



Universidad de Guayaquil

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
CARRERA DE BIOLOGÍA

**Trabajo de titulación previo a obtener el grado académico de
Bióloga**

**Cultivo en *batch* de *Scenedesmus* spp., en aguas residuales de industrias
lácteas: Crecimiento, Productividad y Composición bioquímica**

AUTOR: Maria Eloiza Verduga Vera

TUTOR: Blgo. Xavier Álvarez Montero Ph.D.

GUAYAQUIL, JUNIO 2020



**ANEXO VI. – CERTIFICADO DEL DOCENTE-TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
CARRERA DE BIOLOGÍA**

Guayaquil, 28 de febrero de 2020

**Sra. Dialhy Coello, Mgs.
DIRECTORA(e) DE LA CARRERA DE BIOLOGÍA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad. -**

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación Cultivo en *batch* de *Scenedesmus* spp., en aguas residuales de industrias lácteas: Crecimiento, Productividad y Composición bioquímica, de la estudiante María Eloiza Verduga Vera, indicando que ha cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se adjunta el certificado del porcentaje de similitud y la valoración del trabajo de titulación con la respectiva calificación.

Dando por concluida esta tutoría de trabajo de titulación, **CERTIFICO**, para los fines pertinentes, que la estudiante María Eloiza Verduga Vera está apta para continuar el proceso de revisión final.

Atentamente,

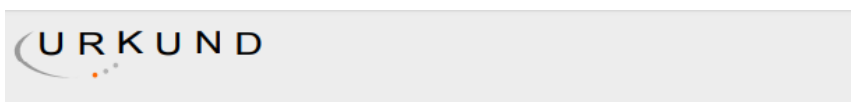
Blgo. Xavier Álvarez Montero, Ph.D.
TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN
C.I. 0908695364
FECHA: 28 de febrero de 2020



ANEXO VII. – CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD

Habiendo sido nombrado Blgo. Xavier Álvarez Montero, PhD, tutor del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación ha sido elaborado por Maria Eloiza Verduga Vera, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Biólogo.

Se informa que el trabajo de titulación: Cultivo en *batch* de *Scenedesmus* spp., en aguas residuales de industrias lácteas: Crecimiento, Productividad y Composición bioquímica, ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa antiplagio URKUND quedando el 3% de coincidencia.



Urkund Analysis Result

Analysed Document: Cultivo en batch de Scenedesmus spp., en aguas residuales de industrias lácteas- Crecimiento, Productividad y Composición bioquímica.docx (D64735937)
Submitted: 3/2/2020 8:18:00 PM
Submitted By: xavier.alvarezmo@ug.edu.ec
Significance: 3 %

Sources included in the report:

TESIS KENIA.docx (D29548600)
TESIS FINAL.docx (D12902968)
Efecto de la disponibilidad de nitrógeno sobre el crecimiento, productividad y composición bioquímica de la cianobacteria Nostoc sp. PCC 7413 en condiciones diazotóxicas y no diazotóxicas.docx (D54820512)
https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/2251/1/TESIS%20MONICA%20HINOJOSA%20Tesis%20Monica%20Hinojosa%20Castan_eda2012.pdf
<https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/2306/1/TESIS%20CARMEN%20MALDONADO%20TESIS-CIMAV%20-.pdf>
https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/106149/Memoria%20TFM_Gonzalez_Calzada_Alejandro.pdf
<https://core.ac.uk/download/pdf/143456987.pdf>

Instances where selected sources appear:

12

Blgo. Xavier Álvarez Montero, Ph.D.
C.I.: 0908695364
FECHA: 28 de febrero de 2020



ANEXO VIII. – INFORME DEL DOCENTE REVISOR

Guayaquil, 20 abril de 2020

Sra. Dialhy Coello, Mgs.
DIRECTORA(e) DE LA CARRERA DE BIOLOGÍA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad. -

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la **REVISIÓN FINAL** del Trabajo de Titulación Cultivo en *batch* de *Scenedesmus* spp., en aguas residuales de industrias lácteas: Crecimiento, Productividad y Composición bioquímica, de la estudiante Maria Eloiza Verduga Vera. Las gestiones realizadas me permiten indicar que el trabajo fue revisado considerando todos los parámetros establecidos en las normativas vigentes, en el cumplimiento de los siguientes aspectos:

Cumplimiento de requisitos de forma:

El título tiene un máximo de 17 palabras.

La memoria escrita se ajusta a la estructura establecida.

El documento se ajusta a las normas de escritura científica seleccionadas por la Facultad.

La investigación es pertinente con la línea y sublíneas de investigación de la carrera.

Los soportes teóricos son de máximo 10 años.

La propuesta presentada es pertinente.

Cumplimiento con el Reglamento de Régimen Académico:

El trabajo es el resultado de una investigación.

El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.

El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.

El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se indica que fue revisado, el certificado de porcentaje de similitud, la valoración del tutor, así como de las páginas preliminares solicitadas, lo cual indica que el trabajo de investigación cumple con los requisitos exigidos.

Una vez concluida esta revisión, considero que la estudiante Maria Eloiza Verduga Vera está apta para continuar el proceso de titulación. Particular que comunicamos a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,

Blgo. Telmo Ariel Escobar Troya, MSc.

DOCENTE TUTOR REVISOR

C.I. 0201316650

FECHA: 20 de abril de 2020



ANEXO XI. – FICHA DE REGISTRO DE TRABAJO DE TITULACIÓN

REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA			
FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE GRADUACIÓN			
TÍTULO Y SUBTÍTULO:	Cultivo en <i>batch</i> de <i>Scenedesmus</i> spp., en aguas residuales de industrias lácteas: Crecimiento, Productividad y Composición bioquímica.		
AUTOR(ES) (apellidos/nombres):	Maria Eloiza Verduga Vera		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES) (apellidos/nombres):	Álvarez Montero Xavier Guillermo		
INSTITUCIÓN:	Universidad de Guayaquil		
UNIDAD/FACULTAD:	Facultad de Ciencias Naturales		
MAESTRÍA/ESPECIALIDAD:	Biología		
GRADO OBTENIDO:	Bióloga		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	junio, 2020	No. DE PÁGINAS:	35
ÁREAS TEMÁTICAS:	Desarrollo Biotecnológico, conservación y aprovechamiento sostenible de los recursos naturales.		
PALABRAS CLAVES/KEYWORDS:	Biomasa, efluente, remoción, microalga.		
RESUMEN/ABSTRACT (150-250 palabras):			
<p>El presente estudio evaluó la factibilidad del cultivo de <i>Scenedesmus</i> spp., en aguas residuales de una industria láctea (con ajustes previos en su composición), para la obtención de biomasa con posibles aplicaciones biotecnológicas. Los resultados muestran que la turbidez del efluente afectó el crecimiento (concentración celular), siendo inferior al control en un 24,8%. Sin embargo, la tasa crecimiento específico en fase exponencial (μ: $0,69 \pm 0,09 \text{ d}^{-1}$) no difirió del control, al igual que la productividad, que alcanzó $1,84 \pm 0,54 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Respecto a la composición bioquímica de la biomasa, se obtuvo $272,8 \pm 10,4 \text{ mg g}^{-1}$ de carbohidratos, $307,7 \pm 16,8 \text{ mg g}^{-1}$ de proteínas y $351,0 \pm 55,0 \text{ mg g}^{-1}$ de lípidos; con una asimilación del 85% de nitrógeno y >96% del fósforo, contenido en DIWW. De esta manera, se concluye en que la alternativa es viable para producción de biomasa, con alto contenido lipídico (35%), demostrando simultáneamente eficiencia en la remoción de nutrientes.</p>			
ADJUNTO PDF:	X	SI	NO
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: 0991991204		E-mail: maria.verdugav@ug.edu.ec
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:	Nombre: Universidad de Guayaquil		
	Teléfono: (04) 3080777 – 3080758		
	E-mail: info@fccnngye.com		



**ANEXO XII. – DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y DE AUTORIZACIÓN DE LICENCIA GRATUITA
INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL USO NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES
ACADÉMICOS**

**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
CARRERA DE BIOLOGÍA**

LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL USO NO COMERCIAL DE LA OBRA
CON FINES ACADÉMICOS

Yo, María Eloiza Verduga Vera con C.I. No. 1312994468, certifico que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es Cultivo en *batch* de *Scenedesmus* spp., en aguas residuales de industrias lácteas: Crecimiento, Productividad y Composición bioquímica son de mi absoluta propiedad y responsabilidad, en conformidad al Artículo. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN*, autorizo la utilización de una licencia gratuita intransferible para el uso no comercial a favor de la Universidad de Guayaquil.

María Eloiza Verduga Vera

C.I. No. 1312994468



ANEXO XIII. – RESUMEN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
CARRERA DE BIOLOGÍA

**Cultivo en *batch* de *Scenedesmus* spp., en aguas residuales de industrias lácteas: Crecimiento,
Productividad y Composición bioquímica**

Autor: Maria Eloiza Verduga Vera

Tutor: Blgo. Xavier Álvarez Montero, Ph.D.

