtration. *Water Research*, *20*(3), 377-383.

Otero, A., García, D., & Fábregas, J. (1997). Factors controlling eicosapentaenoic acid production in semicontinuous cultures of marine microalgae. *Journal of applied phycology*, *9*(5), 465-469.

Pacheco, F. (2013). Efeito de diferentes intensidades luminosas no crescimento em biomassa de Tetrastrum heteracanthum (NORDSTEDT) CHODAT como subsídio para a produção de biodiesel. Tesis licenciatura, Faculdade Católica do Espírito Santo, Espírito Santo - Brasil. Recuperado de: http://repositorio.espe.edu.ec/jspui/bitstream/21000/12938/1/T-ESPE-053816.pdf

Packer, M. (2009). Algal capture of carbon dioxide; biomass generation as a tool for greenhouse gas mitigation with reference to New Zealand energy strategy and policy. *Energy Policy*, *37*(9), 3428-3437. Recuperado de: https://www.researchgate.net/profile/Michael_Packer/publication/223518750_Algal_Capture_of_Carbon_Dioxide_Biomass_Generation_as_a_Tool_for_Greenhouse_Gas_Mitigation_with_Reference_to_New_Zealand_Energy_Strategy_and_Policy/links/5732792408aea45ee8364540.pdf

Perez-Garcia, O., Escalante, F., de-Bashan, L. & Bashan, Y. (2011). Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. *Water research*, *45*(1), 11-36. Recuperado de: http://bashanfoundation.org/gmaweb/pdfs/heterotrophicmetabol.pdf

Posten, C., & Schaub, G. (2009). Microalgae and terrestrial biomass as source for fuels—a process view. *Journal of biotechnology*, *142*(1), 64-69.

Rawat, I., Kumar, R. R., Mutanda, T., & Bux, F. (2011). Dual role of microalgae: phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy*, *88*(10), 3411-3424 recuperado de: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/46266101/j.apenergy.2010.11.02520160605-21173-5vdrrz.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1511475648&Signature=lEvbDvzMVJSqyaoe%2Fb59ddi%2FuOg%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DDual_role_of_microalgae_Phycoremediation.pdf

Reynolds, C. S. (2006). *The ecology of phytoplankton*. Cambridge University Press.

Rodolfi, L., Chini Zittelli, G., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G., & Tredici, M. R. (2009). Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnology and bioengineering*, *102*(1), 100-112. Recuperado de: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/50245285/Microalgae_for_oil_Strain_selection_indu20161110-11940-1bpwlgy.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1511244541&Signature=spf46jRI2bCVCrzhmeiL8mb5S7E%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DMicroalgae_for_oil_Strain_selection_indu.pdf

Serrano, M. (2012). *Estudio de cuatro cepas nativas de microalgas para evaluar su potencial uso en la producción de biodiesel* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia). Recuperado de: http://www.bdigital.unal.edu.co/7825/1/299883.2012.pdf

Shirai, F., Kunii, K., Sato, C., Teramoto, Y., Mizuki, E., Murao, S., & Nakayama, S. (1998). Cultivation of microalgae in the solution from the desalting process of soy sauce waste treatment and utilization of the algal biomass for ethanol fermentation. *World journal of Microbiology and Biotechnology*, *14*(6), 839-842.

Sukenik, A., Zmora, O., & Carmeli, Y. (1993). Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition. II. Nannochloropsis sp. *Aquaculture*, *117*(3-4), 313-326.

Sydney, E. B., Sturm, W., de Carvalho, J. C., Thomaz-Soccol, V., Larroche, C., Pandey, A., & Soccol, C. R. (2010). Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae. *Bioresource technology*, *101*(15), 5892-5896. Recuperado de: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/46196246/Potential_carbon_dioxide_fixation_by_ind20160603-26206-1v066xc.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1511229735&Signature=%2BxpfSdkHW7d772fLEDQVfJ35EK4%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DPotential_carbon_dioxide_fixation_by_ind.pdf

Tang, Y., Ma, X., & Lai, Z. (2011). Thermogravimetric analysis of the combustion of microalgae and microalgae blended with waste in N 2/O 2 and CO 2/O 2 atmospheres. *Bioresource technology*, *102*(2), 1879-1885

Uribe, E. (1994). "Cultivo de peces marinos" - Cultivo de Microalgas, material docente. Departamento de Acuicultura. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Católica del Norte. Coquimbo. Chile: 50-73.

Ushilo, M. J., Hino, A., & Maeda, M. (1999). Antagonistic Interactions between Microalga Nannochloropsis oculata (Eustigmatophyceae) and Ciliate Euplotes sp. *Microbes and environments*, *14*(4), 193-200. Recuperado de: https://www.jstage.jst.go.jp/article/microbes1996/14/4/14_4_193/_pdf

Vismara, R., Vestri, S., Barsanti, L., & Gualtieri, P. (2003). Diet-induced variations in fatty acid content and composition of two on-grown stages of Artemia salina. *Journal of applied phycology*, *15*(6), 477-483.

Vyas, A. P., Verma, J. L., & Subrahmanyam, N. (2010). A review on FAME production processes. *Fuel*, *89*(1), 1-9. Recuperado de: https://es.scribd.com/document/337665775/A-Review-on-FAME-Production-Processes

Wang, B., Li, Y., Wu, N., & Lan, C. Q. (2008). CO2 bio-mitigation using microalgae. *Applied microbiology and biotechnology*, *79*(5), 707-718.

Xue, F., Zhang, X., Luo, H., & Tan, T. (2006). A new method for preparing raw material for biodiesel production. *Process Biochemistry*, *41*(7), 1699-1702.

Xin, L., Hong-ying, H., Ke, G., & Jia, Y. (2010). Growth and nutrient removal properties of a freshwater microalga Scenedesmus sp. LX1 under different kinds of nitrogen sources. *Ecological Engineering*, *36*(4), 379-381.

Xin, L., Hong-Ying, H., & Jia, Y. (2010). Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, Scenedesmus sp. LX1, growing in secondary effluent. *New biotechnology*, *27*(1), 59-63.

