



Universidad Científica del Perú - UCP
*Registrado en el Asiento N° A00010 de la Partida N° 11000310, Personas Jurídicas de Iquitos,
Superintendencia de los Registros Públicos - SUNARP*

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA
PROGRAMA ACADÉMICO DE ECOLOGÍA

TESIS

**“AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROALGAS CON
POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO, LORETO 2021”.**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
ECOLOGÍA**

AUTORA: Bach. OLENKA ROHINE GARCIA IHUARAQUI

ASESORA: Blga. MARIANELA COBOS RUIZ. Dra.

CO – ASESOR: Lic. en Ecol. SEGUNDO LEVI ESTELA MORENO MSc.

Región Loreto, Perú

2024

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico al regalo más grande que Dios me pudo entregar, mi hija MAYUMI SHIRELL. La persona más importante de mi vida y la que me impulsa día a día para luchar y seguir adelante para este gran objetivo.

Por ella y para ella todo mi esfuerzo y dedicación.

OLENKA ROHINE GARCIA IHUARAQUI

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Científica del Perú, por brindarme el acceso a sus instalaciones; al Laboratorio de Biotecnología y Bioenergética, por permitirme el uso de materiales y equipos.

A mi asesora de tesis, la Blga. Marianela Cobos Ruiz Dra. y a mi Co-Asesor Lic. Ecol. Segundo Levi Estela Moreno MSc. por la confianza depositada en mí persona y brindarme los conocimientos necesarios para la realización de esta tesis.

Agradezco a mis compañeros y amigos del Laboratorio de Biotecnología y Bioenergética de la Universidad Científica del Perú por brindarme su apoyo para el término de mi tesis.

A mis padres Antonio y Rosa por sus consejos, su amor, dedicación y por el apoyo incondicional, cuyo esfuerzo hoy se ve logrado como recompensa en la culminación de mi carrera.



“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN DE LA UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL PERÚ - UCP

El presidente del Comité de Ética de la Universidad Científica del Perú - UCP

Hace constar que:

La Tesis titulada:

“AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROALGAS CON POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO, LORETO 2021”

De la alumna: **OLENKA ROHINE GARCIA IHUARAQUI**, de la Facultad de Ciencias e Ingeniería pasó satisfactoriamente la revisión por el Software Antiplagio, con un porcentaje de **18% de similitud**.

Se expide la presente, a solicitud de la parte interesada para los fines que estime conveniente.

San Juan, 24 de mayo del 2024.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Jorge L. Tapullima Flores', is written over a faint, circular stamp or watermark.

Mgr. Arq. Jorge L. Tapullima Flores
Presidente del Comité de Ética – UCP

UCP_Ecologia_2024_Tesis_OlenkaGarcia_V1

INFORME DE ORIGINALIDAD

18%

INDICE DE SIMILITUD

15%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

9%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

Submitted to Patricia Test Account

Trabajo del estudiante

1%

2

www.coursehero.com

Fuente de Internet

1%

3

Submitted to Universidad de Manizales

Trabajo del estudiante

1%

4

www.ual.es

Fuente de Internet

1%

5

revistas.unal.edu.co

Fuente de Internet

1%

6

www.quimica.es

Fuente de Internet

1%

7

ojs.ucp.edu.pe

Fuente de Internet

1%

8

pcient.uner.edu.ar

Fuente de Internet

1%

9

es.scribd.com

Fuente de Internet

1%



Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por **Turnitin**. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega:	Olenka Rohine Garcia Ihuaquai
Título del ejercicio:	Quick Submit
Título de la entrega:	UCP_Ecologia_2024_Tesis_OlenkaGarcia_V1
Nombre del archivo:	GARCIA_OLENKA_INFORME_FINAL_EJECUTADO.pdf
Tamaño del archivo:	588.02K
Total páginas:	30
Total de palabras:	6,466
Total de caracteres:	35,594
Fecha de entrega:	23-may.-2024 10:23p. m. (UTC+0700)
Identificador de la entrega...	2386467276



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

Con Resolución Decanal N° 550-2021-UCP-FCEI del 31 de agosto del 2021 y 201-2024-UCP-FCEI del 4 de marzo del 2024, la Facultad de Ciencias e Ingeniería de la Universidad Científica del Perú - UCP designa como Jurado Evaluador de la tesis a los señores:

- Ing. Carmen Patricia Cerdeña del Aguila, Dra. Presidente
- Dr. Alvaro Benjamin Tresierra Ayala. Miembro
- Blgo. Juan Díaz Alván, M.Sc. Miembro

Como Asesora de la Tesis, Dra. Marianela Cobos Ruiz y Coasesor Lic. Eco. Segundo Levi Estela Moreno, M.Sc.

En la ciudad de Iquitos, siendo las **10:00 am** del día **28 de junio de 2024**, supervisado por la Secretaria Académica del Programa de Ingeniería de Sistemas de Información de la Facultad de Ciencias e Ingeniería de la Universidad Científica del Perú, se constituyó el Jurado para escuchar la sustentación y defensa de la Tesis: **AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROALGAS CON POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO, LORETO 2021**

Presentado por la sustentante

GARCIA IHUARAQUI OLENKA ROHINE

Como requisito para optar el título Profesional de:

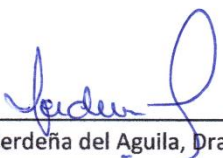
LICENCIADO EN ECOLOGÍA

Luego de escuchar la sustentación y formuladas las preguntas las que fueron: *Absueltos*


El Jurado después de la deliberación en privado llegó a la siguiente conclusión:

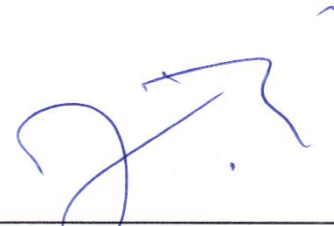
Que la sustentación es *Aprobada por Unanimidad*

En fe de lo cual los miembros del Jurado firman el acta.


Patricia Cerdeña del Aguila, Dra.

Presidente


Dr. Alvaro Benjamin Tresierra Ayala
Miembro


Blgo. Juan Diaz Alvan. M.Sc
Miembro



HOJA DE APROBACIÓN

**PROGRAMA ACADÉMICO DE ECOLOGÍA
TESISTAS: GARCIA IHUARAQUI OLENKA ROHINE**

Tesis sustentada en acto publico el 28 de junio de 2024, a las 10:00 am en las instalaciones de la UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL PERÚ.

**ING. CARMEN PATRICIA CÉRDEÑA DEL AGUILA
PRESIDENTE DE JURADO**

**DR. ALVARO BENJAMÍN TRESIERRA AYALA.
MIEMBRO DE JURADO**

**BLGO. JUAN DÍAZ ALVÁN, M.SC.
MIEMBRO DE JURADO**

**DRA. MARIANELA COBOS RUIZ
ASESOR**

**Lic.Eco. SEGUNDO LEVI ESTELA MORENO, M.Sc
CO ASESOR**

ÍNDICE DE CONTENIDO

Caratula	
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Hoja de aprobación	iv
Resumen	ix
Índice de contenido	v
Índice de tablas	vii
Índice de figuras	viii
Resumen	ix
Abstract	x
Capítulo I. Marco teórico	1
1.1. Antecedentes del estudio	3
1.2. Bases teóricas	4
1.3. Definición de términos básicos	7
Capítulo II. Planteamiento del problema	10
2.1. Descripción del problema	10
2.2. Formulación del problema	11
2.2.1. Problema general	11
2.2.2. Problemas específicos	11
2.3. Objetivos	11
2.3.1. Objetivo general	11
2.3.2. Objetivos específicos	11
2.4. Hipótesis	11
2.5. Variables	12
2.5.1. Identificación de las variables	12
2.5.1.1. Variable Dependiente	12
2.5.1.2. Variable Independiente	12

2.5.2. Definición conceptual y operacional de las variables	12
2.5.3. Operacionalización de las variables	13
Capítulo III. Metodología	14
3.1. Tipo y diseño de investigación	14
3.2. Población y muestra	14
3.2.1. Población	14
3.2.2. Muestra	14
3.3. Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos	14
3.3.1. Técnica de recolección de datos	14
3.3.2. Instrumento de recolección de datos	14
3.3.3. Procedimiento de recolección de datos	14
3.4. Procesamiento y análisis de datos	14
Capítulo IV. Resultados	20
Capítulo V. Discusión, Conclusiones y Recomendaciones	25
5.1. Discusión	25
5.2. conclusiones	27
5.3. Recomendaciones	28
Referencias bibliográficas	29
Anexos	34

ÍNDICE DE TABLAS

N°	TITULO	Pág.
01	Ubicación de lugares de colecta de muestras de agua	21
02	Microalgas identificadas en los diferentes tipos de Hábitats	22
03	Resultados de los análisis bioquímicos de las microalgas Aisladas	24

ÍNDICE DE FIGURAS

N°	TITULO	Pág.
01	Colecta de microalgas en diferentes tipos de hábitats	20
02	Métodos de aislamiento utilizados en la investigación	21
02	Microalgas aisladas de diferentes tipos de hábitats	23

RESUMEN

Las microalgas se han convertido en una fuente importante de materia prima para la producción de diversos productos de interés biotecnológico. Su capacidad de crecimiento y baja demanda de nutrientes lo convierten en un recurso muy valioso y atractivo. En esta investigación nos planteamos el siguiente objetivo: Aislar e identificar microalgas con potencial biotecnológico. Para ello, se realizó colecta de muestras en diferentes tipos de hábitats, como aguas estancada, charcos y reservorios. Se utilizó una red fitoplanctónica de 2 a 20 μm , para atrapar las microalgas; estas fueron cultivadas en medio BG11 hasta que presentaron densidades celulares superiores. El aislamiento se realizó por pipeteo, aislamiento por diluciones seriadas y aislamiento en placas con Agar. Los géneros identificados fueron *Scenedesmus* sp., *Chlamydomona* sp., *Pediastrum* sp. y *Pandorina* sp. La identificación se realizó por microscopía, observando las características morfológicas a 40 X. Se determinó la biomasa por diferencia de peso seco, y la extracción de lípidos totales se realizó mediante uso de solventes cloroformo: metanol (2:1). La extracción de proteínas se realizó mediante métodos colorimétricos, al igual que los polifenoles. Los resultados obtenidos muestran que *Scenedesmus* sp. presentó el más alto valor en producción de biomasa, lípidos y proteínas con valores por encima de 127 mg/L, 25 %, y 41 % respectivamente. La microalga que tuvo una mayor producción de polifenoles fue *Chlamydomonas* sp. con 5 %.