Resumen

El presente estudio evaluó la factibilidad del cultivo de *Scenedesmus* spp., en aguas residuales de una industria láctea (con ajustes previos en su composición), para la obtención de biomasa con posibles aplicaciones biotecnológicas. Los resultados muestran que la turbidez del efluente afectó el crecimiento (concentración celular), siendo inferior al control en un 24,8%. Sin embargo, la tasa crecimiento específico en fase exponencial (μ : $0,69 \pm 0,09 \text{ d}^{-1}$) no difirió del control, al igual que la productividad, que alcanzó $1,84 \pm 0,54 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Respecto a la composición bioquímica de la biomasa, se obtuvo $272,8 \pm 10,4 \text{ mg g}^{-1}$ de carbohidratos, $307,7 \pm 16,8 \text{ mg g}^{-1}$ de proteínas y $351,0 \pm 55,0 \text{ mg g}^{-1}$ de lípidos; con una asimilación del 85% de nitrógeno y >96% del fósforo, contenido en DIWW. De esta manera, se concluye en que la alternativa es viable para producción de biomasa, con alto contenido lipídico (35%), demostrando simultáneamente eficiencia en la remoción de nutrientes.

Palabras claves: Biomasa, efluente, remoción, microalga.



ANEXO XIV. – RESUMEN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES CARRERA DE BIOLOGÍA

Batch cultivation of *Scenedesmus* spp., in dairy wastewater: Growth, Productivity and Biochemical Composition.

Author: Marla Eloiza Verduga Vera

Advisor: Blgo. Xavier Álvarez Montero, Ph.D.

Abstract

The present study evaluated the feasibility of cultivating *Scenedesmus* spp. in wastewater from a dairy industry (with previous adjustments in its composition), to obtain biomass with possible biotechnological applications. The results show that the turbidity of the effluent affected growth (cell concentration), is less than the control by 24,8%. However, the specific growth rate in the exponential phase (μ : $0,69 \pm 0,09 \text{ d}^{-1}$) did not differ from the control, also in productivity, which reached $1,84 \pm 0,54 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Regarding biochemical composition of the biomass, $272,8 \pm 10,4 \text{ mg g}^{-1}$ of carbohydrates, $307,7 \pm 16,8 \text{ mg g}^{-1}$ of proteins, and $351,0 \pm 55,0 \text{ mg g}^{-1}$ of lipids were obtained; with the assimilation of 85% of nitrogen and > 96% of phosphorus, contained in DIWW. In this way, it is concluded that the alternative is viable for biomass production, with a high lipid content (35%), simultaneously demonstrating efficiency in the removal of nutrients.

Keywords: Biomass, effluent, removal, microalgae.

© **Derechos de autor**

Maria Eloiza Verduga Vera

2020

DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN

En mi calidad de Tutor de este Trabajo de Titulación Certifico que, el presente trabajo ha sido elaborado por la señorita Maria Eloiza Verduga Vera, por lo cual autorizo su presentación.



Blgo. Xavier Álvarez Montero, Ph.D.
Director del Trabajo de Titulación

DEDICATORIA

A lo largo de este camino, la realidad solió percibirse intimidante, oscura y solitaria, de pronto un flujo de energía calmó la ansiedad, alejó a los miedos y transmitió paz. A esa energía le llamo amor, y siempre llegó como respuesta a una oración, por ello te dedico este trabajo.

A Dios.

A mis padres Klever y Angela, por su sacrificio, esfuerzo y confianza, al permitirme volar y cumplir sueños, por su infinito amor que va más allá de sus miedos y su indispensable apoyo, clave en el cumplimiento de esta meta.

A mi hermano Paul.

“Cuando crezca quiero ser como tú”.

Y finalmente, a las grandes personas que la academia me permitió conocer, personas que formaron parte importante de este objetivo y me acompañaron en diferentes etapas del proceso: Cristhian, Kevin, Yazmin, Kristhel, Leonella, Paulina, Kevin Z., Rubén, Richard, Holger, Marlon y Jordan.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Naturales, por forjarme académicamente y brindarme los conocimientos y herramientas necesarias para la elaboración del presente trabajo de investigación.

A mi tutor y maestro Xavier Álvarez, por su instrucción durante el desarrollo de la presente investigación y su motivación permanente para el crecimiento profesional.

A mis amigos y compañeros de laboratorio: Silvia Robles, Andrea Cruz, Ingrid Mercado, y Karla Naranjo, por su ayuda y orientación en las metodologías de trabajo.

Tabla de Contenido

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS	4
Objetivo general.....	4
Objetivos específicos	4
3. ANTECEDENTES	5
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
4.1. Microorganismo	7
4.2. Medios de cultivo	7
4.3. Diseño experimental	7
4.4. Condiciones de cultivo	8
4.5. Determinación de concentración celular.....	8
4.6. Determinación de la tasa de crecimiento específico	9
4.7. Determinación de peso seco	9
4.8. Determinación de carbohidratos.....	10
4.9. Determinación de proteínas	10
4.10. Determinación de lípidos.....	11
4.11. Determinación del contenido de Nitrógeno y Fósforo.....	11
4.12. Análisis estadísticos.....	12
5. RESULTADOS	13
5.1. Crecimiento celular	13
5.2. Producción de biomasa.....	14
5.3. Composición bioquímica de la biomasa	14
5.4. Remoción de nutrientes	16
6. DISCUSIÓN	17

7	CONCLUSIONES.....	21
8	RECOMENDACIONES.....	22
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
10.	ANEXOS	28

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición del medio estándar BG11 y del efluente lácteo.....	7
Tabla 2. Diseño experimental del cultivo <i>batch</i> de <i>Scenedesmus</i> spp., en aguas residuales de industrias lácteas	8
Tabla 3. Remoción de nutrientes en los medios de cultivo.	16

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reglilla de la cámara de Neubauer (Arredondo & Voltolina, 2007a) ..	8
Figura 2. a) Curva de crecimiento de <i>Scenedesmus</i> spp., determinada como concentración de células mL ⁻¹ ; en medio BG11 y en efluentes lácteos (DIWW). b) Tasa de crecimiento específico (μ) de la microalga en ambos sustratos de cultivo.	13
Figura 3. Peso de la biomasa seca de <i>Scenedesmus</i> spp, cultivada en agua residual de industrias lácteas (DIWW) y en medio estándar BG11. ...	14
Figura 4. Concentración de carbohidratos de la biomasa de <i>Scenedesmus</i> spp., cosechada del medio BG11 (control) y efluentes de industrias lácteas DIWW.....	15
Figura 5. Contenido de proteínas del cultivo <i>batch</i> de <i>Scenedesmus</i> spp., en aguas residuales de una industria láctea y en el medio control (BG11).	15
Figura 6. Concentración de lípidos de la biomasa de <i>Scenedesmus</i> spp., en los medios control (BG11) y tratamiento (DIWW).	16
Figura 7. Microfotografía de <i>Scenedesmus</i> spp., observada a 40X. a) cepa cultivada en BG11. b) cepa cultivada en agua residual de una industria láctea.....	18

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Curva patrón para la determinación de carbohidratos en base a una solución de glucosa	28
Anexo 2. Curva patrón para la determinación de proteínas en base a una solución con Albúmina de Suero Bovino (ASB)	28
Anexo 3. Curva patrón para la determinación de lípidos en base a una solución de tripalmitina-cloroformo	29
Anexo 4. ANOVA de una vía ($p < 0,05$) del crecimiento de <i>Scenedesmus</i> spp., cultivada en aguas residuales de una industria láctea y en medio estándar BG11.	29
Anexo 5. Análisis de las diferencias significativas ($p < 0,05$) de las tasas de crecimiento de <i>Scenedesmus</i> spp., en BG11 y en efluentes lácteos.	30
Anexo 6. Análisis de las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) del peso seco de la biomasa de <i>Scenedesmus</i> spp., en BG11 y en efluentes lácteos.	30
Anexo 7. Análisis de las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) de la productividad de biomasa de <i>Scenedesmus</i> spp., en BG11 y en efluentes lácteos.	31
Anexo 8. ANOVA de una vía, de las concentraciones de carbohidratos en biomasa de <i>Scenedesmus</i> spp., cultivada en aguas residuales de una industria láctea y en BG11.	31
Anexo 9. ANOVA de una vía, aplicado a las concentraciones de proteínas en biomasa de <i>Scenedesmus</i> spp., en los medios: control y tratamiento.	32
Anexo 10. ANOVA de una vía, aplicado a las concentraciones de lípidos en biomasa de <i>Scenedesmus</i> spp., en los medios: control y tratamiento.	32
Anexo 11. Colecta del agua residual de una industria láctea, utilizada como sustrato de cultivo de <i>Scenedesmus</i> spp. b) Drenaje de efluentes de la industria láctea.	33