Yoo, C, et al. (2010) Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide. *Bioresource Technology, vol. 101, pp. S71-S74.*

Yuan-Kun, L. & Hui, S. (2004). Basic culturing techniques. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*, 40.

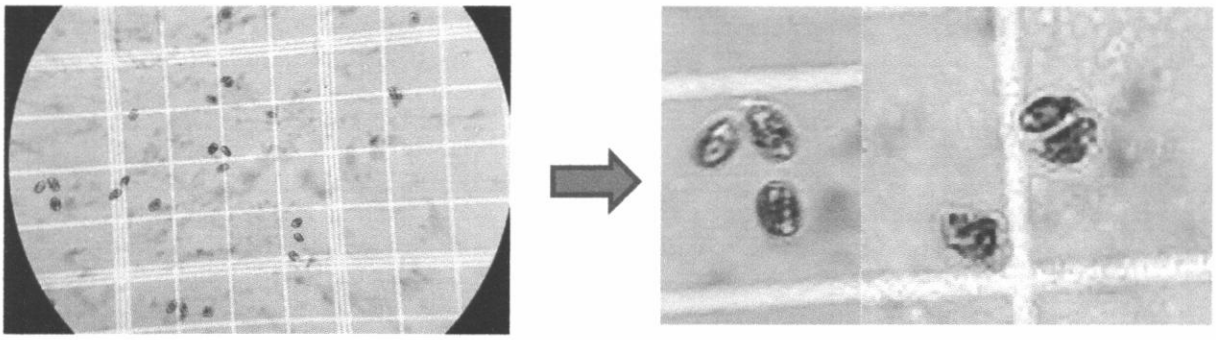
Zamalloa, C., Boon, N., & Verstraete, W. (2012). Anaerobic digestibility of Scenedesmus obliquus and Phaeodactylum tricornutum under mesophilic and thermophilic conditions. Applied Energy, 92, 733-738.

Zevallos, S., IMARPE (2010). Tecnología de cultivo de microalgas como alimento de moluscos. IMARPE

ANEXOS

ANEXO N° 01: Identificación de microalgas

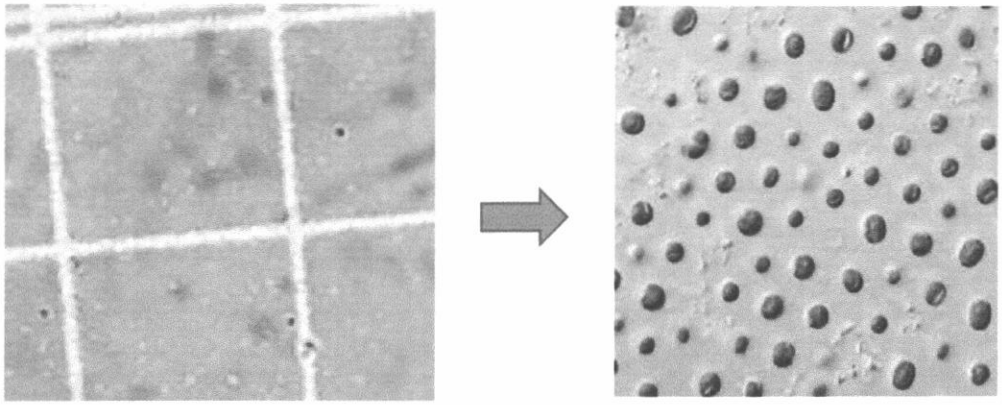
a.- Tetraselmis striata



Fuente: Elaboración propia

Fuente: Elaboración propia

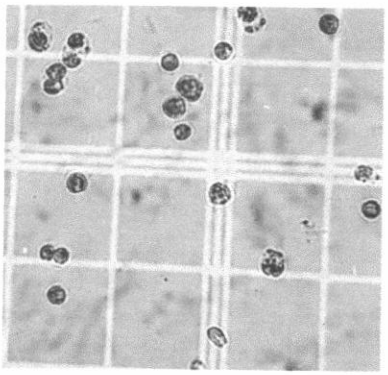
b.- Nannochloropsis oculata



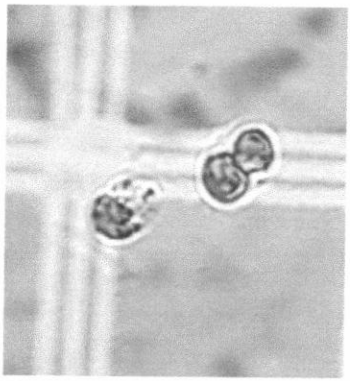
Fuente: Elaboración propia

Fuente: Elaboración propia

c.- Chlorella sp.



Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

MEDIOS DE CULTIVO

ANEXO N° 02 MEDIO CHU 10 (MODIFICADO POR GERLOFF) (0. UMEBAYASHI, 1975)

(Recomendado para aislamiento de microalgas de hábitats oligotróficos y eutróficos)

$Ca(NO_3)_2$	0.04%
K_2HPO_4	0.01%
Na_2CO_3	0.02%
$MgSO_4.7H_2O$	0.025%
Na_2SiO_3	0.025%
Citrato de Fierro Amoniacal	0.005%

NOTA: Puede usarse para medio solidificado

Agar-Agar	1.0%

ANEXO N° 03 MEDIO ENRIQUECIDO

MEDIO MIGUEL (ALLEN-NELSON, 1910)

Solución A:	KNO_3	20. 2 g
	H_2O	100 ml
Solución B:	$Na_2HPO_412H_2O$	4 g
	$CaCl_26H_2O$	4 g
	HCl conc.	2 ml
	$FeCl_3$	2 ml
	H_2O	80 ml

Agregar 2 ml de la Solución A y 1 ml de la Solución B a un litro de agua de mar natural, y calentar a 70°C por 20 minutos.

ANEXO N° 04 MEDIO ERD-SAHREIBER ENRIQUECIDO (FOYN, 1934a,b)

$NaNO_3$	10 mg
$Na_2HPO_412H_2O$	2 mg
Extracto de suelo	5 ml
Agua de mar	100 ml

MEDIO ERD-SCHREIBER

*Agua de mar	1 litro
Extracto de suelo	50 ml
$NaNO_3$	0.2 g
$Na_2HPO_4.12H_2O$	0.03 g

* Se recomienda usar el agua filtrada y pasteurizada, y adicionar los ingredientes.