Palabras claves: Microalgas, biotecnología, aislamiento, biomasa microalgal.

ABSTRACT

Microalgae have become an important source of raw material for the production of various products of biotechnological interest. Their growth capacity and low nutrient demand make them a very valuable and attractive resource. In this research we set the following objective: To isolate and identify microalgae with biotechnological potential. For this purpose, samples were collected in different types of habitats, such as stagnant waters, pools and reservoirs. A phytoplanktonic net of 2 to 20 μm was used to trap the microalgae, which were cultured in BG11 medium until they presented higher cell densities. Isolation was performed by pipetting, isolation by serial dilutions and isolation on Agar plates. The genus identified were *Scenedesmus* sp., *Chlamydomona* sp., *Pediastrum* sp., *Pandorina* sp., and *Pandorina* sp. The identification was performed by microscopy, observing the morphological characteristics at 40 X. Biomass was determined by dry weight difference, total lipid extraction was performed using chloroform: methanol (2:1) solvents. Protein extraction was carried out by colorimetric methods as well as polyphenols.

The results obtained show that *Scenedesmus* sp. presented the highest value in biomass, lipid and protein production with values above 127 mg/L, 25%, and 41%, respectively. The microalgae with the highest polyphenol production was *Chlamydomonas* sp. with 5 %.

Key words: Microalgae, Biotechnology, Isolation, microalgal bioma

Capítulo I: Marco teórico

1.1 Antecedentes del estudio

La colecta, identificación y cultivo de microalgas son pasos fundamentales que se deben ejecutar adecuadamente en la búsqueda de especies promisorias que pueden convertirse en materia prima para desarrollar procesos biotecnológicos. En primer lugar, es necesario identificar los requerimientos nutricionales que estos microorganismos necesitan para desarrollar sus funciones vitales. Por ejemplo, estudios realizados sobre el cultivo de la microalga *Dunaliella salina* produjo muy buenos resultados, afirmando que esta especie crece satisfactoriamente en condiciones de cultivo seleccionadas de salinidad alrededor de 35 gL⁻¹, con un pH de 7,5 y con agitación continua, empleando el medio (F/2) modificado, logrando valores superiores 10⁴ mL⁻¹, (1). Pero la productividad en biomasa no es suficiente para conseguir un elevado contenido en lípidos, lo que sí se puede obtener con la microalga *Chlorella*, la cual por medio de agitación por aireación y un valor de pH inicial de 7,5. Las investigaciones nos muestran que se puede lograr inducir un factor de estrés en su crecimiento, lo que se traduce en una mayor producción de lípidos (2).

Existen diferentes métodos para el aislamiento de cepas puras o cultivos unialgales. Entre los más utilizados están el aislamiento con micropipetas, de diluciones seriadas, aislamiento en medio sólido (tanto por extensión en placas petri como por aspersión) y por fototropismo. Los métodos a utilizar dependen principalmente de las dimensiones de las microalgas, de su motilidad o no, así como de su carácter filamentoso o unicelular. Generalmente se logran los mejores resultados mediante una combinación de varios de estos métodos (3). Los diversos medios de cultivo, utilizados para el mantenimiento de las cepas microalgales, nos muestran resultados muy prometedores (4). Por ejemplo, cuando se realizó el estudio sobre el aislamiento, caracterización y potencial biotecnológico de microalgas nativas de la Amazonía peruana, lograron aislar especies como *Ankistrodesmus* sp., *Hematococcus pluviales*, *Scenedesmus* sp. y

Chlorella sp., los cuales mostraron propiedades que pueden ser utilizadas en la producción de biodiesel y nutraceuticos (5).

El aislamiento de la microalga *Ankistrodesmus falcatus*, proveniente de la laguna Boro II, en la región Lambayeque, utilizando el sistema Guillar, con la finalidad de ser utilizada con fines de biorremediación de malos olores de las aguas residuales. Obteniendo resultados de reducción de valores de 352 mg/L a 74,3 mg/L. Teniendo en cuenta que los valores máximos permisibles son 100 mg/L para efluentes de aguas residuales domésticas (6). La identificación morfológica y molecular de cepas microalgales aisladas de tres ríos de la amazonía peruana (Amazonas. Itaya y Nanay), y la determinación de los transcriptomas y perfiles bioquímicos mostraron que son aptas para fines biotecnológicos, como lo son: la producción de biodiesel, la biosíntesis de nutrientes para humanos y de compuestos promotores para la salud (7).

También, cuando se realizó bioprospección de microalgas autóctonas en una represa de embalse en Argentina, se logró aislar la especie *Chlorella* sp., el cual demostró excelente crecimiento y reportó dentro de su composición bioquímica elevados niveles de proteína (32,22 % p/p) y lípidos (35,05 % p/p), pero bajos niveles de carbohidratos (1,75 % p/p). Así mismo, se evidenció elevados niveles de carbohidrato (β -caroteno y la antoxantina), biomoléculas que pueden ser utilizadas en la industria cosmética (8).

Cuando se realizó un estudio sobre la variedad de microalgas presentes en diferentes hábitats lenticos en Indonesia, se encontró microalgas pertenecientes a 4 divisiones: Cyanophyta, Chlorophyta, Euglenophyta y Bacillariophyta. Entre las especies más representativas podemos mencionar a *Scenedesmus* sp., *Oedogonium* sp., *Microspora* sp., *Coleochaete* sp., *Closterium* sp., *Cymbella* sp., *Navicula* sp., *Pinnularia* sp., *Synedra* sp., *Euglena* sp., *Phacus* sp., *Trachelomonas* sp. Cabe mencionar que las microalgas se encontraron en un hábitat léntico muy afectado por factores físicos como la temperatura, el pH y la intensidad de la luz (9).

Uno de los aspectos importantes que presentan las microalgas es su contenido de lípidos, el mismo que puede ser controlado en función de las condiciones del medio de cultivo, como es el caso de la diatomea *C. calcitrans*, además ofrece las posibilidades de obtener subproductos (biopolímeros, pigmentos, biogás, antitoxinas, fármacos y nutracéuticos) de alto valor agregado, una vez extraída la fracción lipídica de la biomasa (10). Así mismo, la producción de nutrientes primarios con potencial para promover la salud humana, como son los aminoácidos esenciales, ácidos grasos (ácido eicosapentaenoico), compuestos fenólicos y actividad antioxidante, fueron encontrados en cepas nativas de la amazonía cuando se evaluó el potencial nutricional y promotor de la salud humana de compuestos biosintetizados por microalgas nativas de la amazonía peruana (11).

Las microalgas como las diatomeas *Actinocyclus normanii*, *Neodelphineis pelágica* y *Cyclotella glomerata* presentan tasas de crecimiento diferentes dependiendo del medio de cultivo. Pueden presentar crecimiento altamente significativo ($p < 0,05$) en F/2 comparado con el medio Conway (12). Así mismo, el uso de medio base Allen & Arnon en el cultivo de la especie *Scenedesmus obliquus*, aislada del embalse de Salto Grande en Argentina, con la finalidad de producir componentes bioactivos, dio como resultado para carotenoides totales $473,85 \pm 11,00$ mg β -caroteno/g ms; proteínas totales $7,09 \pm 0,23$ mg ASB/g ms y de fenoles totales, $16,78 \pm$ mg EAG/g ms, mientras en Costa Rica cuando evaluaron metabolitos secundarios en microalgas no encontraron diferencias significativas en sus resultados (13,14).

Aproximadamente el 90 % del peso seco de las microalgas se conforman de proteínas, carbohidrato y lípidos. Los porcentajes dentro de las células pueden variar dependiendo de las cepas, las condiciones del cultivo y el tipo de medios en las que se cultivan las microalgas. Se han reportado composiciones de las cepas de *Chlorella* como *Chlorella protothecoides* y *Chlorella sp.*, las cuales contienen entre 15,2% y 25,6%, carbohidrato 11% y 16,1% y lípidos 11,4% y 18,4% en peso seco. Además, la biomasa

obtenida de las microalgas suele contener lípidos, tales como los ácidos grasos libres, triglicéridos (TAG), fosfolípidos y glucolípidos que son materia prima para la producción de biodiesel (15).