Anexo 12. a) Filtros con biomasa de <i>Scenedesmus</i> spp., en proceso de secado. b) Biomasa seca de <i>Scenedesmus</i> spp.....	33
Anexo 13. Sistema de cultivo <i>batch</i> de <i>Scenedesmus</i> spp., en fotobiorreactores.....	34
Anexo 14. Proceso de determinación de lípidos (extracción clorofórmica mezclándose con ácido sulfúrico concentrado).....	34
Anexo 15. Determinación del contenido de nitrógeno y fósforo del efluente lácteo.....	35

Cultivo en *batch* de *Scenedesmus* spp., en aguas residuales de industrias lácteas: Crecimiento, Productividad y Composición bioquímica

Resumen

El presente estudio evaluó la factibilidad del cultivo de *Scenedesmus* spp., en aguas residuales de una industria láctea (con ajustes previos en su composición), para la obtención de biomasa con posibles aplicaciones biotecnológicas. Los resultados muestran que la turbidez del efluente afectó el crecimiento (concentración celular), siendo inferior al control en un 24,8%. Sin embargo, la tasa crecimiento específico en fase exponencial (μ : $0,69 \pm 0,09 \text{ d}^{-1}$) no difirió del control, al igual que la productividad, que alcanzó $1,84 \pm 0,54 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Respecto a la composición bioquímica de la biomasa, se obtuvo $272,8 \pm 10,4 \text{ mg g}^{-1}$ de carbohidratos, $307,7 \pm 16,8 \text{ mg g}^{-1}$ de proteínas y $351,0 \pm 55,0 \text{ mg g}^{-1}$ de lípidos; con una asimilación del 85% de nitrógeno y >96% del fósforo, contenido en DIWW. De esta manera, se concluye en que la alternativa es viable para producción de biomasa, con alto contenido lipídico (35%), demostrando simultáneamente eficiencia en la remoción de nutrientes.

Palabras claves: Biomasa, efluente, remoción, microalga.

Batch cultivation of *Scenedesmus* spp., in dairy wastewater: Growth, Productivity and Biochemical Composition.

Abstract

The present study evaluated the feasibility of cultivating *Scenedesmus* spp. in wastewater from a dairy industry (with previous adjustments in its composition), to obtain biomass with possible biotechnological applications. The results show that the turbidity of the effluent affected growth (cell concentration), being less than the control by 24.8%. However, the specific growth rate in the exponential phase (μ : $0,69 \pm 0,09 \text{ d}^{-1}$) did not differ from the control, also in productivity, which reached $1,84 \pm 0,54 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Regarding the biochemical composition of the biomass, $272,8 \pm 10,4 \text{ mg g}^{-1}$ of carbohydrates, $307,7 \pm 16,8 \text{ mg g}^{-1}$ of proteins and $351,0 \pm 55,0 \text{ mg g}^{-1}$ of lipids were obtained; with an assimilation of 85% of nitrogen and > 96% of phosphorus, contained in DIWW. In this way, it is concluded that the alternative is viable for biomass production, with a high lipid content (35%), simultaneously demonstrating efficiency in the removal of nutrients.

Keywords: Biomass, effluent, removal, microalgae.

1. INTRODUCCIÓN

Las microalgas son microorganismos eucariotas, de amplia distribución en la biosfera, caracterizadas por su capacidad de transformar energía lumínica en energía química, sintetizando macromoléculas orgánicas (carbohidratos, proteínas, lípidos, pigmentos, entre otros), a partir de elementos inorgánicos, principalmente carbono, nitrógeno y fósforo (Ramaraj, Tsai, & Chen, 2014). En consecuencia, este proceso libera continuamente grandes cantidades de O₂ mientras capta CO₂, desempeñando así un importante rol en la dinámica del intercambio de gases del planeta. A su vez, transfiere la energía, sintetizada y almacenada en forma de biomasa microalgal a los eslabones tróficos superiores (M. Borowitzka, Beardall, & Raven, 2016).

En efecto, la biomasa de microalgas posee un alto valor nutricional, que es aprovechado en la elaboración de suplementos alimenticios, piensos pecuarios, fertilizantes y acondicionadores de suelo; además, ciertas especies producen cantidades apreciables de pigmentos, toxinas, vitaminas, entre otras; que por sus propiedades son utilizadas en farmacología y biotecnología (Silveira, Gómez, Kufundala, Salazar, & Ortega, 2018).

Consecuentemente, los cultivos masivos de estos microorganismos tienen importancia económica, principalmente los géneros *Haematococcus*, *Chlorella*, *Dunaliella* y *Scenedesmus* (Niccolai, Zittelli, Rodolfi, Biondi, & Tredici, 2019); por ejemplo; en 2013 la producción de biomasa seca de microalgas fue de 9 000 t año⁻¹, cuyo precio varía entre \$32 y \$323 kg⁻¹; a excepción de la biomasa de alto valor, como el caso de *Haematococcus pluvialis* cuyo costo es de \$2 000 kg⁻¹, debido a la astaxantina de su composición (Acién, Fernández, & Molina, 2013; Granda, 2015).

Además, las microalgas son consideradas en la producción de energía de tercera generación, debido a la notable concentración de lípidos que alcanzan ciertas cepas en condiciones de cultivo controladas, lípidos que pueden ser transformados en biodiesel; también se puede obtener bioetanol y biogás a partir de procesos de fermentación de su biomasa (Hena, Fatimah, & Tabassum, 2015; Ramaraj, Dussadee, Whangchai, & Unpaprom, 2015; Ge,

Champagne Plaxton, Leite, & Marazzi, 2016). Sin embargo, la factibilidad de los biocombustibles a base de microalgas aún no es un tema viable en términos económicos, puesto que no compite con el precio de los combustibles fósiles (Acién, Fernández, Magán, & Molina, 2012).

En general, la producción masiva de biomasa microalgal tiene elevados costos, debido al consumo energético del proceso, la tecnología requerida y los insumos (medio de cultivo, fuente de CO₂) (Acién et al., 2012); lo que conlleva a desarrollar alternativas que permiten reducir el coste total, manteniendo la productividad, bajo este contexto, se evalúa el uso de aguas residuales agroindustriales como medio de cultivo, puesto que, la composición de los efluentes podría suplir los requerimientos nutricionales de microorganismos fotoautotróficos.

A su vez, la alternativa, mejora considerablemente la calidad del agua residual, al disminuir la carga orgánica e inorgánica y aumentar la concentración de oxígeno disuelto, de esta manera también se reducen los costos del tratamiento de remediación de efluentes, reemplazando los métodos tradicionales de aireación y remoción de nutrientes (Cookson, Cookson, Ferry, & Klonik, 2015; Khemka & Saraf, 2015).

Entre las agroindustrias que generan mayor cantidad de aguas residuales, destaca la industria láctea, que produce hasta 10 m³ de efluente por m³ de leche procesada; efluente que además de materia orgánica, sólidos en suspensión, y elementos inorgánicos (principalmente nitrógeno y fósforo) contiene compuestos químicos de desinfección y una microbiota propia (Swetha, Sirisha, Swaminathan, & Sivasubramanian, 2016; Marazzi, Bellucci, Fantasia, Ficara, & Mezzanotte, 2020). Siendo estos últimos, factores que pueden causar inhibición en el desarrollo de microalgas.

Sin embargo, se han aislado cepas de *Scenedesmus*, de aguas residuales de industrias lácteas, demostrando la capacidad adaptativa de este género (Hena, Fatimah, & Tabassum, 2015; Labbé, Ramos, Hernández, Baeza, & Hansen, 2017). Debido a esto, el objetivo del presente trabajo es evaluar la factibilidad del cultivo en *batch* de la microalga *Scenedesmus* spp., en aguas residuales de

una industria lácteas mediante el análisis de su crecimiento, productividad y composición bioquímica.

2. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la factibilidad del cultivo en *batch* de la microalga *Scenedesmus* spp., en aguas residuales de una industria láctea, mediante su crecimiento, productividad y composición bioquímica.

Objetivos específicos

- Establecer la cinética de crecimiento de *Scenedesmus* spp., en aguas residuales de una industria láctea, mediante cuantificación diaria de células mL⁻¹
- Estimar la productividad de *Scenedesmus* spp., a través del peso seco de la biomasa, del cultivo *batch* en aguas residuales de una industria láctea.
- Determinar la composición bioquímica de la biomasa de *Scenedesmus* spp., según el contenido de carbohidratos, lípidos y proteínas.

3. ANTECEDENTES

Los cultivos de microalgas en aguas residuales, inicialmente estaban orientados hacia el tratamiento de remediación de estas aguas (Oswald et al., 1957). Posteriormente, se planteó su uso como medio de cultivo en la producción masiva de biomasa, con una amplia gama de aplicaciones biotecnológicas, que abarca hasta fines energéticos (Swetha et al., 2016).

Sin embargo, la factibilidad de esta alternativa es limitada, debido a los efectos que tiene la composición de las aguas residuales sobre la cinética de crecimiento y composición bioquímica de las microalgas cultivadas en estos medios (Arbib, Ruiz, Álvarez, Garrido, Barragan & Perales, 2013).