ANEXO N° 05 MEDIO DE YASHIMA (SISFFAA, 1964a)
(Para cultivo masivo de cloroficeas marinas)

Sulfato de Amonio (para la agricultura 21%)	100 g/t
Superfosfato de Calcio (para la agricultura 21%)	15 g/t
Urea (para la agricultura 21%)	15 g/t
Clewat 32	30–50 g/t
Componentes de Clewat 32:	
$FeCl_2$ (como fuente de Fe)	0.385%
$ZnCl_2$ (como fuente de Zn)	0.166%
$MnCl_2$ (como fuente de Mn)	0.775%
$CoCl_2$ (como fuente de Co)	0.017%
$CuSO_4$ (como fuente de Cu)	0.007%
$(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ (como fuente de Mo)	0.632%
$H_3 BO_3$ (como fuente de B)	2.470%
EDTA	0.005%

MEDIO DE YASHIMA MODIFICADO (HIRATA, 1975)

Medio de Yashima (en la misma concentración)

Peptona	50 g/t
Peptidasa	0.005%
Diaminasa	0.005%

(recomendado para cultivos axénicos)

ANEXO N° 06 YANASE & IMAI (1968) PARA Monochrysis lutheri, Platymonas sp., Nitzschia closterium, Chaetoceros calcitrans

NaCl	18 mg	Metal Mix*	30 ml
KC¹	600 mg	Fe (as Cl)	100 µg
$NaNO_3$	500 mg	Tris	1 g
$MgSO_4 . 7H_2O$	5 g	Vit.B_{12}	3µg
Ca (as Cl)	100 mg	$Na_2 SiO_3$	80 mg
K_2HPO_4	30 mg	Vitamin Mix†	1 ml
		H_2O	1 l

* Mezcla de metales 100 ml, contanido: Na_2 EDTA, 100 mg; Fe, 1 mg; Zn, 0.5 mg; Mn, 4 mg;Co, 0.01 mg; Cu, 0.004 mg; B, 20 mg.
† Mezcla de vitaminas 50 ml, contenido: B_{12}, 10 µg; biotina, 50 µg; B_1, 5 mg

ANEXO N° 07 MEDIO DE CULTIVO (AGUA DULCE) (Guillard, In: Stein, 1979)

Guillard (comunicación personal a J. Steinn, 1973. Handbook of phycological methods, Culture Methods and Growth Measurements. Cambridge at the University Press: 448 pp.

a. Macronutrientes:

$CaCl_2.2H_2O$	36.76 g/l
$MgSO_4.7H_2O$	36.97 g/l
$NaHCO_3$	12.60 g/l
K_2HPO_4	8.71 g/l
$NaNO_3$	85.01 g/l
$Na_2SiO_3.9H_2O$	28.42 g/l

De esta solución rotulada como a se obtiene 1 ml y se le adiciona a 1 litro de agua esterilizada.

b. Micronutrientes:

Na_2EDTA	4.36 g/l
$FeCl_3.6H_2O$	3.15 g/l
$CuSO_4.5H_2O$	0.01 g/l
$ZnSO_4.7H_2O$	0.022 g/l
$CoCl_2.6H_2O$	0.01 g/l
$MnCl_24H_2O$	0.18 g/l
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.006 g/l

De esta solución rotulada como b, se obtiene 1 ml y se le adiciona a 1 litro de agua esterilizada.

c. Vitaminas:

Thiamine. HCl	0.1 mg/l
Biotin	0.5 g/l
Cyanocobalamina	0.5 g/l

De esta solución rotulada como c, se obtiene 1 ml y se le adiciona a 1 litro de agua esterilizada.

d. Tris:

Tris (Hydroxymethyl)-Aminomethano	50.g/200 ml H_2O dest.

(Cuando el cultivo se encuentra axénico el tris puede reemplazarse por Glycylaglycine). De esta solución rotulada como d, obtener 2 ml y adicionar al litro de agua esterilizada que se está preparando el cultivo. Una vez preparado el medio de cultivo, se debe hacer ajuste de pH a 7.2 con HCl cuidadósamente para no obtener el pH ácido.

ANEXO N° 08 MEDIO MET 44 (SCHONE & SCHONE, 1982)

(Para microalgas marinas de la Familia Bacilarioficea)

$NaNO_3$	3.4 mg
$Na_2HPO_4.12H_2O$	0.925 mg
$Na_2SiO_3.9H_2O$	10.14 mg
$Na_2EDTA.2H_2O$	0.803 mg
$FeSO_4.7H_2O$	60.0 µg
$MnCl_2.4H_2O$	14.4 µg
Vitamina B_{12}	0.5 µg
Biotina	0.5 µg
Tiamina-HCl	0.5 µg

Para enriquecer un litro de agua de mar

NOTA: La solución stock de Fierro y Silicato debe de acidificarse un poco con una gota de Acido Sulfúrico concentrado, y la solución de EDTA debe acidificarse con Acido Clorhídrico.
El EDTA puede ser adicionado antes que el Fierro.

Para la producción de microalgas a nivel comercial se usa el agua de mar enriquecida con fertilizantes agrícolas (Urea, Fosfato triple, Nitrato de Amonio, etc.) (Chu, 1942, y Tamiya, 1957; SISFFAA, 1964a) y tradicionalmente la fertilización de estanques con abonos orgánicos, en cultivos de especies herbívoras como las carpas.