Un aspecto fundamental en el cultivo de microalgas, es que son capaces de crecer en aguas residuales provenientes de industrias o de uso doméstico. Cultivos iniciados con un inóculo de $1,0 \times 10^6$ cel./mL de la microalga *Scenedesmus*, en tanques de asbesto, de 600 L de capacidad, conteniendo un volumen de 150 L de medio de cultivo y manteniéndose bajo condiciones de iluminación y fotoperiodo natural, y una temperatura que osciló entre los $30 \pm 4^\circ\text{C}$, con un máximo de 34°C en horas del mediodía (12:00am a 2:00pm). Tuvieron como resultados que el crecimiento de *Scenedesmus* sp. tanto en agua residual de pescadería, muestran un crecimiento exponencial, indicando la rápida adaptación de la microalga al medio residual en condiciones mixotróficas. De igual manera, la curva de crecimiento en ambos tratamientos son similares y en la fase estacionaria, toman valores de densidades celulares alcanzadas sin diferencia significativa ($p > 0,05$), de $8,05 \pm 0,55 \times 10^6$ cel/ml y $7,39 \pm 0,18 \times 10^6$ cel./mL comparando el cultivo con el agua residual de pescadería y el grupo control, respectivamente (16).

Los mayores retos en el desarrollo de procesos para la producción de biodiesel con microalgas consisten en seleccionar las mejores cepas y establecer estrategias de cultivo para que se logre el máximo posible de productividad de biomasa y de lípidos, a pesar de las condiciones de estrés fisiológico a los que son sometidos (17).

1.2 Bases teóricas

Generalidades de las microalgas

Las microalgas constituyen un grupo heterogéneo de microorganismos fotosintéticos unicelulares que comprenden organismos eucariotas y cianofíceas procariotas (cianobacterias). Se consideran un grupo de organismos versátiles en términos de tamaño, forma y función ecológica y

se localizan en hábitats diversos tales como aguas marinas, dulces, salobres, residuales o en el suelo, bajo un amplio rango de temperatura, pH y disponibilidad de nutrientes. De la misma manera que las plantas, ellas convierten la energía solar en energía química mediante la fotosíntesis (38).

Clasificación de las microalgas

Las clases más importantes de algas son: las algas verdes (Chlorophyta), las algas rojas (Rhodophyta) y las diatomeas (Bacillariophyta). Las algas pueden ser autótrofas o heterótrofas; las primeras requieren únicamente compuestos inorgánicos como el CO₂, sales y la luz como fuente de energía para el crecimiento, mientras las segundas son heterótrofas por lo que requieren una fuente externa de compuestos orgánicos, así como de nutrientes como fuente de energía. Algunas algas fotosintéticas son mixotróficas, es decir, tienen la capacidad tanto de realizar la fotosíntesis como de utilizar nutrientes exógenos orgánicos. Para las algas autótrofas, la fotosíntesis es un componente clave de supervivencia, porque convierte la radiación solar y el CO₂ absorbido por los cloroplastos en adenosin trifosfato (ATP) y O₂, utilizable a nivel celular para la respiración y para producir energía en sus actividades de crecimiento (39).

Ciclo de vida de las microalgas

Las microalgas durante el día respiran (consume O₂ y libera CO₂ como producto) y realizan la fotosíntesis, captando la luz solar, consumiendo CO₂ que utiliza para producir energía y liberando O₂ en el proceso. Durante la noche, el alga respira y no hace fotosíntesis, por lo que necesita O₂ (que ha producido durante el día) y libera CO₂ (que consumirá durante el día con la fotosíntesis) (18). Como consecuencia, una vez iniciado el cultivo, estas algas pueden automantenerse en un sistema cerrado donde únicamente se deben controlar factores ambientales como temperatura o pH (19).

Importancia de las microalgas

Las microalgas contribuyen a la sostenibilidad del planeta, principalmente transformando el CO₂ en O₂. Son los principales productores de biomasa

para los sistemas acuáticos, por lo que sustentan la vida en la Tierra. Además, actualmente se utilizan microalgas para la producción de abono para agricultura, el tratamiento de aguas residuales, producción de alimentos para humanos y animales, productos cosméticos y para la salud, etc. (20).

Técnicas de aislamiento de las microalgas

Las técnicas de aislamiento de las microalgas tienen como objetivo obtener una población de microalgas partiendo de un solo individuo o clon (células, filamentos, colonias y/o quistes), logrando cultivos monoalgales o unialgales (cultivos con una sola especie de microalga). El método de aislamiento a usar depende de las dimensiones de la microalga, de su movilidad y su morfología, no obstante, es recomendable combinar los diferentes métodos. Los métodos de aislamiento más utilizados son: el aislamiento con micropipeta, el aislamiento en placas de agar y el aislamiento con diluciones seriadas (21).

Cultivo de microalgas

Existen dos diseños básicos para el cultivo de microalgas; los cultivos en sistemas abiertos y los cultivos en sistemas cerrados. En el primero los microorganismos están expuestos a las condiciones ambientales, mientras que en los sistemas cerrados existe un mayor control de las condiciones de cultivo. El uso de cualquiera de estos sistemas depende mucho de la biología de las especies a cultivar; las formas de cultivo, requerimientos nutricionales, aspectos lumínicos y resistencia al estrés (22).

Biotecnología de microalgas

Las microalgas son un recurso muy valioso, ya que ellos, además de brindarnos servicios ecosistémicos, pueden ser utilizados como plataformas para obtener diversos productos biotecnológicos. De las microalgas se pueden obtener proteínas, lípidos, vitaminas y metabolitos secundarios de alto interés comercial, como la producción de alimentos y piensos, productos para la cosmeceútica, la elaboración de biomateriales,

productos relacionados con la agricultura, biocombustibles y la prestación de servicios como el tratamiento de aguas residuales y la limpieza de gases industriales (23). Aproximadamente, la producción de microalgas se calcula en 20 kt/año, el cual es utilizado principalmente en productos alimentarios y en insumos para la elaboración de piensos. En el mercado mundial, el precio fluctúa entre 15 y 25 € / kg en promedio (24). Una de las aplicaciones más modernas de las microalgas es que puede ser utilizado también como productos químicos intermediarios para el sector petroquímico, bioplásticos, bioqueroseno y diversos compuestos bioactivos (25).

1.3 Definición de términos básicos

Microalgas

Las microalgas son aquellos microorganismos que contienen clorofila-A y/u otros pigmentos similares, que les permiten realizar fotosíntesis oxigénica. En este contexto, las cianobacterias o algas verde-azules, procariotas, se han considerado tradicionalmente dentro del grupo de las microalgas. Asimismo, según esta definición, quedan excluidas las bacterias fotosintéticas, ya que no contienen clorofila-A y realizan fotosíntesis anoxigénica (4).

Aislamiento

Proceso que consiste en la extracción de un microorganismo de su hábitat natural, mediante técnicas o procedimientos estandarizados con la finalidad de realizar investigaciones, Tiene como finalidad conseguir una población de microalgas, partiendo de una única célula. Las técnicas de aislamiento a utilizar dependen de las características funcionales de cada especie microalgal (21).

Medios de cultivo

Es una técnica de laboratorio que puede ser de forma sólida o en una solución que contiene nutrientes necesarios para permitir, en condiciones favorables de pH y temperatura, el crecimiento de microorganismos como las microalgas. El medio de cultivo depende del tipo de microalga que se

va a cultivar, teniendo en cuenta factores como el pH, dureza, salinidad del agua, etc. (21).

Biotechnología

Es el conjunto de técnicas, procesos y métodos en donde se utilizan organismos vivos, como las bacterias, hongos y virus, partes de ellos o sistemas biológicos derivados de los mismos. Actualmente, las microalgas vienen siendo utilizadas en la producción de alimento humano y animal, productos cosméticos y de la salud, biocombustibles, bioproductos y en la remoción de contaminantes de aguas residuales y desechos industriales (26).

Hábitat

Un hábitat es el lugar que reúne las condiciones apropiadas para que viva un organismo, especie o comunidad animal o vegetal; más concretamente, es la colección de recursos y condiciones necesarias para su ocupación en un espacio y tiempo dado (27).

Fotosíntesis

La fotosíntesis es la conversión de materia inorgánica a materia orgánica gracias a la energía que aporta la luz del sol. En todas las clases de microalgas, la fotosíntesis es similar en principio a la de las plantas terrestres, que tienen lugar en los cloroplastos y requieren de los pigmentos para cosechar y utilizar la energía luminosa disponible (28).

Charcos

Agua, u otro líquido, detenida en un hoyo o cavidad de la tierra o del piso; es un pequeño cuerpo de agua, pero no es suficiente como para conformar un lago. Su formación se puede deber a depresiones en el suelo, ya sea de manera natural o artificial. El agua de los charcos también es conocida por ser el hábitat de muchos microorganismos (29).

Sustrato

Se denomina sustrato a una superficie en la que vive un microorganismo, planta o animal, la cual puede estar compuesta por materiales bióticos o abióticos, orgánicos o minerales (30).

Lípidos

Los lípidos son un conjunto de moléculas orgánicas constituidas principalmente por átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno (en menor medida), y otros elementos como nitrógeno, fósforo y azufre. Los lípidos son moléculas hidrófobas (insolubles en agua), pero son solubles en disolventes orgánicos no polares, como bencina, benceno y cloroformo (31).

Polifenoles

Son un grupo de sustancias químicas que se encuentran en plantas y caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula. Los polifenoles son generalmente subdivididos en taninos hidrolizables, que son ésteres de ácido gálico de glucosa y otros azúcares; y fenilpropanoides, como la lignina, flavonoides y taninos condensados (32).