Las aguas residuales de industrias lácteas, se caracterizan por poseer una demanda química y bioquímica de oxígeno alta, encontrándose en rangos de 2000 - 4000 mg L⁻¹ y 2000 - 3000 mg L⁻¹ respectivamente, sólidos en suspensión (0,1 – 22,0 g L⁻¹) y elementos inorgánicos, incluidos: nitrógeno (0,01- 1,7 g L⁻¹) y fosforo (0,006 – 0,5 g L⁻¹), también contienen otros elementos como calcio, magnesio, hierro, entre otros; cuyas concentraciones en el efluente, dependen del tipo de industria, el producto final procesado y el sistema de manejo (Tirado, Gallo, Acevedo, & Mouthon, 2016; Marazzi et al., 2020). Además contienen una microbiota asociada que puede incluir microorganismos patógenos (Swetha et al., 2016).

Hena, Fatimah, y Tabassum, (2015) utilizaron efluentes de industrias lácteas como medio de cultivo de *Scenedesmus* sp y *Chlorella saccharophila* (especies aisladas del agua residual), obteniendo productividades de biomasa máximas de 0,21 g L⁻¹ d⁻¹, los lípidos constituyeron menos del 18% del total de biomasa.

Labbé et al., (2017) mencionaron que los géneros *Chlorella* y *Scenedesmus* tienen potencial para el cultivo en aguas residuales de industrias lácteas, sin embargo, *Chlorella* se desarrolla mejor cuando, el contenido orgánico presente en el medio es alto, mientras que, *Scenedesmus* es superior cuando la carga química y detergente es alta.

Arjun, Saravanan, Banupriya, y Elumalai, (2018) evaluaron la producción de ácidos grasos y Omega 3 de *Scenedesmus quadricuda* y *Chlorella vulgaris*, cultivadas en aguas residuales de una industria láctea, previamente tratadas (tratamiento primario), Los resultados reflejaron que *Chlorella*, obtuvo $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de peso seco, duplicando a *Scenedesmus* ($0,23 \text{ mg L}^{-1}$), en 21 días de cultivo. No obstante, *Scenedesmus quadricuda* alcanzó un mayor contenido de ésteres metílicos de ácidos grasos (36.14%). Por otro lado, su estudio recalca la capacidad de estas especies para tolerar condiciones de estrés y mejorar la calidad del agua residual, disminuyendo la concentración de nutrientes, principalmente nitrógeno y fosforo; además, metales pesados.

Li, Hu, Gan, & Sun, (2010) mencionaron que el consumo de nitrógeno y fosforo, por parte de las microalgas, está relacionado con la concentración en que se encuentran disponibles, es decir, la relación N:P, Los resultados de su estudio indican que *Scenedesmus* sp asimila adecuadamente estos compuestos en ratio <20.

Li, Hu, y Yang, (2010), demostraron que la limitación de nitrógeno induce la acumulación de lípidos en *Scenedesmus* sp, en su investigación, la concentración de lípidos en la biomasa se incrementó del 14 a 31% al décimo día de cultivo, cuando se había consumido el nitrógeno disponible en las aguas residuales urbanas que utilizaron como sustrato de cultivo.

Marazzi *et al.*, (2020) demostraron la eficiencia del consorcio microalgas y bacterias en el tratamiento de efluentes, basándose en la relación que se forma entre estos microorganismos; misma que dio como resultado la disminución de elementos nocivos, hasta quedar dentro de los límites permisibles para su descarga.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Microorganismo

Se utilizó un aislado de la microalga *Scenedesmus* spp., en condiciones no axénicas; procedente de la Reserva Ecológica Pedro Franco Dávila, conservada en el Laboratorio de Biotecnología Microbiana de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil.

4.2. Medios de cultivo

Se empleó agua residual de una industria productora de queso (Anexo 11), con ajustes en su composición (2mL L⁻¹ de fertilizante Bayfolan® para elevar los nutrientes y NaOH para neutralizar el pH), como tratamiento y el medio estándar BG11 compuesto de: NaNO₃ 17.65 mM; K₂HPO₄ 0.23 mM; MgSO₄·7H₂O 0.30 mM; CaCl₂·H₂O 0.25 mM; Na₂CO₃ 0.38 mM... (Allen, 1968) como control (Tabla 1).

Tabla 1. Composición del medio estándar BG11 y del efluente lácteo.

	mM
BG11	
NaNO ₃	17,65
K ₂ HPO ₄	0,23
Efluente lácteo	
NT ₃₋	4,52
PO ₄	0,04
Efluente lácteo (Bayfolan®)	
NT ₃₋	16,3
PO ₄	1,33

4.3 Diseño experimental

Consistió en seis unidades experimentales, divididas en control y tratamiento, (tres replicas cada uno); Tomando como control el medio estándar BG11 y como tratamiento aguas residuales de una industria láctea con ajustes previos en su composición (DIWW). Los sustratos de cultivo se inocularon con 1,1 x 10⁷ células mL⁻¹ de *Scenedesmus* spp. (Tabla 2) (Anexo 13).

Tabla 2. Diseño experimental del cultivo *batch* de *Scenedesmus* spp., en aguas residuales de industrias lácteas

Cepa microalgal	Sustrato de cultivo	Réplicas	Inóculo inicial	VARIABLES MEDIDAS
<i>Scenedesmus</i> spp.	BG11	3	$1,1 \times 10^7$ cel mL ⁻¹	<ul style="list-style-type: none"> ✚ Crecimiento (células mL⁻¹) ✚ Productividad (g L⁻¹ d⁻¹ de biomasa seca)
<i>Scenedesmus</i> spp.	* DIWW	3	$1,1 \times 10^7$ cel mL ⁻¹	<ul style="list-style-type: none"> ✚ Composición bioquímica (mg g⁻¹ de lípidos, carbohidratos y proteínas)

* DIWW Agua residual de la industria láctea con ajustes en su composición

4.4 Condiciones de cultivo

El cultivo se realizó en fotobiorreactores con capacidad de 150 mL⁻¹ y diámetro de 41mm, bajo un régimen de iluminación circadiano 12 h luz / 12 h oscuridad, con intensidad lumínica de 100 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, aireación continua, temperatura de 25°C y pulsos de CO₂ como fuente de carbono y para mantener estable el pH (Álvarez, 2016). El volumen de cultivo evaporado se reconstituyó con agua destilada cada 24 h, el volumen de cultivo extraído como muestra (6 mL) se reconstituyó con el sustrato respectivo cada 24h.

4.5 Determinación de concentración celular

La concentración celular se determinó cada 24 h, para lo cual se introdujo 10 μL de muestra homogénea en una cámara de Neubauer y se cuantificó las células presentes en las áreas: A, B, C y D (Figura 1).

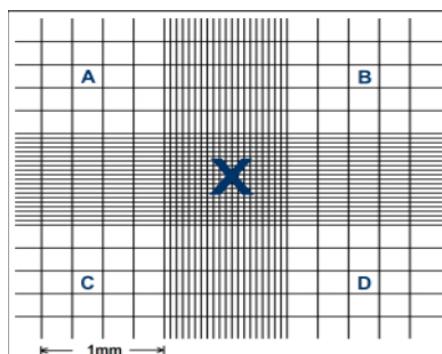


Figura 1. Reglilla de la cámara de Neubauer (Arredondo & Voltolina, 2007a)

Los cálculos se basaron en la ecuación:

$$C = N * 10^4 * dil$$

International Council for Standardization in Haematology (1998).

Siendo:

C= Células mL⁻¹

N= Promedio de células en 1 mm² (0,1 µL)

10⁴= Factor de conversión de 0,1 µL a 1 mL

dil = Factor de dilución

4.6 Determinación de la tasa de crecimiento específico

Se determinó al final del ensayo, a partir de los valores obtenidos de concentración celular, mediante la ecuación propuesta por (Arredondo & Voltolina, 2007b)

$$\mu = \frac{\ln(N_2 - N_1)}{t_2 - t_1}$$

Dónde N₂ y N₁ son los valores de densidad celular en los días en que el crecimiento se dio de forma exponencial (T₂ y T₁).

4.7 Determinación de peso seco

Se estimó cada 24 h, según el método de Zhu y Lee (1997), para lo cual se filtró 5 mL de cada cultivo (filtros a base de esteres de celulosa de 47 mm de diámetro y con un diámetro de poro de 0,45 µm "CHMLAB®", previamente secados a 80°C durante 24 h y pesados en balanza analítica) (Anexo 12), durante el filtrado se añadió 5 mL de formiato de amonio 5 mM para eliminar las sales contenidas en el agua residual; los filtros con biomasa fueron secados en una estufa a 80°C por 24 h y posteriormente pesados en balanza analítica. El peso seco corresponde a la diferencia entre el peso del filtro seco y el peso del filtro con biomasa seca, adicionalmente se le resto un valor correspondiente al peso seco de los sólidos en suspensión del agua residual.