ANEXO N 09: TABLA DE COMPOSICIÓN DE MEDIO GUILLARD MEDIO F/2 MODIFICADO (GUILLARD 1975)

Macronutrientes	g/L
KNO_3	75.00
$NaH_2PO_4 . 2 H_2O$	5.65
Micronutrientes	**g/L**
EDTA Na_2	4.360
$FeCl_3 . 6 H_2O$	3.150
$CuSO_4 . 5 H_2O$	0.010
$ZnSO_4 . 7 H_2O$	0.022
$CoCl_2 . 6 H_2O$	0.010
$MnCl_2 . 4 H_2O$	0.180
$Na_2MoO_4 . 2 H_2O$	0.006
Vitaminas	**g/L**
Cyanocobalamina	0.002
Tamina HCl	0.100
Biotina	0.001
Reactivo 4	**mL/L**
$Na_2SiO_3 . 5 H_2O$	10.00
H_3ClO_4	5.00
ajustar a pH 8.0 con 1 M Na OH or HCl	
Preparación del Medio	**En 1 Litro**
Reactivo 1	1.00 mL
Reactivo 2	1.00 mL
Reactivo 3	1.00 mL

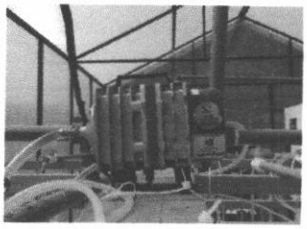
Fuente: IMARPE, 2010

Procedimiento de preparación

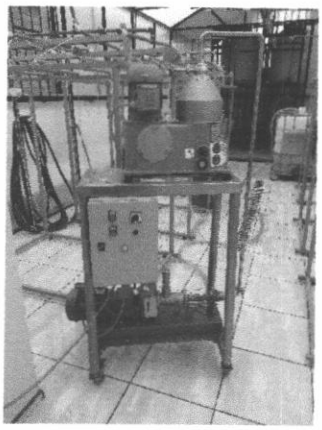
- Pesar los insumos en una balanza analítica de error 1.0 mg y sensibilidad de d=0.1mg.
- Trabajar en condiciones asépticas para evitar la contaminación del medio Guillar F/2.
- Asegurarse que la balanza este tarado correctamente.
- Usar láminas de aluminio para pesar los insumos.
- Pesar los insumos a medida que se va preparando el medio Guillard F/2.
- Acondicionar los insumos poco a poco en la botella que contiene el agua salada, y agitar hasta notar su dilución completamente.
- Tapar herméticamente los envases y almacenarlos en refrigeración.

ANEXO N° 10: GALERÍA DE FOTOS DE EQUIPOS UTILIZADOS EN EL PROYECTO

1. Motor de aireación



2. Centrifuga



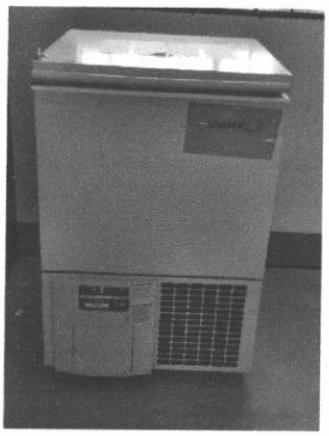
3. Balanza analítica



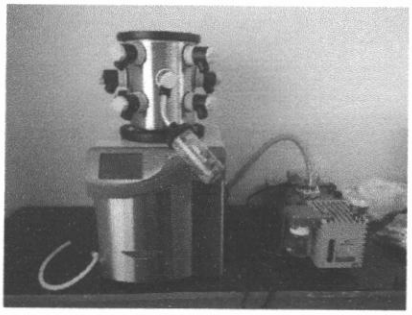
4. Selladora



5. Ultracongelador

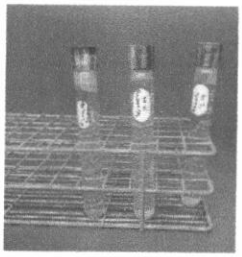


6. Liofilizador y bomba de vacío

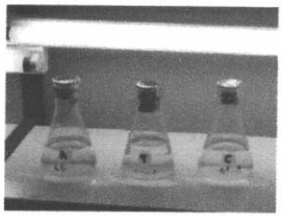


ANEXO N° 11: GALERÍA DE FOTOS DETODOLOGIA DEL CULTIVO DE MICROALGAS

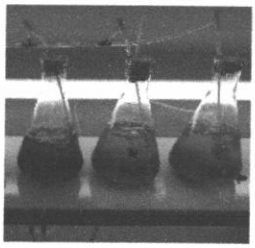
1. Cepas



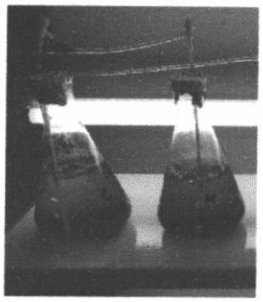
2. Cultivo en matraz de 250 ml



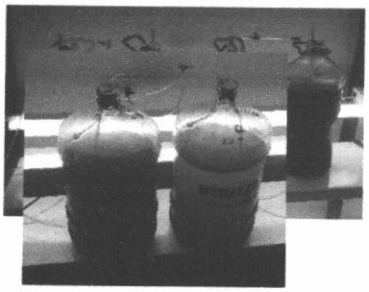
3. Cultivo en matraz de 500 ml



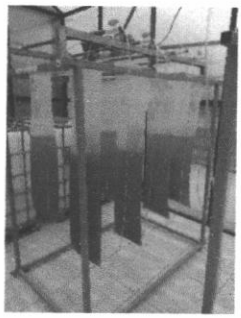
4. Cultivo en matraz de 1 L



5. Cultivo en botella de 3 L



6. Cultivo en botella de 7 L



7. Cultivo en fotobiorreactor (mangas plásticas) de 120 L.

8. Cultivo en tanque de 1000 L

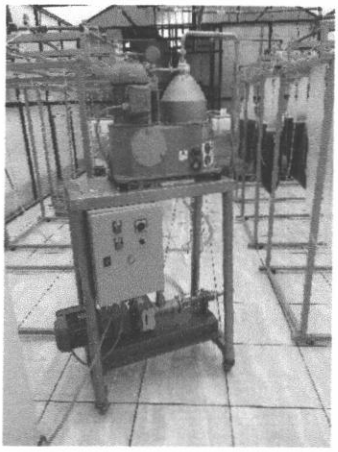


ANEXO N° 12: GALERÍA DE FOTOS: METODOLOGIA DE CENTRIFUGADO

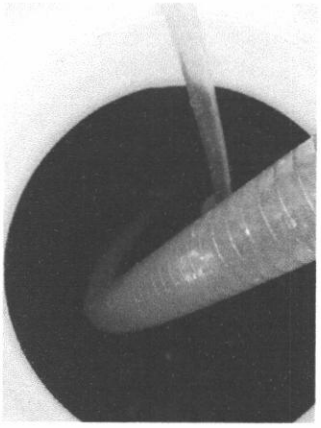
1. Tanque de cultivo listo para cosechar