Proteínas

Las proteínas son biomoléculas compuestas en su mayoría por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Dependiendo del tipo de proteína pueden contener azufre, fósforo, hierro y cobre entre otros elementos. Están compuestas por aminoácidos que son moléculas en donde un grupo amino (NH_2) y un grupo carboxilo ($-\text{COOH}$) se unen a un carbono que ocupa sus dos valencias restantes a un hidrógeno (33).

Reservorios

Depósitos o estanques de agua, que permiten el crecimiento de algunos microorganismos, entre ellos las microalgas (34).

Capítulo II: Planteamiento del problema.

2.1 Descripción del problema

En la actualidad, las microalgas han tomado mucha importancia, debido a que la biomasa puede ser empleada en diversas aplicaciones biotecnológicas (35), siendo utilizadas en la producción de alimentos, tanto para consumo humano (36) y piensos para los animales (37), productos farmacéuticos (38), compuestos orgánicos y los biocombustibles (39). El estudio de estos microorganismos es de mucha relevancia, ya que existen problemas ambientales que pueden ser resueltos por el bajo consumo energético que representa el cultivo de estos organismos microscópicos (40).

Por tanto, es imperioso disponer de fuentes alternativas con potencial biotecnológico. Una opción es el uso de microalgas dulceacuícolas, por su alta eficiencia fotobiosintética de triglicéridos (41); presentan productividades mayores de 10 a 100 veces que los cultivos convencionales (42), actúan como sumideros de CO₂ (43) y pueden usar aguas servidas para producir biodiesel (44). Pero aún existen varios obstáculos tecnológicos y económicos que deben solucionarse y uno de los mayores retos es el aislamiento, selección, identificación y cultivo de microalgas robustas que presenten óptimo contenido de triglicéridos (45), muestren altas tasas de crecimiento y no sean propensas a la contaminación por bacterias y hongos y que puedan ser utilizadas en aplicaciones biotecnológicas (46). Sin embargo, los estudios con microalgas de agua dulce solamente se han limitado a identificarlas morfológicamente. Por tanto, en esta investigación se propone realizar una búsqueda exhaustiva en reservorios, charcos, agua estancada y sustratos para aislar e identificar microalgas que presenten potencial biotecnológico. Por lo que tanto, nos planteamos la siguiente interrogante: ¿Es posible aislar e identificar microalgas con potencial biotecnológico?

2.2 Formulación del problema

2.2.1 Problema general

¿Es posible aislar e identificar microalgas con potencial biotecnológico?

2.2 Problemas específicos

¿Es factible coleccionar y aislar microalgas con potencial biotecnológico provenientes de distintos tipos de hábitats: reservorios, charcos, agua estancada y sustratos?

¿Qué géneros de microalgas con potencial biotecnológico se encuentran en cada tipo de hábitats, reservorios, charcos, agua estancada y sustratos?

¿Cuál es la producción de biomasa, el contenido de lípidos totales, proteínas y polifenoles de las microalgas aisladas?

2.3 Objetivos.

2.3.1 Objetivo general.

Aislar e identificar microalgas con potencial biotecnológico.

2.3.2 Objetivos específicos.

Colectar y aislar microalgas provenientes de distintos tipos de hábitats: reservorios, charcos, agua estancada y sustratos, que presenten potencial biotecnológico.

Identificar géneros de microalgas encontradas en cada tipo de hábitats: reservorios, charcos, agua estancada y sustratos.

Determinar la producción de biomasa, contenido de lípidos totales, proteínas totales y polifenoles de las microalgas aisladas.

2.4. Hipótesis

Existen géneros de microalgas con potencial biotecnológico que se encuentran en diferentes tipos de hábitats.

2.5. Variables

2.5.1 Identificación de las variables

2.5.1.1 Variable dependiente

Diversos tipos de hábitats

2.5.1.2 Variable independiente

Microalgas con potencial biotecnológico

2.5.2 Definición conceptual y operacional de las variables

- **Variable dependiente**

Variedad de hábitats

Son todos aquellos ambientes en los cuales se colectaron las muestras de agua y de donde se aislaron las células microalgales.

- **Variable Independiente**

Microalgas con potencial biotecnológico

Son aquellas microalgas que presentaron características funcionales que pueden ser aprovechadas en diversos procesos biotecnológicos.

2.5.3 Operacionalización de las variables

Variables	Indicador	Índices	Instrumento
Independientes (X)			
Microalgas con potencial biotecnológico	<ul style="list-style-type: none"> - Densidad de cultivo microalgal. - Producción de biomasa. - Géneros de microalgas identificadas. - Contenido de lípidos totales - Producción proteínas y polifenoles 	Microalgas que presentan características de interés comercial	Microscopio de luz invertida Leica, DMI1.
Dependiente (Y)			
Variedad de hábitats	<ul style="list-style-type: none"> - Reservorios. - Charcos. - Agua estancada. - Sustratos. 	Células microalgales aisladas	<ul style="list-style-type: none"> - Redes fitoplanctónica - pHmetro - Agitador magnético

Capítulo III. Metodología

3.1. Tipo y diseño de investigación

La presente investigación fue de tipo cuantitativo observacional descriptivo, porque nos permitió aislar e identificar las microalgas de acuerdo a las variables planteadas.

El diseño fue de carácter descriptivo, en el que se describieron las características morfológicas de las microalgas.

3.2. Población y muestra

3.3.1 Población:

Estuvo conformada por todas las microalgas que se desarrollan en los puntos de colecta establecidos.

3.3.2 Muestra

Estuvo constituida por las microalgas colectadas de los puntos de muestreos establecidos.

3.3 Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos

3.3.1 Técnicas de recolección de datos

Para la colecta se utilizó la técnica de arrastre con red fitoplanctónica, con un diámetro de malla de 2 a 20 μm (47). La colecta se realizó preferentemente durante el día cuando no se presentaban climas lluviosos.

El aislamiento, se realizó mediante la observación directa, el cual consistió en el uso de diversas técnicas, entre ellas: aislamiento con pipeta, aislamiento con diluciones seriadas y aislamiento con placas con agar. Para la identificación se realizó por microcopia y para la caracterización bioquímica se determinó la concentración de lípidos totales (48), proteínas (49) y polifenoles (50).

3.3.2 Instrumentos de recolección de datos

Los instrumentos de recolección de datos que se utilizaron, fueron los siguientes:

- a) Fichas o guías de observación: Se utilizaron para registrar la información obtenida del crecimiento de las microalgas aisladas.
- b) Red fitoplanctónica de 2 a 20 μm de diámetro: se utilizó para atrapar las microalgas.
- c) Microscopio de luz invertida (Leica, DMi1), centrífuga temperada (Hettich Universal 320R), estufa (Ecocell LSI-B2V/EC55). Se utilizó para obtener los datos directos de aislamiento, cosecha, etc.

3.3.3 Procedimiento de recolección de datos

a) Colecta de microalgas

Las microalgas fueron colectadas como muestras de agua superficial (47). Se tomó un volumen de 100 mL de la muestra de cada uno de los diferentes sitios de colecta (reservorios, charcos, agua estancada y sustratos). Las muestras fueron almacenadas en frascos transparentes estériles y transportadas al laboratorio. Luego, las microalgas fueron concentradas, lavadas y enriquecidas en medio de cultivo BG-11. Después, 100 μL del cultivo fue transferido y distribuido homogéneamente en placas de Petri con agar + medio BG-11 e incubadas de 1 a 2 semanas (hasta observar colonias verdes). Luego, una fracción de cada colonia fue analizada por microscopía en un microscopio de luz invertida (Leica, DMi1), para caracterizar morfológicamente las microalgas, utilizando claves taxonómicas. Las colonias de interés fueron sembradas en frascos Erlenmeyer con 100 mL de medio BG-11 e incubadas por 2 a 3 semanas en agitación horizontal (120 rpm) bajo las condiciones de cultivo. Después, 3 a 4 alícuotas de un mililitro del cultivo fueron criopreservadas (21).

b) Aislamiento con pipeta

Este método se llevó a cabo para separar microalgas con tamaños mayores a 10 μm de diámetro, los cuales presentaban formas de quistes, células vegetativas, dinoflagelados, formas coloniales o filamentosas (21). Este método consistió en aislar una sola célula microalgal con la ayuda de una pipeta Pasteur con punta reducida y/o con un capilar. Se colocó una gota de la muestra en un portaobjeto y se observó bajo el microscopio, donde las células de interés fueron succionadas por capilaridad con la pipeta: seguidamente se pasó a un portaobjetos limpio con una gota de agua estéril. Este procedimiento se repitió, “lavando” la célula en medio o en agua estéril hasta cuando no se observaron contaminantes y la gota contenía un solo tipo de célula. Se requirieron cinco transferencias sucesivas. Una vez realizadas las transferencias, las células aisladas se colocaron en tubos de ensayo con 2 mL de medio de cultivo, para lograr su crecimiento.

c) Aislamiento con diluciones seriadas.

Se utilizaron células microalgales abundantes que medían menos de 10 μm de diámetro. Para ello se tomó 1 mL de la muestra original y se agregó a un tubo de ensayo, el cual contenía 9 mL de medio de cultivo estéril, se homogenizó y se agregó 1 mL a un segundo tubo con 9 mL de medio, se homogenizó y así sucesivamente se realizó hasta cinco repeticiones. Seguidamente, los tubos fueron colocados en incubación bajo condiciones de laboratorio y después de siete días, se observó utilizando un microscopio de luz invertida a 40 X. Este proceso se realizó hasta que se obtuvieron cultivos unialgales.

d) Aislamiento en placas con Agar

Esta técnica se utilizó para purificar cultivos contaminados con otros microorganismos. Se preparó medio de cultivo al cual se le agregó agar (15 g de agar por L de medio de cultivo), y se esterilizó en autoclave (51). Seguidamente, se atemperó, y antes de que solidifique, se vació

en placa Petri estéril. Todo este trabajo se realizó dentro de la cabina de flujo laminar, para evitar contaminación.