4.8 Determinación de carbohidratos

El contenido de carbohidratos de la biomasa se determinó al final del ensayo, por el método de Dubois, Gilles, Hamilton, Rebers, y Smith (1956).

Se centrifugó 1 mL de biomasa, se desechó el sobrenadante y adicionó 1 mL de NaOH 1N al pellet. Posteriormente la muestra se sonicó a 20 kHz por 15 min a 4°C, y centrifugó nuevamente. Se transfirió 100 µL de sobrenadante a tubos de ensayo (por triplicado), se agregó 900 µL de agua destilada, 25 µL de fenol al 80%, se agitó y adicionó 2,5 mL de H₂SO₄ concentrado, se agitó inmediatamente y dejó enfriar a temperatura ambiente durante 30 min.

La determinación espectrofotométrica se realizó a 485 nm, los valores de absorbancia se interpolaron en base a la curva estándar de glucosa para obtener la concentración de carbohidratos (Anexo 1).

4.9 Determinación de proteínas

El contenido proteico de la biomasa de *Scenedesmus* se determinó al final del ensayo, por el método de Lowry, Rosebrough, Lewis, y Randall (1951) modificado por Herbert, Phipps, y Strange (1971).

Se tomaron 6 mg de biomasa seca y se agregó 2 mL de NaOH 1N, posteriormente se sonicó durante 15 minutos y se llevó a baño termostático a 95 - 100°C por 45 min. Las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y centrifugó durante 5 minutos. Se transfirió 100 µL de sobrenadante a tubos de ensayo (por triplicado), se adicionó 400 µL de agua destilada, 300 µL de NaOH 1N, 2 mL de solución Cu⁺² Tartrato saturada, 400 µL de Folin-Ciocalteu diluido (v/v) y se dejó reaccionar 30 min a temperatura ambiente.

La determinación espectrofotométrica se realizó a 750 nm, los valores de absorbancia obtenidos se interpolaron en base a la ecuación de la recta de la curva estándar de BSA (Albúmina de Suero Bovino), para obtener la concentración de proteínas (Anexo 2).

4.10 Determinación de lípidos

La extracción de lípidos se realizó por el método propuesto por Bligh y Dyer (1959): A 5 mg de biomasa seca se le adicionó 3mL de metanol y 1,5mL cloroformo v/v (2:1). La mezcla se sonicó 15 minutos en frío y se llevó a baño termostataado a 50°C por 30 min. Las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y centrifugó a 3900 rpm por 10 min, al sobrenadante se le agregó 1,5 mL de cloroformo y 1,5 mL de agua destilada, y agitó en vórtex hasta homogenización. Se centrifugó a 3900 rpm durante 5 min. La fase acuosa (superior) se retiró y a la fase orgánica se añadió 0,5 mL de acetona para eliminar material traza del agua, se dejó evaporar a totalidad con flujo de nitrógeno y re-suspendió en 1 mL de cloroformo.

La determinación espectrofotométrica del contenido de lípidos se realizó por el método de carbonización simple de Marsh y Weinstein (1966): 100 μ L de muestra repartida por triplicado en tubos de ensayo de vidrio, se evaporó. Posteriormente se adicionó 2 mL de H₂SO₄ concentrado y llevó a carbonización simple por 15 min a 200°C; se utilizó 2 mL de H₂SO₄ concentrado como blanco. Los tubos se enfriaron y se le añadieron 3 mL de agua destilada, se agitó en vórtex y dejó enfriar.

Las muestras fueron analizadas en espectrofotómetro a 375 nm, los valores de absorbancia obtenidos se interpolaron en base a la ecuación de la recta de la curva tripalmitina–cloroformo, para obtener la concentración de lípidos (Anexo 3).

4.11 Determinación del contenido de Nitrógeno y Fósforo.

La concentración de Nitrógeno Total se determinó con una adaptación del método de digestión de Persulfato (D'Elia & Steudler, 1977) y el contenido de PO₄³⁻ por el método del vanadato-molibdato (Tandon, Cescas, & Tyner, 1968), mediante el Fotómetro Lovibond MD600/MaxiDirect, siguiendo los protocolos establecidos en el manual del equipo (Anexo 15).

4.12 Análisis estadísticos

Las diferencias entre los cultivos de *Scenedesmus* spp., en BG11 y en los efluentes lácteos se determinó mediante análisis de varianza de una vía (ANOVA) y el test de comparaciones múltiples Tukey, con un nivel de significancia de $P \leq 0,05$ utilizando el programa *Prism* versión 8.3.1 de GraphPad Software, Inc®.

5. RESULTADOS

5.1 Crecimiento celular

El crecimiento de *Scenedesmus* spp, durante los once días de cultivo en BG11 y en efluentes lácteos, difirió significativamente ($p \leq 0,05$) (Anexo 4). La máxima concentración celular alcanzada fue de $5,7 \pm 0,9 \times 10^7$ cel mL⁻¹ en BG11; mientras que en DIWW llegó a $3,8 \pm 0,5 \times 10^7$ cel mL⁻¹ (Figura 2a).

Sin embargo, la tasa de crecimiento específico, no demostró diferencias significativas entre el control y el tratamiento ($p 0,1924$) (Anexo 5), siendo $\mu = 0,61 \pm 0,03$ d⁻¹ en BG11 y $\mu = 0,69 \pm 0,09$ d⁻¹ en el efluente lácteo (Figura 2b). La estimación se basó en los días 8-10 puesto que, en este periodo se evidenció la mayor pendiente en la curva de crecimiento.

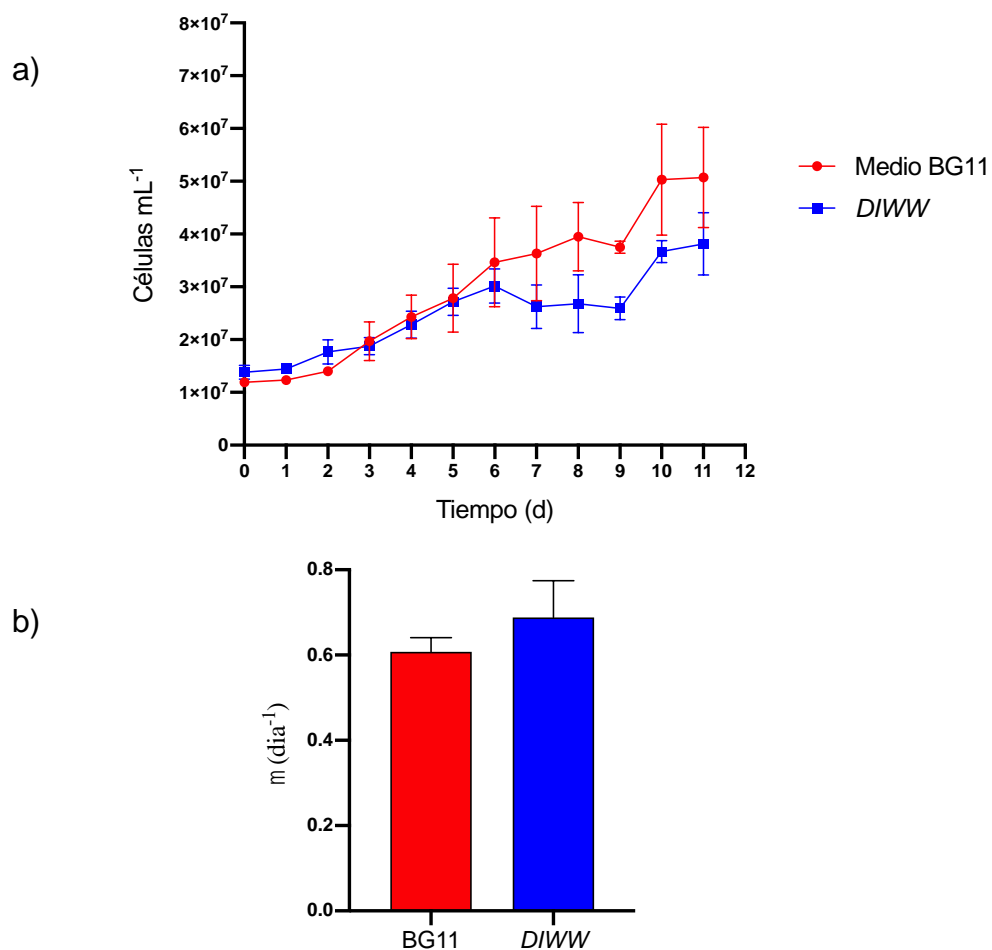


Figura 2. a) Curva de crecimiento de *Scenedesmus* spp., determinada como concentración de células mL⁻¹; en medio BG11 y en efluentes lácteos (DIWW). b) Tasa de crecimiento específico (μ) de la microalga en ambos sustratos de cultivo.

5.2 Producción de biomasa.

El peso seco de la biomasa de *Scenedesmus* spp., se estimó cada 24 h. Al finalizar el ensayo, se obtuvo una concentración de biomasa seca de $2,62 \pm 0,90 \text{ g L}^{-1}$ en el efluente lácteo, y $2,92 \pm 0,45 \text{ g L}^{-1}$ en BG11 (Figura 3). Los datos no mostraron diferencias significativas entre el control y el tratamiento (p 0,439) (Anexo 6).