2. Centrifuga



3. Manguera de succión dentro del tanque de cultivo



4. Cosecha de biomasa húmeda



5. Biomasa húmeda

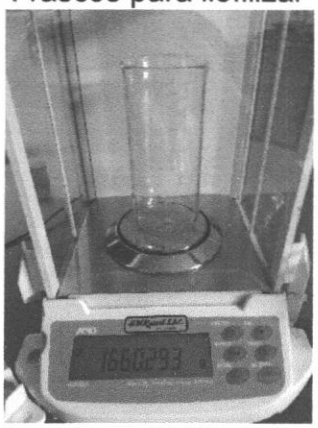


6. Pesado de biomasa húmeda



ANEXO N° 13: METODOLOGIA PARA LA OBTENCIÓN DE BIOMASA SECA

1. Frascos para liofilizar



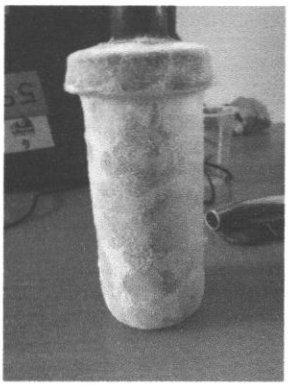
2. Pesado de biomasa húmeda a liofilizar



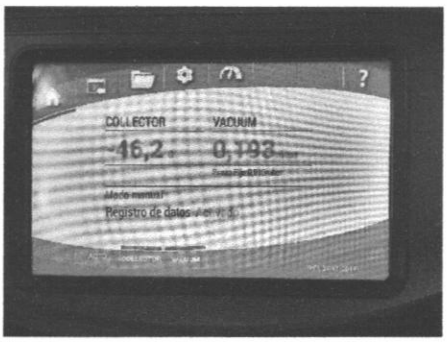
3. Muestras en ultracongelador



4. Muestras congeladas



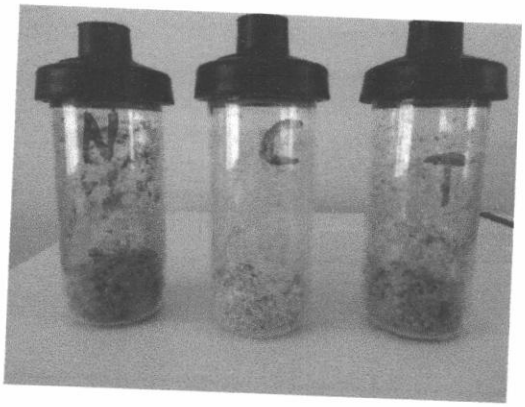
5. Encendido de liofilizador (colector y bomba de vacio)



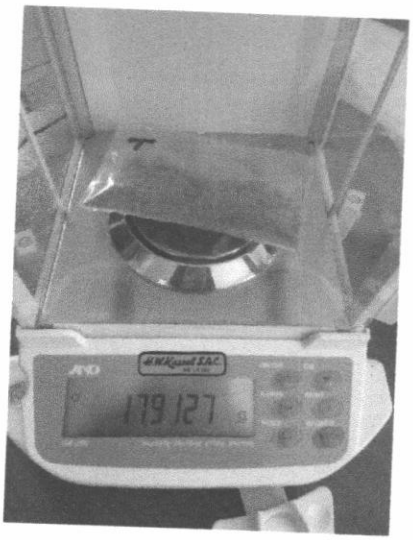
6. Frascos en liofilizador



7. Frascos con biomasa seca



8. Pesado de biomasa seca

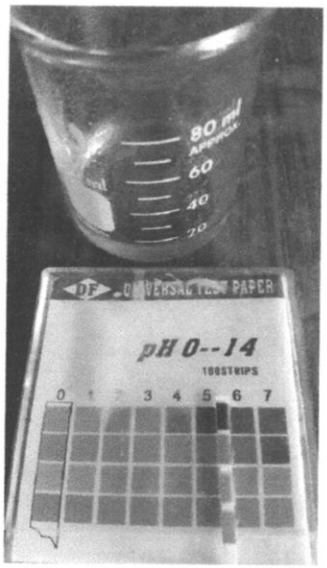


Anexo 14: Caracterización del biodiesel obtenido

En la prueba de acidez medimos con una tira de papel indicador el pH del Biodiesel, este debe ser ácido entre 5 y 6.



(a)



(b)

a) pH antes del lavado b) pH después del lavado

RESOLUCIÓN C.O. N° 405-2014-UNAM

Moquegua, 21 de julio del 2014

SE RESUELVE:

ARTÍCULO PRIMERO.- APROBAR, *el resultado de las evaluaciones así como el Ranking de los Proyectos de Investigación, elaborado por el Comité Evaluador, a propósito del* ***I Concurso de Proyectos de Investigación con fondos de canon minero, sobre canon y regalías mineras de la Universidad Nacional de Moquegua****; y es como sigue:*

PROYECTOS DE CARÁCTER MULTIDISCIPLINARIO (APROBADOS PARA ADJUDICACIÓN):