Se dejó enfriar por 1 hora aproximadamente y seguidamente, se realizó la siembra, la cual consistió en tomar una muestra (50 µL) de la microalga a inocular, y con la ayuda de un asa de siembra bacteriológico, se sembró por medio de barrido en forma de rayado dentro del medio de la placa Petri. La caja se cubrió con su tapa, se invirtió y se colocó en un ambiente con temperatura y luz controladas, se incubó durante una semana y posteriormente se observó al microscopio y con la ayuda del asa se seleccionaron las colonias libres de otros microorganismos, y se transfirió a otra placa Petri. El proceso se desarrolló bajo un estricto control de higiene y en un medio estéril. Esta actividad se realizó varias veces, hasta obtener las colonias unialgales (13).

e) Identificación de los géneros microalgales

Para la identificación de las microalgas se utilizó el microscopio de luz invertida (Leica, DMi1) y una guía de identificación taxonómica e iconográfica, el cual nos permitió guiarnos y por las características morfológicas observables, se pudo identificar a qué género pertenece. Para la observación microscópica, se utilizó el objetivo de 40 X (52).

f) Determinación de la producción de biomasa

La producción de biomasa se determinó por diferencia de peso de la placa de Petri con y sin biomasa seca. La tasa de crecimiento microalgal, se evaluó utilizando la técnica utilizada por Guillard 1975 (53), la cual consistió en evaluar por medio de conteo directo usando una cámara Neubauer, anotándose los datos en fichas de registros, los cuales luego fueron calculados mediante la siguiente fórmula:

$$\mu = \frac{\log_2(N_1/N_0)}{t_1 - t_0}$$

N_1 =número de células o densidad óptica al tiempo final

N_0 =número de células o densidad óptica al tiempo inicial

T_1 =tiempo final

T_0 =tiempo inicial.

g) Cosecha de la biomasa microalgal

Seguido de los 7 días de evaluación, se cosechó las microalgas como se indicó previamente: la biomasa obtenida fue secada a 50 °C por 24 horas (54).

h) Extracción y análisis de lípidos totales.

La extracción de lípidos totales se realizó según Flores *et al.*, (48). El cual consistió en pesar 25 mg de biomasa liofilizada y se extrajeron los lípidos con 3 mL de la mezcla de solventes cloroformo-metanol (1:1). Este proceso se realizó dos veces. Para mejorar la extracción se utilizó un baño de ultrasonido (Branson, 2510) con hielo, a una temperatura de 4 °C, por 30 min. Luego, se añadió 2,1 mL de cloruro de potasio 0,88% (w/v) al extracto. La fase orgánica fue separada y evaporada con nitrógeno gaseoso para obtener el extracto seco de lípidos. Los extractos se almacenaron en vacío y oscuridad durante 14 h y luego se pesaron.

i) Extracción de proteínas.

La extracción de proteínas se realizó según el método de Lowry modificado por Hartree (49), el cual consistió en pesar 5 mg de biomasa liofilizada, al cual se hidrolizó con 5 mL de hidróxido de sodio NaOH 0,5 N a una temperatura de 75 °C durante 60 min. Luego se tomó una alícuota de 500 μ L de la solución y se adicionó 0,9 mL de reactivo A (hidróxido de sodio 0,5 N, carbonato de sodio anhidro 10 % y tartrato de sodio y potasio tetrahidratado 0,2 %), seguido de una incubación a 50 °C durante 10 minutos, seguidamente se adicionó 0,1 mL de reactivo B (hidróxido de sodio 0,1 N, sulfato de cobre pentahidratado 1 % y

tartrato de sodio y potasio tetrahidratado 2 %) y finalmente se añadió 3 mL de reactivo C (reactivo fenol según Folin-Ciocalteu: Agua 2:15 v/v). Las absorbancias se midieron a una longitud de onda de 650 nm en el espectrofotómetro (UV Varian Cary 50 Bio) y se cuantificó el contenido de proteínas usando una curva de calibración con Albúmina Suero Bovino 300 µg/mL.

j) Análisis de polifenoles totales

El análisis de polifenoles se realizó según Singleton *et al.*, (50), el cual consistió en pesar 50 mg de biomasa liofilizada y se extrajeron de manera secuencial los polifenoles con 6 mL de acetona 100% y 6 mL de agua ultrapura respectivamente. La fase de acetona se evaporó y resuspendió con etanol absoluto. Se separó una alícuota de 200 µL de cada fracción (orgánica y acuosa) y se añadió 1 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10). Luego de 5 min se añadió 800 µL de solución saturada Na₂CO₃ (75 g/L) y se dejó reposar por 2 horas a temperatura ambiente en oscuridad. Las absorbancias se midieron a una longitud de onda de 765 nm en un espectrofotómetro (UV Varian Cary 50 Bio) y la cuantificación de los polifenoles se realizó mediante una curva de calibración con ácido gálico (AG). El contenido total de polifenoles se reportó como la suma de la fracción orgánica y acuosa.

3.4 Procesamiento y análisis de datos

Para determinar si existen diferencias significativas de la densidad de microalgas, se utilizó el ANOVA con prueba HSD de Tukey. Los análisis estadísticos mencionados se realizaron con el programa PASW Statistical v 20 y los gráficos fueron diseñados en el programa Excel de Microsoft office.

Capítulo IV. Resultados

4.1. Colecta y aislamiento de microalgas con potencial biotecnológico

La colecta de las muestras se llevó a cabo en reservorios, aguas estancadas y charcos. Los lugares fueron seleccionados de acuerdo a las características y condiciones en donde se desarrollan las microalgas (ver figura 1).



Figura 1. Colecta de microalgas en diferentes tipos de hábitats (A: Reservorios de agua, B: Charcos; C: Agua estancada; D: Charcos de agua).

Una vez realizada la colecta, las muestras fueron selladas herméticamente y transportadas al Laboratorio para ser enriquecidas con medios de cultivo y puestas en condiciones de agitación constante durante siete días, con la finalidad de que las células microalgales puedan desarrollarse.

Tabla 1. Ubicación de lugares de colecta de muestras de agua

Lugar de colecta	Tipo de hábitat	COORDENADAS N	UTM E
Cementerio General	Agua estancada	9584642.50	471623.70
Cementerio General	Reservorios	9584581.10	471623.69
Parte baja, del Boulevard de Iquitos	Charcos	9585248.50	695488.80

El aislamiento de las microalgas se llevó a cabo utilizando distintos métodos: por capilaridad, cultivos líquidos y sólidos en placas de Petri, como se muestra en la figura 2.



Figura 2. Métodos de aislamiento de microalgas utilizados en el desarrollo de la investigación

4.2. Identificación de géneros microalgales encontradas en cada tipo de hábitat.

Los géneros microalgales que se colectaron fueron *Chlamydomonas* sp., *Pediastrum* sp., *Scenedesmus* sp., *Pandorina* sp., logrando obtener cultivos superiores a 1L en condiciones líquidas y cultivos sólidos en placas petri con agar, utilizando medio BG11 como sustrato. (Ver tabla 2)

Tabla 2. Microalgas identificadas en los diferentes tipos de hábitats

Hábitat de colecta	Microalga identificada
Reservorios	<i>Chlamydomonas</i> sp.
	<i>Pediastrum</i> sp.
	<i>Scenedesmus</i> sp.
Charcos	<i>Pediastrum</i> sp.
	<i>Chlamydomonas</i> sp.
	<i>Scenedesmus</i> sp.
Agua estancada	<i>Scenedesmus</i> sp.
	<i>Pandorina</i> sp.
	<i>Pediastrum</i> sp.

Las microalgas fueron identificadas utilizando un microscopio de luz invertida a 40 X y teniendo como guía tablas taxonómicas para la comparación morfológica de cada una de las células. (Ver figura 3).