De igual modo, la productividad de la biomasa, no presento diferencias significativas entre los sustratos de cultivo (p 0,320) (Anexo 7), siendo de $1,84 \pm 0,54 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ en agua residual de la industria láctea y $1,95 \pm 0,89 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ en BG11.

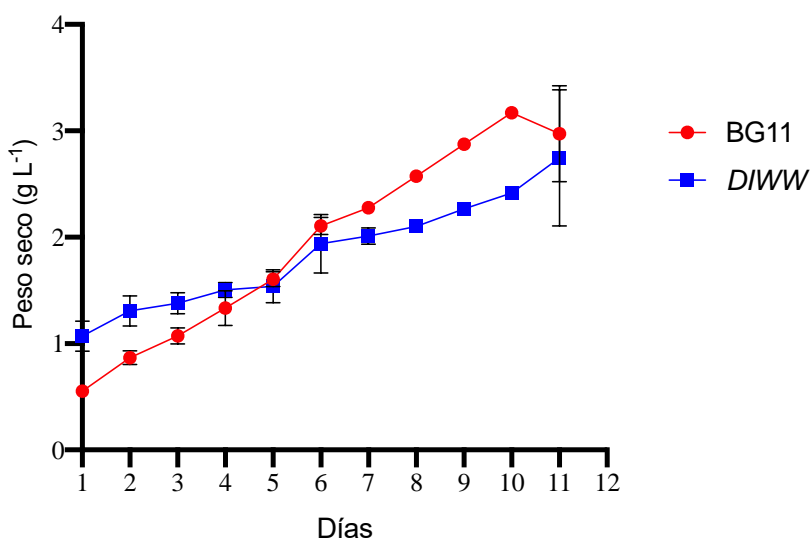


Figura 3. Peso de la biomasa seca de *Scenedesmus* spp, cultivada en agua residual de industrias lácteas (DIWW) y en medio estándar BG11.

5.3 Composición bioquímica de la biomasa

5.3.1 Carbohidratos totales.

El contenido de carbohidratos de la biomasa microalgal, fue similar entre los sustratos de cultivo, obteniendo $283,2 \pm 26,7 \text{ mg g}^{-1}$ en el control (BG11) y $272,8 \pm 10,4 \text{ mg g}^{-1}$ en el tratamiento (DIWW) (Figura 4). En consecuencia, no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de

carbohidratos (p 0,34) (Anexo 8), que representaron menos del 30% del total de biomasa seca.

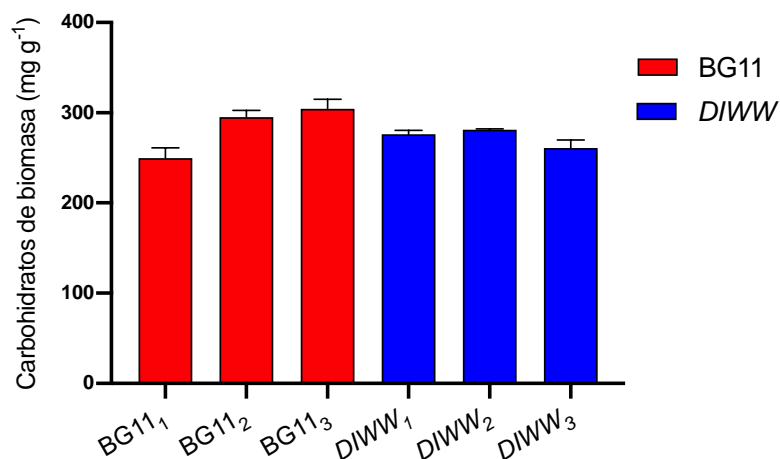


Figura 4. Concentración de carbohidratos de la biomasa de *Scenedesmus* spp., cosechada del medio BG11 (control) y efluentes de industrias lácteas DIWW.

5.3.2 Proteínas totales.

Respecto a la concentración de proteínas; la biomasa obtenida del medio BG11 registró un mayor contenido proteico, con $402,8 \pm 35,8$ mg g⁻¹, mientras que en el agua residual de industrias lácteas la concentración de proteínas fue de $307,7 \pm 16,8$ mg g⁻¹ (Figura 5), existiendo diferencias significativas entre el control y tratamiento ($p < 0,0001$), con un nivel de confianza de 0,05 (Anexo 9).

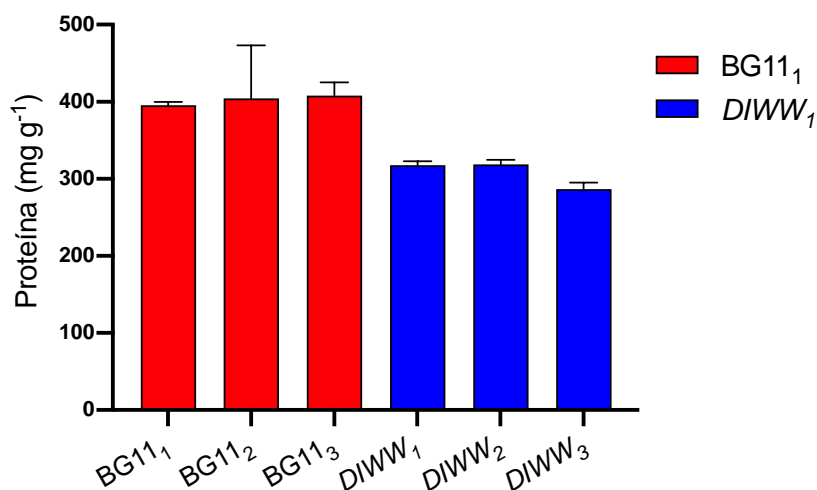


Figura 5. Contenido de proteínas del cultivo *batch* de *Scenedesmus* spp., en aguas residuales de una industria láctea y en el medio control (BG11).

5.3.3 Lípidos totales.

La biomasa de *Scenedesmus* spp., cultivada en agua residual de industrias lácteas presento una alta concentración de lípidos, respecto al control, con valores de $339,7 \pm 24,0 \text{ mg g}^{-1}$ y $223,2 \pm 19,3 \text{ mg g}^{-1}$ respectivamente (Figura 6). El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los sustratos de cultivo ($p 0,012$) (Anexo 10).

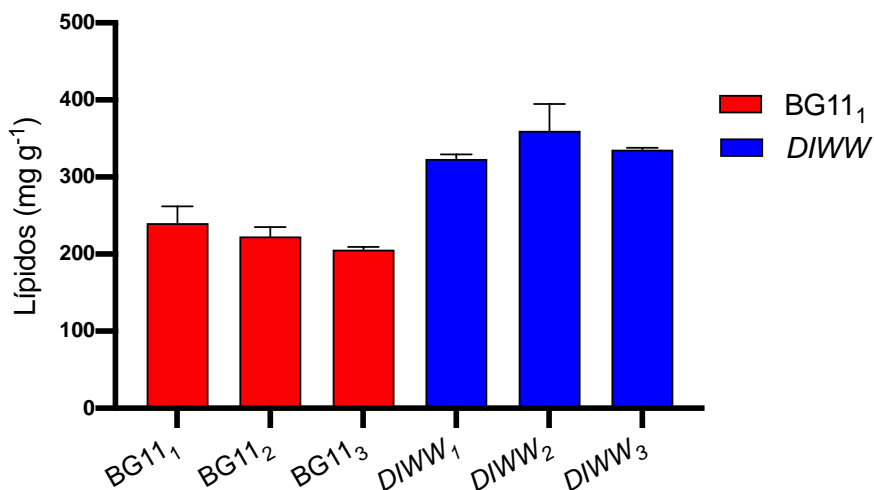


Figura 6. Concentración de lípidos de la biomasa de *Scenedesmus* spp., en los medios control (BG11) y tratamiento (DIWW).

5.4 Remoción de nutrientes

El efluente lácteo, cuyo contenido de nutrientes fue suplementado (2mL L^{-1} de fertilizante Bayfolan®) “DIWW” presentó una disminución del 85.2% de nitrógeno total y >96% del contenido de fosfatos, después de once días de cultivo con *Scenedesmus* spp. Así mismo, en el medio BG11 se asimiló el 75,8% del total de nitrógeno y más del 96% de fósforo (Tabla 3).

Tabla 3. Remoción de nutrientes en los medios de cultivo.

	DIWW	BG11
N	85,2%	75,8%
P	>96%	>96%

6 DISCUSIÓN

La composición de los efluentes de industrias lácteas varía considerablemente en cuanto a sus propiedades fisicoquímicas; dependiendo en gran medida del sistema de manejo y el producto final procesado por la industria (Marazzi et al., 2020); en consecuencia, el agua residual colectada para el presente ensayo se caracterizó por tener un bajo contenido de nitrógeno y fósforo (los nutrientes más requeridos por las microalgas) y pH ácido, estas características fueron corregidas previo a su uso como medio de cultivo, debido a los efectos inhibitorios que causan en *Scenedesmus*. (Difusa, Talukdar, Kalita, Mohanty, & Goud, 2015); Arjun et al.,(2018), realizaron correcciones similares en este tipo de efluente, utilizando urea como fuente de nitrógeno.