N°	Integrantes del Proyecto		Nombre del Proyecto de Investigación	Puntaje
01	Directora	Dra. BERTHA SILVANA VERA BARRIOS	HABITACIÓN ARQUITECTÓNICA FLOTANTE, A TRAVÉS DE LA LEVITACIÓN CUÁNTICA Y SUPERCONDUCTORES.	5.00
	Inv. Asociado	Mg. José Luis Morales Rocha.		
		Mg. Florencia Beatriz Herrera Córdova.		
		Ing. Osmar Cuentas Toledo.		
		Mg. Roberto Tito Condori.		
	Inv. Externo	Arq. Freddy Porfirio Niebles Cuayla.		
		Dr. David Pacheco Salazar.		
	Estudiante	Wilfredo Martin Luis Maquera.		
	Administrativo	MSc. Alcides Nicanor Sánchez Parra.		
02	Director	Ing. ARQUIMIDES LEON VARGAS LUQUE.	ESTIMACIÓN DE LA AMENAZA Y VULNERABILIDAD SÍSMICA EN LA CIUDAD DE MOQUEGUA - PROVINCIA MARISCAL NIETO - DEPARTAMENTO DE MOQUEGUA - 2014.	4.25
	Inv. Externo	Ing. Miguel Armando Salas Chávez Villa Alagón.		
		Ing. Fabrizio del Carpio Delgado.		
03	Director	MSc. NILS LEANDER HUAMAN CASTILLA.	INTRODUCCIÓN DE NUEVAS TECNOLOGÍAS PARA LA IDENTIFICACIÓN, CARACTERIZACIÓN, SELECCIÓN Y MEJORA GENÉTICA DE LAS ESPECIES DEL GENERO ORIGANUM L. PARA MEJORAR SU RENTABILIDAD EN LA REGIÓN MOQUEGUA.	4.125
	Inv. Asociado	MSc. José Orlando Quintana Quispe.		
		Dr. Gregorio Arroyo Japura.		
		Ing. Jerónimo Martín Sarco Burgos.		
	Inv. Externo	Dr. Herber Lazo Rodríguez.		
		MSc. José Antonio Valeriano Zapana		
	Egresado	Ciro Suca Colana		
04	Director	Dr. WALTER MERMA CRUZ.	OBTENCIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE MICRO ALGAS NATIVAS CUANTIFICANDO SU POTENCIAL BIOENERGÉTICO EN EL LITORAL DE LA PROVINCIA DE ILO DEL AÑO 2014.	4.125
	Inv. Asociado	Blga. Isabel Del Carmen Espinoza Reynoso.		
		Ing. Giovanna Verónica Guevara Cancho.		
		Mg. Katy Consuelo Alejandro Pérez.		
	Inv. Externo	QF. Stamber Alvaro Ramírez Revilla.		
05	Directora	Ing. VANEZA FLORES GUTIERREZ.	EFECTO DEL SISTEMA INTEGRAL PARA EL MONITOREO Y SEGUIMIENTO EFICIENTE DEL DESARROLLO LECTIVO DE LA CATEDRA EN LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA, 2014.	4.00
	Inv. Asociado	Ing. Yéssica del Rosario Afaray Sucso		
		Lic. Vladimir Pablo Vela Poma		
	Inv. Externo	Ing. Danyer Alain Valencia Llamoca		
		Ing. Jesús Rene Arocutipa Centellas.		
	Estudiante	Juan Carlos Valero Gómez		
		Diego Ismael Mamani Padilla.		
06	Director	MSc. MARIO ROGER COTACALLAPA SUCAPUCA.	APROVECHAMIENTO DE LOS RESIDUOS INDUSTRIALES VITIVINÍCOLAS PARA LA OBTENCIÓN DE ETANOL Y COMPOST.	4.00
	Inv. Asociado	Ing. Hugo Callisaya Ccosi.		
		Ing. Raquel Allison Choquehuanca Pineda.		
	Inv. Externo	MSc. Giovanni Mita Ticona.		
		Mg. Bernardo Jorge Rojas.		
	Egresada	Gina Sandra Condori Mendoza.		
		Milagros Maribel Coaguila Gonza.		
	Administrativo	Sujey Milagros Caso Ortega.		
07	Director	Ing. AGAPITO FLORES JUSTO.	USO DEL ANALIZADOR PORTÁTIL DE MULTIELEMENTOS Y SU IMPLICANCIA EN LA EVALUACIÓN DE RECURSOS E INTERPRETACIÓN GEOLÓGICA CON OTROS MÉTODOS INDIRECTOS DE LA VETA SALVADORA.	4.00
	Inv. Asociado	Ing. José Antonio Salas Medina		
		Ing. Javier Leonardo Salazar Muñoz.		
	Inv. Externo	Ing. Harmuth Acosta Pereira.		
	Egresado	Hayar Hans Hilasaca Gomez.		
		Joel Eloy Colana Cuayla		
08	Director	Mg. ELÍAS ESCOBEDO PACHECO.	EVALUACIÓN DE LOS PARAMETROS DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE DE PALTA (PERSEA AMERICANA MILL) POR EL MÉTODO DE PRENSADO EN FRIO.	4.00
	Inv. Asociado	Ing. Olivia Magaly Luque Vilca.		
	Inv. Externo	Mg. Lilia Mary Miranda Ramos.		
09	Director	Dr. MILKO RIVERA CAMPANO.	DESARROLLO DE CAPACIDADES PARA LA CONSERVACIÓN DE LA FLORA Y FAUNA AMENAZADA EN EL DISTRITO DE SAN CRISTÓBAL DE LA PROVINCIA DE MARISCAL NIETO EN EL DEPARTAMENTO DE MOQUEGUA.	3.50
	Inv. Asociado	Lic. Mario Román Flores Roque		
	Inv. Externo	Blgo. Luis Fortunato Morales Aranibar.		

RESOLUCIÓN C.O. N° 405-2014-UNAM

Moquegua, 21 de julio del 2014

PROYECTOS A NIVEL DE PROFESORES

INVESTIGACIÓN INDIVIDUAL DE PROFESORES (APROBADOS PARA ADJUDICACIÓN):

N°	Integrantes del Proyecto		Nombre del Proyecto	Puntaje
01	Director	Mg. JESÚS EFRAIN MACEDO GONZALES.	EMPODERAMIENTO Y FORTALECIMIENTO CIUDADANO DE LA JUVENTUD UNIVERSITARIA A TRAVÉS DEL MODELO DE INTERVENCIÓN LIDERAZGO Y ORGANIZACIÓN.	4.625
	Asistente	Lic. Jhon Artemio Valderrama Valderrama.		
	Egresado	Franky Flores Apaza		
		Eddie Jimi Vargas Melo.		
02	Director	Dr. JORGE JINCHUÑA HUALLPA.	AUDITORIA DE GESTIÓN AMBIENTAL Y SU PROCESO EN LA DETERMINACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN OCASIONADA POR EMPRESAS MINERAS EN LA PROVINCIA MARISCAL NIETO, REGIÓN MOQUEGUA.	3.50
	Asistente	CPC. Luis Enrique Fernández Sosa.		
03	Director	MSc. JUAN LUIS CCAMAPAZA AGUILAR.	EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD EMPRENDEDORA DE LOS EGRESADOS DE LA CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL PARA LA APLICACIÓN DE UNA INCUBADORA DE NEGOCIOS AMBIENTALES SOSTENIBLES UNAM - ILO.	3.50
	Asistente	Ing. Marco Vera Zúñiga.		