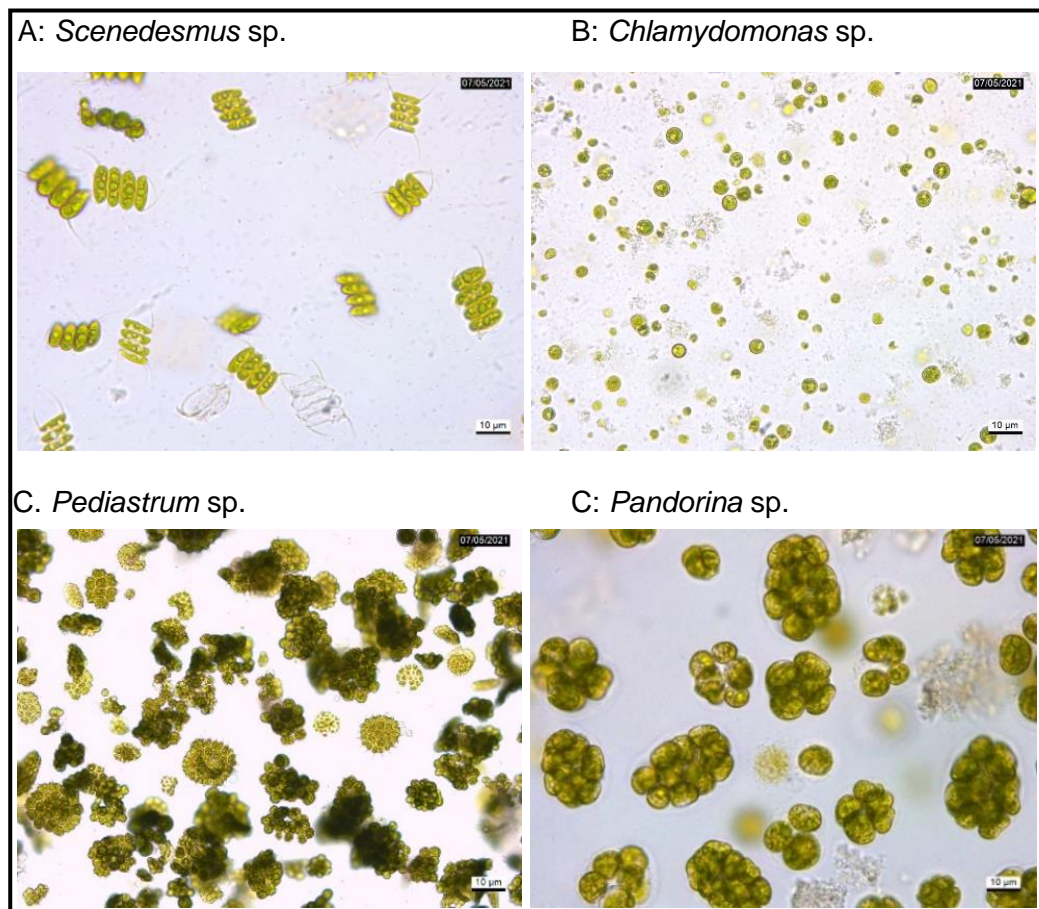


Figura 3. Microalgas aisladas (A: *Scenedesmus sp.*; B: *Chlamydomona sp.*; C: *Pediastrum sp.*; D: *Pandorina sp.*)

4.3. Determinación de la producción de biomasa, contenido de lípidos totales, proteínas y polifenoles de microalgas.

Los análisis bioquímicos realizados nos muestran que la producción de biomasa fue menor en *Pandorina sp.* con una producción de 65 ± 1 mg/L, mientras que *Scenedesmus sp.* tuvo la más alta producción con 127 ± 3 mg/L. La producción de lípidos tuvo una mayor producción en la microalga *Scenedesmus sp.*, mostrando valores superiores a $25,94 \pm 0,85$ %, mientras que *Pediastrum sp.* mostró el valor más bajo con $6,80 \pm$ %. (Ver tabla 3).

Tabla 3: Resultados de los análisis bioquímicos de las microalgas aisladas

Microalga	Biomasa en peso seco (mg/L)	Lípidos (%)	Proteínas nm.	Polifenoles (Ácido gálico)
<i>Scenedesmus</i> sp.	127 ± 3	25,94 ± 0,85	41,76 ± 0,30	4,76 ± 0,76
<i>Chlamydomonas</i> sp.	86 ± 0	21,40 ± 0,33	38,51 ± 0,64	5,07 ± 0,04
<i>Pediastrum</i> sp.	75 ± 5	6,80 ± 1,01	35,53 ± 0,39	2,01 ± 06
<i>Pandorina</i> sp.	65 ± 1	15,23 ± 0.21	39,03 ± 0,20	4,63 ± 0,41

En el caso de la producción de proteínas, la menor producción presentó la microalga *Pediastrum* sp. con un 35,53 ± 0,39 %, mientras que *Scenedesmus* sp. obtuvo un valor de 41,76 ± 0,30 %, siendo esta la producción más alta. Con respecto a la producción de polifenoles, la mayor producción fue alcanzada por *Chlamydomonas* sp. con 5,07 ± 0,04 %, mientras que *Pediastrum* sp, solo un valor de 2,01 ± 06 %.

Capítulo V: Discusiones, conclusiones y recomendaciones

5.1. Discusiones

Las microalgas se han convertido en la actualidad en una importante fuente de materias primas que pueden ser utilizadas en diferentes procesos biotecnológicos. El primer paso en este proceso es la obtención de cepas microalgales. Este proceso inicia con la colecta y posterior aislamiento de las microalgas. En este sentido, en esta investigación, los lugares de colecta que utilizamos, fueron reservorios, aguas estancadas y charcos, y el aislamiento se realizó mediante métodos de capilaridad y aislamiento en placas petri.

Colecta y aislamiento de microalgas con potencial biotecnológico provenientes de distintos tipos de hábitats

Con respecto a la colecta y aislamiento de las microalgas con potencial tecnológico, nuestros resultados son similares a los reportados por Cobos *et al.*, en el 2019 (5), quienes realizaron colectas de muestras provenientes de ríos y lagos de la Amazonía peruana. De igual forma lo reporta Aguirre Tocas (6), en su tesis de grado, cuando realizó la colecta de aguas en la laguna Boro en la región Lambayeque. Así mismo, la bioprospección de microalgas realizada en una represa de embalse en Argentina dio como resultado el aislamiento de una microalga promisorio para su uso en biotecnología (8).

Identificación de géneros microalgales encontradas en cada tipo de hábitat.

Los géneros microalgales encontradas en cada tipo de hábitats estudiados, fueron; *Chlamydomonas* sp., *Pediastrum* sp., *Scenedesmus* sp, *Pandorina* sp. Estos resultados difieren en su gran mayoría a lo reportado por Cobos *et al.*, (5), los cuales encontraron *Ankistrodesmus* sp., *Hematococcus pluviales* y *Chlorella* sp., concordando solo el género *Scenedesmus* sp., de igual forma con investigaciones realizadas por Amintarti *et al.*, (9), quienes

también reportaron géneros distintas coincidiendo solamente con *Scenedesmus* sp.

Determinación de la producción de biomasa, contenido de lípidos totales, proteínas y polifenoles de microalgas.

Con respecto a la producción de biomasa, contenido de lípidos totales, proteínas y polifenoles de microalga, los resultados nos muestran que el género *Scenedesmus* sp. presentó el más alto valor en producción de biomasa, lípidos y proteínas con valores por encima de 127 mg/L, 25 % y 41 % respectivamente. Para los polifenoles fue *Chlamydomona* sp. el que mostró valores por encima de 5 %. Estos resultados son diferentes a los reportados por Cobos *et al.* (5,11), quienes encontraron que *Ankistrodesmus* sp. con (39,5%) era la que presentaba un mayor contenido de lípidos y *Chlorella* sp. mostró la mayor producción de proteínas (31.2%). De igual forma fueron los resultados encontrados por Zapata en el 2022 *et al.*,(13) quienes reportaron que *Scenedesmus obliquus* fue la que presentó mayor cantidad de proteínas con valores de $7,09 \pm 0,23$ mg ASB/g. Así mismo, Sánchez (14), en su trabajo de obtención de grado; Búsqueda de mayor producción de metabolitos secundarios en el co-cultivo de microalgas dulceacuícolas *Chlorella sorokiniana* y *Desmodesmus communis*, reportó que no encontró diferencias significativas en sus resultados.

5.2. Conclusiones

Las microalgas con potencial biotecnológico pueden ser aisladas de diferentes tipos de hábitats, tales como reservorios, charcos, agua estancada, etc.

Durante el proceso de identificación microscópica de las microalgas se logró encontrar cuatro géneros distintos, las cuales pueden ser cultivadas en diferentes medios “de cultivo” que pueden ser sólidos o líquidos.

Las microalgas identificadas muestran valores aceptables de producción de biomasa, contenido de lípidos totales y polifenoles, las cuales pueden ser utilizadas en procesos biotecnológicos como son la producción de piensos para animales de granja, producción de biodiesel y producción de suplementos antioxidantes para el ser humano.

5.3. Recomendaciones

No descartar ningún lugar de colecta, donde crea sea posible, puedan desarrollarse las microalgas, porque son capaces de desarrollarse en diversos lugares.

Si es posible, se pueden utilizar antibióticos o antifúngicos, con la finalidad de lograr obtener cultivos axénicos que nos permitan realizar análisis con mejores resultados.

Se recomienda realizar investigaciones similares con la finalidad de lograr identificar géneros microalgales que presenten potencial biotecnológico y puedan ser utilizadas en la bioindustria.