Los resultados obtenidos en este estudio, muestran que existió una limitación en el crecimiento de *Scenedesmus* spp., cultivada en DIWW, que se reflejó en la concentración celular, siendo inferior al control en un 24,8%. Choi, Jang, & Kan, (2018) mencionaron que en el cultivo fotoautotrófico de microalgas en efluentes de industrias lácteas, suele producirse inhibición en el crecimiento debido a la turbidez del agua residual, que interviene en la disponibilidad de luz.

Sin embargo, la tasa de crecimiento específico (fase exponencial) no difirió significativamente entre el control ($\mu = 0,61 \pm 0,03 \text{ d}^{-1}$) y el tratamiento ($\mu = 0,69 \pm 0,09 \text{ d}^{-1}$), además está dentro del rango reportado por Sforza, Gris, De Farias Silva, Morosinotto, y Bertucco, (2014), para *Scenedesmus obliquus* en BG11 que va de $0,48 - 0,86 \text{ d}^{-1}$ (Irradiancia entre $50-150 \mu\text{mol m}^2 \text{ s}^{-1}$).

Por otro lado, a pesar de que la concentración celular es significativamente menor en el agua residual que en el control, el peso seco de la biomasa no presentó diferencias significativas entre ambos, siendo de $2,62 \pm 0,90 \text{ g L}^{-1}$ en el efluente lácteo, y $2,92 \pm 0,45 \text{ g L}^{-1}$ en BG11, lo que sugiere que, en el agua residual *Scenedesmus* tuvo mayor intracelular (ejerciendo un peso), concordando con lo observado por Hena et al., (2015) en consorcios microalgales, cultivados en efluentes lácteos; su estudio reporta un aumento

del contenido celular interno compensando la disminución del número de células de algas.

Este hecho se evidenció en el cambio morfológico producido en la microalga mantenida en los efluentes lácteos (Figura 7). Quevedo, Sonia, y Acosta, (2008) mencionan que *Scenedesmus* tiende a producir un aumento de la relación superficie-volumen, haciéndose esféricas para favorecer la captación de luz y nutrientes.

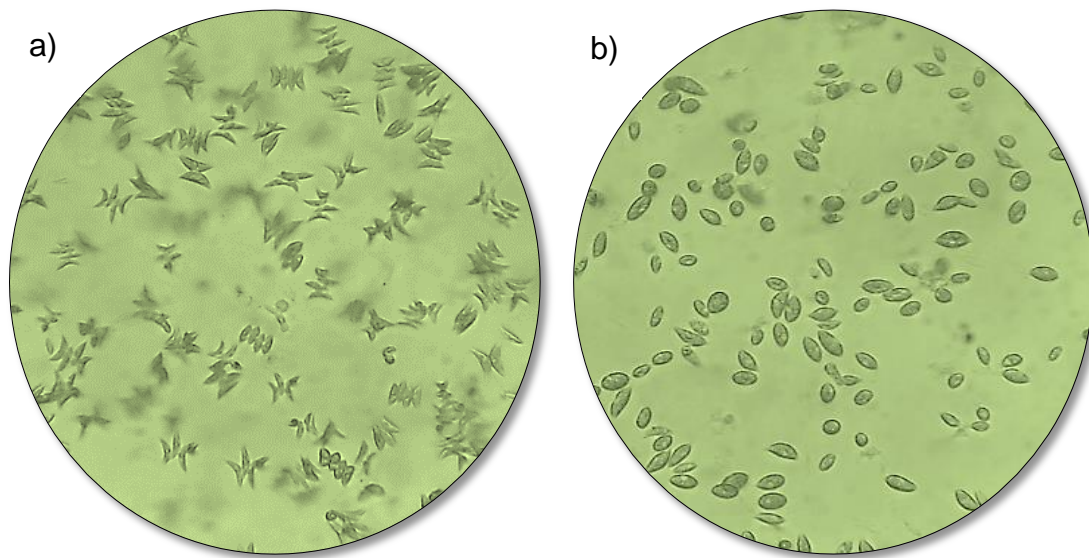


Figura 7. Microfotografía de *Scenedesmus* spp., observada a 40X. a) cepa cultivada en BG11. b) cepa cultivada en agua residual de una industria láctea.

La productividad de biomasa varía de acuerdo a la cepa microalgal y las características del medio en que se desarrolla; sin embargo, se ha reportado para microalgas cultivadas en efluentes lácteos, productividades máximas de $0,26 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$ en condiciones de laboratorio y $0,11 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$ en cultivos exteriores (H. Choi, 2017).

Hena *et al.*, (2015), reportaron que la productividad de *Scenedesmus* en este tipo de efluente, a escala laboratorio fue de $0,21 \pm 0,91 \text{ gL}^{-1} \text{ d}^{-1}$, bajo una intensidad lumínica de $80 \mu\text{mol fotón m}^2 \text{ s}^{-1}$; difiriendo con los resultados obtenidos en el presente estudio, que reflejaron una productividad significativamente mayor, de $1,84 \pm 0,54 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ en once días de cultivo,

debido principalmente al efecto de la suplementación nutricional del agua residual, combinada con una mayor intensidad lumínica ($100 \mu\text{mol fotón m}^2 \text{s}^{-1}$) y mayor inóculo inicial ($1,1 \times 10^7$ células mL^{-1}).

La composición bioquímica de *Scenedesmus* spp., en los cultivos mantenidos en aguas residuales de industrias lácteas, presento un contenido de carbohidratos, proteínas y lípidos de 27, 31 y 35% respectivamente, difiriendo significativamente con el control, en las concentraciones de proteínas (40%) y lípidos (22%), indicando un cambio en el flujo de carbono que favoreció la síntesis de lípidos.

Estos resultados coinciden con lo reportado por Arjun et al., (2018), quienes obtuvieron un contenido similar de lípidos (36%) en *Scenedesmus* cultivada en agua residual de industrias lácteas. Li, Hu, Gan, et al., (2010) explicaron que el aumento de lípidos son una respuesta normal a condiciones de estrés.

Naturalmente la síntesis de lípidos está dirigida a la formación de glicerolípidos de membrana y corresponde a un 5-20% de la biomasa, sin embargo, bajo condiciones de estrés (limitación de nutrientes, inadecuada intensidad lumínica, térmica u otros), se estimula la hidrólisis de fosfolípidos, produciendo disminución de la membrana tilacoide y aumento de ácidos grasos en la microalga, que son convertidos principalmente en triglicéridos y almacenados como fuente de energía (Li, Hu, Gan, et al., 2010; Rearte, 2016).

Los análisis del agua residual posteriores al cultivo, reflejaron una disminución considerablemente de nitrógeno y fósforo luego de once días, removiéndose el 85.2% de nitrógeno y más del 96% de fósforo, en un ratio N:P de 12.2. Por su parte Li, Hu, Gan, y Sun (2010), mencionaron que *Scenedesmus* remueve eficientemente estos nutrientes (>99%) bajo una relación N:P adecuada, que según su estudio está por debajo de 12:1.

(Marazzi et al., 2020) indican una remoción del 88% de nitrógeno y 69% de fósforo por *Scenedesmus* en un sistema de cultivo constituido por efluentes lácteos, obteniendo además una disminución de la DQO, y otros

contaminantes, por debajo de los límites permisibles para su descarga . Estos resultados se atribuyen a una sinergia entre la microalga y las bacterias propias del efluente. Puesto que las bacterias utilizan el oxígeno proporcionado por las microalgas para degradar materia orgánica, mientras que las microalgas utilizan en CO₂ liberado por las bacterias como fuente de carbono (Tricolici, Bumbac, Patroescu, & Postolache, 2014). (Rawat, Ranjith Kumar, Mutanda, & Bux, 2013).

7 CONCLUSIONES

El proceso de adaptación de *Scenedesmus* a las condiciones del agua residual, produjo una serie de cambios fisiológicos y morfológicos que se vieron reflejados en el crecimiento, productividad y composición bioquímica de la biomasa.

El crecimiento de *Scenedesmus* spp., en el efluente lácteo fue un 24,8% inferior al control. Sin embargo, la productividad de biomasa se mantuvo, siendo de $1,84 \pm 0,54 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ en DIWW y $1,95 \pm 0,89$ en BG11, debido a la tendencia de acumular contenido intracelular bajo condiciones de estrés.

El cultivo de *Scenedesmus* spp., en DIWW incidió en el flujo de carbono de la biomasa, provocando una mayor síntesis de lípidos (34% del total de biomasa seca), como consecuencia de estrés fisiológico. Las proteínas y carbohidratos representaron el 31% y 27% respectivamente.

Las aguas residuales de industrias lácteas, con correcciones en su composición, representan un medio de cultivo factible para *Scenedesmus* spp.