PROYECTOS PARA ESTUDIANTES Y EGRESADOS

INVESTIGACIÓN APLICADA DE ESTUDIANTES (APROBADOS PARA ADJUDICACIÓN):

N°	Integrantes del Proyecto		Nombre del Proyecto	Puntaje
01	Director	Ing. ERNESTO LARICANO FLORES	EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS POBLACIONALES DE LESSONIA NIGRESCENS EN EL LITORAL MARINO DE LA REGIÓN MOQUEGUA.	4.50
	Estudiante	José Carlos Zapata Rojas.		
		Cynthia Kiara Lagos Quispe.		
02	Director	MSc. NILS LEANDER HUAMAN CASTILLA	AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE PHYTOPHTHORA CINNAMOMI RANDS EN EL CULTIVO DE PALTA VARIEDAD HASS Y FUERTE PARA MEJORAR SU PRODUCTIVIDAD EN LA REGIÓN MOQUEGUA.	4.00
	Estudiante	Esteban Remberto Granados Cuayla.		
		John Victor Cama Curasi		
03	Director	Lic. MARIO ROMAN FLORES ROQUE	CAPTURA Y ADAPTACIÓN A LA CAUTIVIDAD DE REPRODUCTORES DE CORVINA (CILUS GILBERTI) CON TRES DIETAS EN EL LITORAL MARINO DE ILO.	3.00
	Estudiante	Alfredo Maquera Maquera.		
04	Director	Dr. GREGORIO ARROYO JAPURA	EFECTOS DE DENSIDAD DE SIEMBRA SOBRE EL CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA DE JUVENILES DE CORVINA (CILUS GILBERTI) EN SISTEMA DE CAUTIVERIO LITORAL MARINO DE ILO.	3.00
	Estudiante	Franklin Fernández Gómez Alanoca.		
		Jose Jancarlo Salas Anco.		
05	Director	Mg. SHEDA MENDEZ ANCCA.	EVALUACIÓN DE UNA TÉCNICA DE ENSILADO PARA EL ALGA PARDA (LESSONIA TRABECULATA) Y OBSERVACIÓN DE SU CONSUMO POR PARTE DE ABALON ROJO (HALIOTIS RUFESCENS), EN LAS INSTALACIONES DE FONDEPES MORROSAMA.	3.00
	Estudiante	Saly Rosmery Chagua Zapata.		

INVESTIGACIÓN APLICADA DE EGRESADOS (APROBADOS PARA ADJUDICACIÓN):

N°	Integrantes del Proyecto		Nombre del proyecto	Puntaje
01	Director	MSc. NILS LEANDER HUAMAN CASTILLA.	OPTIMIZACIÓN DEL CORTE DE COLA Y TIEMPO DE GUARDA PARA MEJORAR LA PRODUCTIVIDAD Y CALIDAD DEL PISCO DE UVA ITALIA (VITIS VINÍFERA L.) EN LA REGIÓN MOQUEGUA.	3.50
	Egresada	Geraldine Francin Reaño García.		
02	Director	Ing. ARQUÍMIDES LEON VARGAS LUQUE.	EL MORO MORO DE MOQUEGUA: DISTRIBUCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y PROCESOS CONSTRUCTIVOS.	3.50
	Egresado	Richard Javier Maquera Quispe.		
	Estudiante	Katheryn Mariana Gallegos Luglio.		
	Inv. Externo	Cesar Villa Alagon		
03	Director	Ing. VANEZA FLORES GUTIERREZ.	INFLUENCIA DE UN SISTEMA GESTOR DEL CONOCIMIENTO PARA ELEVAR EL NIVEL DEL LOGRO DE LAS CAPACIDADES DE LOS ESTUDIANTES EN EL ÁREA DE COMUNICACIÓN INTEGRAL DEL 5TO GRADO DE EDUCACIÓN PRIMARIA DE LA INSTITUCIÓN EDUCATIVA FÉ Y ALEGRÍA, ILO 2014.	3.25
	Egresada	Shirle Dania Aragón Coaguila.		
	Egresada	Verónica Quispe García.		

ARTÍCULO SEGUNDO.- ASIGNAR, *económicamente a los Proyectos de Investigación ganadores del I Concurso de Proyectos de Investigación de la Universidad Nacional de Moquegua, los siguientes fondos provenientes del canon minero, Sobrecanon y regalías mineras, para el financiamiento según lo establecido en las Bases del mencionado concurso, reglamentos y Directivas correspondientes, de acuerdo al siguiente detalle:*

RESOLUCIÓN C.O. N° 405-2014-UNAM

Moquegua, 21 de julio del 2014

PROYECTOS DE CARÁCTER MULTIDISCIPLINARIO (APROBADOS PARA ADJUDICACIÓN):