Bibliografía

1. Colusse GA, Mendes CRB, Duarte MER, Carvalho JC de, Noseda MD. Effects of different culture media on physiological features and laboratory scale production cost of *Dunaliella salina*. *Biotechnol Rep Amst Neth*. septiembre de 2020;27:e00508.
2. Tejeda-Benítez L, Henao-Argumedo D, Alvear-Alayón M, Castillo-Saldarriaga CR. Caracterización y perfil lipídico de aceites de microalgas. *Rev Fac Ing*. 5 de mayo de 2015;24(39):43.
3. Spilling K. Basic Methods for Isolating and Culturing Microalgae. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2020;1980:35-9.
4. Galanakis CM, editor. *Microalgae: cultivation, recovery of compounds and applications*. London San Diego Cambridge Oxford: Academic Press; 2021. 441 p.
5. Cobos M, Castro JC, Paredes JD, Pérez S, Maddox JD, Estela SL, et al. Isolation, Characterization, and Biotechnological Potential of Native Microalgae From the Peruvian Amazon. En: *Microalgae - From Physiology to Application* [Internet]. IntechOpen; 2019 [citado 6 de septiembre de 2023]. Disponible en: <https://www.intechopen.com/chapters/69695>
6. Aguirre Tocas R del P. Aislamiento, cultivo de la microalga *Ankistrodesmus falcatus* y biorremediación de los malos olores de las aguas residuales del dren 3100 Chiclayo – Pimentel, del departamento de Lambayeque, enero - agosto de 2017 [Internet]. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2019 [citado 8 de septiembre de 2023]. Disponible en: <http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/6040>
7. Castro JC, Cobos M. Chapter 15 - Biochemical profiling, transcriptomic analysis, and biotechnological potential of native microalgae from the Peruvian Amazon. En: Ahmad A, Banat F, Taher H, editores. *Algal Biotechnology* [Internet]. Elsevier; 2022 [citado 19 de octubre de 2023]. p. 305-21. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323904766000066>
8. Maldonado GE, Sgariglia MA, Soberon JR. Bioprospección de microalgas autóctonas de Tucumán-Argentina: Cultivo, aislamiento y evaluación de su potencial biotecnológico [Internet]. Editorial Académica Española; 2019 [citado 8 de septiembre de 2023]. Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/111100>
9. Amintarti S, Utami NH, Ajizah A. The various type of microalgae in lentic habitats. *J Phys Conf Ser*. 1 de enero de 2020;1422(1):012027.
10. Demirbaş A. Global Renewable Energy Resources. *Energy Sources Part Recovery Util Environ Eff*. julio de 2006;28(8):779-92.
11. Cobos M, Pérez S, Braga J, Vargas-Arana G, Flores L, Paredes JD, et al. Nutritional evaluation and human health-promoting potential of compounds

biosynthesized by native microalgae from the Peruvian Amazon. *World J Microbiol Biotechnol.* agosto de 2020;36(8):121.

12. EFECTO DEL MEDIO Y CONDICIONES DE CULTIVO EN LA PRODUCTIVIDAD DE TRES DIATOMEAS MARINAS CON POTENCIAL ACUÍCOLA. | *Revista MVZ Córdoba* [Internet]. [citado 20 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://revistamvz.unicordoba.edu.co/article/view/476>
13. Zapata LM, Jimenez Veuthey M, Flores AB, Sacks NA, Vezzosi Zoto GF. Desarrollo de un medio de cultivo para potenciar la producción de componentes bioactivos en la microalga autóctona *Scenedesmus obliquus*. septiembre de 2022 [citado 27 de junio de 2024]; Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/214131>
14. Miranda AS. Productividad de la biomasa y producción de metabolitos secundarios en el co-cultivo de las microalgas dulceacuícolas *Chlorella sorokiniana* y *Desmodesmus communis*.
15. Chisti Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends Biotechnol.* marzo de 2008;26(3):126-31.
16. Andrade R CE, Vera B AL, Cárdenas L CH, Morales A ED. Biomass production of microalga *Scenedesmus* sp. with wastewater from fishery. *Rev Téc Fac Ing Univ Zulia.* agosto de 2009;32(2):126-34.
17. Las microalgas oleaginosas como fuente de biodiesel: retos y oportunidades | *REVISTA LATINOAMERICANA DE BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL Y ALGAL* [Internet]. [citado 7 de agosto de 2021]. Disponible en: <http://www.solabiaa.org/ojs3/index.php/RELBAA/article/view/17>
18. Jacob-Lopes E, Maroneze MM, Queiroz MI, Zepka LQ, editores. *Handbook of microalgae-based processes and products: fundamentals and advances in energy, food, feed, fertilizer, and bioactive compounds.* 1.ª ed. Cambridge: Elsevier; 2020.
19. Navarro. *Acuicultura V – Cultivo de algas: microalgas* | Los Bloggers de Axena [Internet]. [citado 20 de agosto de 2021]. Disponible en: <http://blogueiros.axena.org/2010/04/14/acuicultura-v-cultivo-de-algas-microalgas/>
20. Valuable bioproducts obtained from microalgal biomass and their commercial applications: A review [Internet]. [citado 18 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://www.eeer.org/journal/view.php?doi=10.4491/eeer.2017.220>
21. Protocolos para el aislamiento, caracterización bioquímica y molecular de microalgas oleaginosas | ISBN 978-612-47253-1-9 - Libro [Internet]. [citado 14 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://isbn.cloud/9786124725319/protocolos-para-el-aislamiento-caracterizacion-bioquimica-y-molecular-de-microalgas-oleaginosas/>
22. Hernández-Pérez A. Microalgas, cultivo y beneficios. *Rev Biol Mar Oceanogr.* :17.

23. misPeces - Noticias de Acuicultura. Periodismo y divulgación acuícola [Internet]. [citado 18 de agosto de 2021]. misPeces - Noticias de Acuicultura. Periodismo y divulgación científica. Disponible en: <https://www.mispeces.com/index.html>
24. Fernández FGA, Reis A, Wijffels RH, Barbosa M, Verdelho V, Llamas B. The role of microalgae in the bioeconomy. *New Biotechnol.* 25 de marzo de 2021;61:99-107.
25. Jacinto GSS, Cruz G, Cabral AA, Bezerra GVP, Peña Garcia RR, Magalhães UN, et al. Biotechnological investigation of *Pediastrum boryanum* and *Desmodesmus subspicatus* microalgae species for a potential application in bioenergy. *Algal Res.* 1 de septiembre de 2023;75:103266.
26. Malavasi V, Soru S, Cao G. Extremophile Microalgae: the potential for biotechnological application. *J Phycol.* junio de 2020;56(3):559-73.
27. Delfín-Alfonso CA, Gallina S, Lopez Gonzalez C. El hábitat: definición, dimensiones y escalas de evaluación para la fauna silvestre. En 2014. p. 28.
28. Jacob-Lopes E, Queiroz MI, Zepka LQ, editores. *Pigments from Microalgae Handbook* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [citado 14 de agosto de 2021]. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-50971-2>
29. ASALE R, RAE. «Diccionario de la lengua española» - Edición del Tricentenario. [citado 14 de agosto de 2021]. charco | Diccionario de la lengua española. Disponible en: <https://dle.rae.es/charco>
30. Martínez G, Rey JC, Pargas R, Guerra C, Manzanilla E, Ramírez H. Efecto de sustratos y fuentes orgánicas en la propagación de banano y plátano. *Agron Mesoam.* 1 de septiembre de 2021;808-22.
31. Pila AN, Cuello MC, Schmitd RM, Chamorro E. Microalgae lipid extraction: a novel lab-scale method within a biorefinery approach (fractioning). *Rev Tecnol Cienc.* 13 de diciembre de 2022;(45):31-45.
32. Rana A, Samtiya M, Dhewa T, Mishra V, Aluko RE. Health benefits of polyphenols: A concise review. *J Food Biochem.* octubre de 2022;46(10):e14264.
33. Boston 677 Huntington Avenue, Ma 02115 +1495-1000. The Nutrition Source. 2012 [citado 19 de mayo de 2022]. Protein. Disponible en: <https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/what-should-you-eat/protein/>
34. Definición.de [Internet]. [citado 19 de mayo de 2022]. Definición de reservorio — Definicion.de. Disponible en: <https://definicion.de/reservorio/>
35. Kholssi R, Ramos PV, Marks EAN, Montero O, Rad C. 2Biotechnological uses of microalgae: a review on the state of the art and challenges for the circular economy. *Biocatal Agric Biotechnol.* 29 de julio de 2021;102114.

36. Ferreira A, Guerra I, Costa M, Silva J, Gouveia L. Chapter 15 - Future perspectives of microalgae in the food industry. En: Lafarga T, Acién G, editores. *Cultured Microalgae for the Food Industry* [Internet]. Academic Press; 2021 [citado 6 de agosto de 2021]. p. 387-433. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128210802000083>
37. Dineshbabu G, Goswami G, Kumar R, Sinha A, Das D. Microalgae–nutritious, sustainable aqua- and animal feed source. *J Funct Foods*. 1 de noviembre de 2019;62:103545.
38. Levine IA, Fleurence J. *Microalgae in health and disease prevention*. London: Academic press, an imprint of Elsevier; 2018.
39. Muñoz R, Gonzalez-Fernandez C. *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts*. Woodhead Publishing Series Energy:562.
40. Dolganyuk V, Belova D, Babich O, Prosekov A, Ivanova S, Katserov D, et al. Microalgae: A Promising Source of Valuable Bioproducts. *Biomolecules*. 6 de agosto de 2020;10(8):E1153.
41. Cvejic JH, Langellotti AL, Bonnefond H, Verardo V, Bernard O. Chapter 5 - Microalgae as a source of edible oils. En: Galanakis CM, editor. *Lipids and Edible Oils* [Internet]. Academic Press; 2020 [citado 6 de agosto de 2021]. p. 175-211. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128171059000057>
42. Bošnjaković M, Sinaga N. The Perspective of Large-Scale Production of Algae Biodiesel. *Appl Sci*. 18 de noviembre de 2020;10(22):8181.
43. Razzak SA, Ali SAM, Hossain MM, deLasa H. Biological CO₂ fixation with production of microalgae in wastewater – A review. *Renew Sustain Energy Rev*. 1 de septiembre de 2017;76:379-90.
44. Moshood TD, Nawanir G, Mahmud F. Microalgae biofuels production: A systematic review on socioeconomic prospects of microalgae biofuels and policy implications. *Environ Chall*. 1 de diciembre de 2021;5:100207.
45. Daneshvar E, Sik Ok Y, Tavakoli S, Sarkar B, Shaheen SM, Hong H, et al. Insights into upstream processing of microalgae: A review. *Bioresour Technol*. 1 de junio de 2021;329:124870.
46. Vu CHT, Lee HG, Chang YK, Oh HM. Axenic cultures for microalgal biotechnology: Establishment, assessment, maintenance, and applications. *Biotechnol Adv*. abril de 2018;36(2):380-96.
47. Hernández SYR, Mendivil MFA, Guerrero AYE. Técnicas de muestreo y preservado de algas marinas (microalgas, macroalgas y plantas vasculares marinas). 2021 [citado 4 de enero de 2024]; Disponible en: <http://rgdoi.net/10.13140/RG.2.2.14112.30725>
48. Flores Ramos L, Ruiz Soto A, Oscanoa Huaynate AI, Cervantes Gallegos MA. Extracción e identificación de lípidos polares de las microalgas

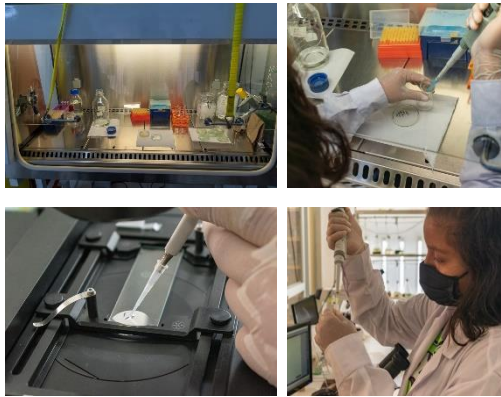
Nannochloropsis oceanica y *Desmodesmus asymmetricus*. *Rev Colomb Quím.* 1 de mayo de 2020;49(2):3-11.

49. Hartree EF. Determination of protein: A modification of the lowry method that gives a linear photometric response. *Anal Biochem.* 1 de agosto de 1972;48(2):422-7.
50. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. En: *Methods in Enzymology* [Internet]. Academic Press; 1999 [citado 10 de agosto de 2023]. p. 152-78. (Oxidants and Antioxidants Part A; vol. 299). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687999990171>
51. Andersen R, Kawachi M. Traditional microalgae isolation techniques. En: *Algal Culturing Techniques*. 2005. p. 83-100.
52. Figueroa-Torres GM, Bermejo-Padilla E, Wang G, Hilmisson B, Pittman JK, Theodoropoulos C. Microalgae strain catalogue.
53. Guillard RRL. Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates. En: Smith WL, Chanley MH, editores. *Culture of Marine Invertebrate Animals* [Internet]. Boston, MA: Springer US; 1975 [citado 5 de enero de 2024]. p. 29-60. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-8714-9_3
54. Casuso Wong MZ. EFECTO DE DIFERENTES TIEMPOS DE EXPOSICION DE CO2 EN LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA Y ACUMULACIÓN DE LÍPIDOS TOTALES DE CUATRO ESPECIES DE MICROLOGAS AMAZÓNICAS. 21 de septiembre de 2015 [citado 5 de enero de 2024]; Disponible en: <http://repositorio.ucp.edu.pe/handle/UCP/2383>

ANEXO 1: Flujograma metodológico utilizado en la investigación



Colecta de microalgas en diferentes tipos de hábitats



Técnicas de aislamiento de microalgas utilizadas en la investigación



Cultivo de microalgas en condiciones de laboratorio



Análisis bioquímicos de microalgas



Cosecha de microalgas



ANEXO 2: Informe de análisis bioquímicos



INSTITUTO DEL MAR DEL PERÚ
Área Funcional de investigaciones en Acuicultura

LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL
INFORME DE RESULTADOS: N° 03/2022

Solicitante: UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL PERÚ
Muestras: Veinte (20) muestras de microalgas
Análisis: TUSNE N° 004, 005, 006, 007, 008, 009 y 010
Fecha de recepción: 18/05/2022
Fecha de entrega de resultados: 30/05/2022

Resultados

En las páginas desde el 02 hasta el 09.

Atentamente,



Quím. Leenin Flores Ramos
Responsable del Laboratorio de
Análisis Instrumental
N° CQP: 1107
Correo: lflores@imarpe.gob.pe
Teléfono: (051) 208-8650 anexo: 845

RESULTADOS

Los resultados se muestran en las siguientes tablas:

Tabla N° 1. Promedio y desviación estándar de los porcentajes de humedad, lípidos, carbohidratos, proteínas y cenizas en las muestras.

Código de Muestra	Humedad (%)	Lípidos (%)	Carbohidratos (%)	Proteínas (%)	Cenizas (%)
UCP-01	4,23 ± 0,08	21,40 ± 0,33	16,45 ± 0,08	38,51 ± 0,64	4,36 ± 1,03
UCP-02	4,04 ± 5,72	25,94 ± 0,85	13,83 ± 1,15	41,76 ± 0,30	2,33
UCP-03	4,85 ± 0,45	15,23 ± 0,21	12,99 ± 1,21	39,03 ± 0,20	7,50 ± 0,09
UCP-04	4,16 ± 0,41	13,31 ± 0,17	21,55 ± 1,15	41,27 ± 2,48	4,08 ± 0,19
UCP-05	3,09 ± 0,64	12,21 ± 0,28	13,67 ± 0,01	38,54 ± 0,81	7,90 ± 0,30
UCP-06	3,16 ± 0,35	6,94 ± 0,08	11,76 ± 0,26	40,07 ± 3,20	4,20 ± 0,45
UCP-07	9,93 ± 0,64	19,24 ± 0,39	36,53 ± 0,46	20,34 ± 0,05	2,80 ± 0,03
UCP-08	6,31	9,89 ± 0,44	22,84 ± 0,08	44,81 ± 0,65	2,70
UCP-09	4,66	6,80 ± 1,01	35,53 ± 0,39	35,60 ± 0,18	2,72
UCP-10	5,31 ± 0,64	15,12 ± 1,20	10,21 ± 0,94	57,60 ± 0,08	3,21 ± 0,60
UCP-11	2,89 ± 0,25	16,80 ± 0,22	21,54 ± 0,38	42,43 ± 1,44	3,58 ± 0,57
UCP-12	4,49	16,36 ± 0,23	17,48 ± 0,28	57,56 ± 1,15	4,56
UCP-13	11,10	0,80	55,14 ± 0,18	18,87	1,74
UCP-15	2,80 ± 0,29	3,43 ± 0,34	55,19 ± 0,61	23,53 ± 1,39	2,69 ± 0,02
UCP-16	4,31	2,31 ± 0,10	56,94 ± 2,57	21,28 ± 0,58	1,97
UCP-17	3,47	3,45 ± 0,03	51,23 ± 0,70	24,65 ± 0,44	0,88
UCP-18	4,37	5,12 ± 0,26	44,67 ± 0,17	32,52 ± 0,72	5,97
UCP-19	13,49	6,87	36,31 ± 1,00	32,89	0,58
MV2-2021	10,40 ± 0,56	19,43 ± 0,68	47,43 ± 1,24	3,86 ± 0,08	1,61 ± 0,28

* Los resultados que solo tienen una réplica, no muestran desviación estándar.

Tabla N° 4. Promedio y desviación estándar de la concentración (mg/g) de pigmentos y polifenoles totales en las muestras.

mg/g	Luteína	Clorofila b	Clorofila a	beta-Caroteno	Polifenoles totales (Ácido gálico)
UCP-01	3,28 ± 0,01	3,56 ± 0,06	7,43 ± 0,14	40,53 ± 0,82	5,07 ± 0,04
UCP-02	3,37	5,34	10,73	40,20	4,76 ± 0,76
UCP-03	3,93 ± 0,00	2,81 ± 0,11	3,17 ± 0,09	35,27 ± 0,21	4,63 ± 0,41
UCP-04	2,92 ± 0,26	2,68 ± 0,11	2,69 ± 0,16	43,41 ± 3,69	3,40 ± 0,38
UCP-05	0,87 ± 0,00	1,92 ± 0,00	2,72 ± 0,02	11,77 ± 0,04	2,13 ± 0,28
UCP-06	0,22 ± 0,01	0,82 ± 0,12	0,81 ± 0,09	2,89 ± 0,13	1,51 ± 0,20
UCP-07	1,99 ± 0,07	1,27 ± 0,17	1,39 ± 0,24	17,56 ± 0,29	3,62 ± 0,03
UCP-08	1,06	3,46	3,65	8,19	6,87
UCP-09	0,48	1,27	2,01	4,77	2,01
UCP-10	1,41 ± 0,08	5,97 ± 0,36	6,79 ± 0,26	25,41 ± 1,70	7,25 ± 1,70
UCP-11	2,66 ± 0,40	2,27 ± 0,39	3,80 ± 0,67	23,01 ± 3,47	4,07 ± 0,10
UCP-12	0,60	ND	7,63	61,22	2,30
UCP-13	0,01	ND	0,83	5,77	0,72
UCP-15	ND	ND	1,10 ± 0,03	4,91 ± 0,29	1,77 ± 0,04
UCP-16	ND	ND	3,01 ± 0,05	17,18 ± 0,30	2,43 ± 0,01
UCP-17	0,12 ± 0,00	ND	2,77 ± 0,12	17,12 ± 0,28	2,40 ± 0,08
UCP-18	0,05 ± 0,00	ND	2,26 ± 0,03	14,93 ± 0,36	6,02 ± 0,01
UCP-19	ND	ND	8,85	45,39	FM

* Los resultados que solo tienen una réplica, no muestran desviación estándar.