N°	NOMBRE DEL PROYECTO	PRESUPUESTO S/.
01	HABITACIÓN ARQUITECTÓNICA FLOTANTE, A TRAVÉS DE LA LEVITACIÓN CUÁNTICA Y SUPERCONDUCTORES.	240,000.00
02	ESTIMACIÓN DE LA AMENAZA Y VULNERABILIDAD SÍSMICA EN LA CIUDAD DE MOQUEGUA - PROVINCIA MARISCAL NIETO - DEPARTAMENTO DE MOQUEGUA - 2014.	250,000.00
03	INTRODUCCIÓN DE NUEVAS TECNOLOGÍAS PARA LA IDENTIFICACIÓN, CARACTERIZACIÓN, SELECCIÓN Y MEJORA GENÉTICA DE LAS ESPECIES DEL GENERO ORIGANUM L. PARA MEJORAR SU RENTABILIDAD EN LA REGIÓN MOQUEGUA	250,000.00
04	OBTENCIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE MICRO ALGAS NATIVAS CUANTIFICANDO SU POTENCIAL BIOENERGÉTICO EN EL LITORAL DE LA PROVINCIA DE ILO DEL AÑO 2014.	250,000.00
05	EFECTO DEL SISTEMA INTEGRAL PARA EL MONITOREO Y SEGUIMIENTO EFICIENTE DEL DESARROLLO LECTIVO DE LA CATEDRA EN LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA, 2014.	249,300.00
06	APROVECHAMIENTO DE LOS RESIDUOS INDUSTRIALES VITIVINÍCOLAS PARA LA OBTENCIÓN DE ETANOL Y COMPOST.	250,000.00
07	USO DEL ANALIZADOR PORTÁTIL DE MULTIELEMENTOS Y SU IMPLICANCIA EN LA EVALUACIÓN DE RECURSOS E INTERPRETACIÓN GEOLÓGICA CON OTROS MÉTODOS INDIRECTOS DE LA VETA SALVADORA.	211,285.00
08	EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE DE PALTA (PERSEA AMERICANA MILL) POR EL MÉTODO DE PRENSADO EN FRIO.	250,000.00
09	DESARROLLO DE CAPACIDADES PARA LA CONSERVACIÓN DE LA FLORA Y FAUNA AMENAZADA EN EL DISTRITO DE SAN CRISTÓBAL DE LA PROVINCIA DE MARISCAL NIETO EN EL DEPARTAMENTO DE MOQUEGUA.	250,000.00

INVESTIGACIÓN INDIVIDUAL DE PROFESORES (APROBADOS PARA ADJUDICACIÓN)

N°	NOMBRE DEL PROYECTO	PRESUPUESTO S/.
01	EMPODERAMIENTO Y FORTALECIMIENTO CIUDADANO DE LA JUVENTUD UNIVERSITARIA A TRAVÉS DEL MODELO DE INTERVENCIÓN LIDERAZGO Y ORGANIZACIÓN.	30,000.00
02	AUDITORIA DE GESTIÓN AMBIENTAL Y SU PROCESO EN LA DETERMINACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN OCASIONADA POR EMPRESAS MINERAS EN LA PROVINCIA MARISCAL NIETO, REGIÓN MOQUEGUA.	30,000.00
03	EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD EMPRENDEDORA DE LOS EGRESADOS DE LA CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL PARA LA APLICACIÓN DE UNA INCUBADORA DE NEGOCIOS AMBIENTALES SOSTENIBLES UNAM - ILO	29,988.00

INVESTIGACIÓN APLICADA DE ESTUDIANTES (APROBADOS PARA ADJUDICACIÓN)

N°	NOMBRE DEL PROYECTO	PRESUPUESTO S/.
01	EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS POBLACIONALES DE LESSONIA NIGRESCENS EN EL LITORAL MARINO DE LA REGIÓN MOQUEGUA.	5,000.00
02	AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE PHYTOPHTHORA CINNAMOMI RANDS EN EL CULTIVO DE PALTA VARIEDAD HASS Y FUERTE PARA MEJORAR SU PRODUCTIVIDAD EN LA REGIÓN MOQUEGUA.	5,000.00
03	CAPTURA Y ADAPTACIÓN A LA CAUTIVIDAD DE REPRODUCTORES DE CORVINA (CILUS GILBERTI) CON TRES DIETAS EN EL LITORAL MARINO DE ILO.	5,000.00
04	EFECTOS DE DENSIDAD DE SIEMBRA SOBRE EL CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA DE JUVENILES DE CORVINA (CILUS GILBERTI) EN SISTEMA DE CAUTIVERIO LITORAL MARINO DE ILO.	5,000.00
05	EVALUACIÓN DE UNA TÉCNICA DE ENSILADO PARA EL ALGA PARDA (LESSONIA TRABECULATA) Y OBSERVACIÓN DE SU CONSUMO POR PARTE DE ABALON ROJO (HALIOTIS RUFESCENS), EN LAS INSTALACIONES DE FONDEPES MORROSAMA	5,000.00

INVESTIGACIÓN APLICADA DE EGRESADOS (APROBADOS PARA ADJUDICACIÓN)

N°	NOMBRE DEL PROYECTO	PRESUPUESTO S/.
01	OPTIMIZACIÓN DEL CORTE DE COLA Y TIEMPO DE GUARDA PARA MEJORAR LA PRODUCTIVIDAD Y CALIDAD DEL PISCO DE UVA ITALIA (VITIS VINÍFERA L.) EN LA REGIÓN MOQUEGUA.	10,000.00
02	EL MORO MORO DE MOQUEGUA: DISTRIBUCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y PROCESOS CONSTRUCTIVOS.	10,000.00
03	INFLUENCIA DE UN SISTEMA GESTOR DEL CONOCIMIENTO PARA ELEVAR EL NIVEL DEL LOGRO DE LAS CAPACIDADES DE LOS ESTUDIANTES EN EL ÁREA DE COMUNICACIÓN INTEGRAL DEL 5TO GRADO DE EDUCACIÓN PRIMARIA DE LA INSTITUCIÓN EDUCATIVA FÉ Y ALEGRÍA, ILO 2014.	10,000.00

ARTÍCULO TERCERO.- ENCARGAR *a Vicepresidencia Académica, Vicepresidencia Administrativa, y demás dependencias en lo que les corresponde, disponer las medidas necesarias para el cumplimiento de la presente Resolución.*

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE.

DISTRIBUCIÓN:
Presidencia
VPAC
VPAD
Interesado
OTIN
Archivo (02)

UNIVERSIDAD NACIONAL MOQUEGUA
DRA. BENITA MARITZA CHOQUE QUISPE
PRESIDENTA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
Msc. Alcides Nicanor Sánchez Parra
SECRETARIO GENERAL