Al finalizar el cultivo, se redujo el 85,2% de nitrógeno total y >96% de fósforo en el efluente lácteo. Estos resultados muestran el potencial de *Scenedesmus* spp., en la remoción de nutrientes, siendo una alternativa de tratamiento de remediación de aguas residuales de industrias lácteas.

8 RECOMENDACIONES

Estimar la productividad de biomasa de *Scenedesmus* spp., cultivada en agua residual de industrias lácteas en sistemas de cultivo continuos.

Evaluar la factibilidad económica del uso de fertilizantes agrícolas para potenciar el crecimiento y productividad de *Scenedesmus* spp., en aguas residuales de industrias lácteas.

Examinar la digestibilidad y toxicología de la biomasa de *Scenedesmus* spp, cosechada de este tipo de efluente, para determinar su posible aplicación como fuente de alimento pecuario.

Analizar el perfil lipídico de la biomasa de *Scenedesmus* spp, cultivada en efluentes de industrias lácteas.

Determinar la acción depuradora de la microalga en los efluentes de industrias lácteas, considerando la DQO, la relación N:P y la concentración de inóculo en diferentes periodos de tiempo.

Identificar molecularmente la especie de *Scenedesmus*.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ación, F. G., Fernández, J. M., Magán, J. J., & Molina, E. (2012). Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it. *Biotechnology Advances*, 30(6), 1344–1353.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.02.005>
- Ación, F. G., Fernández, J., & Molina, E. (2013). Photobioreactors for the production of microalgae. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 12(2), 131–151. <https://doi.org/10.1007/s11157-012-9307-6>
- Allen, M. M. (1968). Simple Conditions for Growth of Unicellular Blue-Green Algae on Plates. *Journal of Phycology*, 4(1), 1–4.
<https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1968.tb04667.x>
- Álvarez, X. (2016). *Modulación de la producción y caracterización estructural de los exopolisacáridos en cianobacterias diazotróficas, y estudio de su utilización para el tratamiento del digestato líquido de la digestión anaeróbica de efluentes de una procesadora de pescado*. Universidad de Santiago de Compostela.
- Arbib, Z., Ruiz, J., Álvarez, P., Garrido, C., Barragan, J., & Perales, J. A. (2013). Relación N:P Photobiotreatment: Influence of Nitrogen and Phosphorus Ratio in Wastewater on Growth Kinetics of *Scenedesmus Obliquus*. *International Journal of Phytoremediation*, 15(8), 774–788.
<https://doi.org/10.1080/15226514.2012.735291>
- Arjun, A., Saravanan, G., Banupriya, R., & Elumalai, S. (2018). Production of Omega 3 Fatty Acids and Phycoremediation of Dairy Industrial Effluents from Ambattur Region, Tamil Nadu, India. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 09(05), 2–6. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000453>
- Arredondo, B., & Voltolina, D. (2007a). Concentración, recuento celular y tasa de crecimiento. In *Métodos y Herramientas Analíticas en la Evaluación de la Biomasa Microalgal* (p. 10). Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/253237563>
- Arredondo, B., & Voltolina, D. (2007b). *Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal* (p. 97). p. 97. La Paz, México: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste.

- Bligh, E., & Dyer, W. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917.
- Borowitzka, M., Beardall, J., & Raven, J. (2016). The Physiology of Microalgae. In M. A. Borowitzka, J. Beardall, & J. A. Raven (Eds.), *Plant Science* (Vol. 180). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24945-2>
- Choi, H. (2017). Dairy wastewater treatment using microalgae for potential biodiesel application. *Environmental Engineering Research*, 21(4), 393–400. <https://doi.org/10.4491/eer.2015.151>
- Choi, Y. K., Jang, H. M., & Kan, E. (2018). Microalgal Biomass and Lipid Production on Dairy Effluent Using a Novel Microalga, *Chlorella* sp. Isolated from Dairy Wastewater. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 23(3), 333–340. <https://doi.org/10.1007/s12257-018-0094-y>
- Cookson, N., Cookson, S., Ferry, M., & Klonik, M. (2015). *Microalgae facility for integrated treatment of dairy wastewater*.
- D'Elia, C., & Steudler, P. (1977). Determination of total nitrogen in samples using persulfate digestion. *Limnology and Oceanography*, 22(4), 760–764. <https://doi.org/10.4319/lo.1977.22.4.0760>
- Difusa, A., Talukdar, J., Kalita, M. C., Mohanty, K., & Goud, V. V. (2015). Effect of light intensity and pH condition on the growth, biomass and lipid content of microalgae *Scenedesmus* species. *Biofuels*, 6(1–2), 37–44. <https://doi.org/10.1080/17597269.2015.1045274>
- Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J., Rebers, A., & Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Ge, S., Champagne, P., Plaxton, W., Leite, G., & Marazzi, F. (2016). Microalgal cultivation with waste streams and metabolic constraints to triacylglycerides accumulation for biofuel production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 11(2), 325–343. <https://doi.org/10.1002/bbb>
- Granda, G. (2015). *Producción de Astaxantina a partir de la microalga Haematococcus Pluvialis*. Universidad de Las Américas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias.

- Hena, S., Fatimah, S., & Tabassum, S. (2015a). Cultivation of algae consortium in a dairy farm wastewater for biodiesel production. *Water Resources and Industry*, 10, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.wri.2015.02.002>
- Herbert, D., Phipps, P. J., & Strange, R. E. (1971). Chemical Analysis of Microbial Cells. *Methods in Microbiology*, 5, 209–344. [https://doi.org/10.1016/S0580-9517\(08\)70641-X](https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70641-X)
- International Council for Standardization in Haematology. (1998). Recommended methods for the visual determination of white blood cell count and platelet counts. *Labmedica*, 4, 25–36.
- Khemka, A., & Saraf, M. (2015). Phycoremediation of dairy wastewater coupled with biomass production using *Leptolyngbya* sp. *Journal of Environmental Science and Water Resources*, 4(3), 104–111.
- Labbé, J. I., Ramos, J. L., Hernández, A., Baeza, A., & Hansen, F. (2017). Microalgae growth in polluted effluents from the dairy industry for biomass production and phytoremediation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(1), 635–643. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.12.040>
- Li, X., Hu, H., Gan, K., & Sun, Y. (2010). Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. *Bioresource Technology*, 101(14), 5494–5500. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.016>
- Li, X., Hu, H., & Yang, J. (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. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2009.11.006>
- Lowry, O., Rosebrough, N., Lewis, A., & Randall, R. (1951). Protein measurement with the folin-phenol reagent. *Biological Biochemistry*, 193, 265–275.
- Macías, D. (2019). *Efecto de la salinidad y ph en la composición bioquímica de la microalga scenedesmus sp. (ugb-rj-3009) en cultivos discontinuos*. Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Naturales.
- Marazzi, F., Bellucci, M., Fantasia, T., Ficara, E., & Mezzanotte, V. (2020).

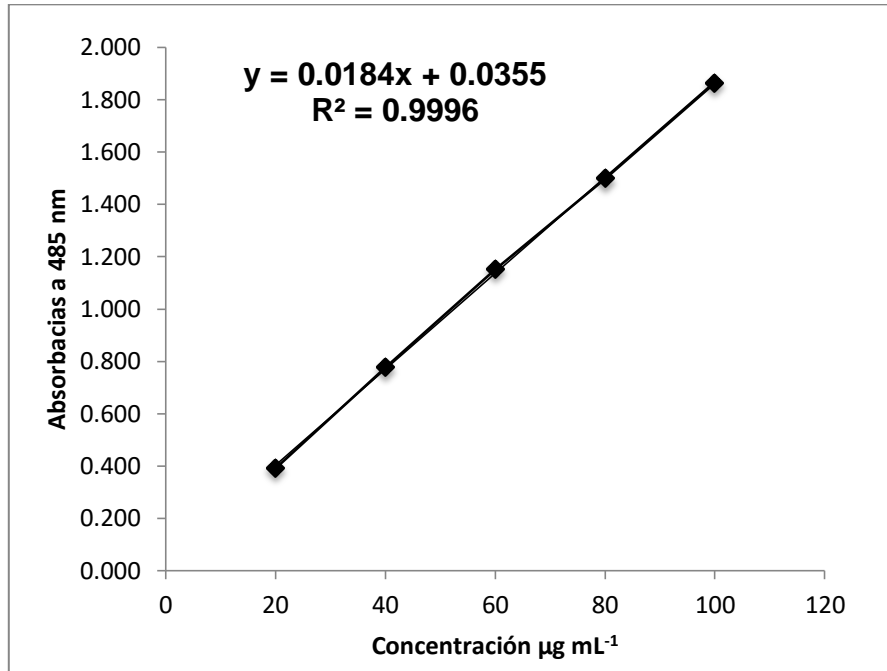
- Interactions between Microalgae and Bacteria in the Treatment of Wastewater from Milk Whey Processing. *Water (Switzerland)*, 12, 297. <https://doi.org/10.3390/w12010297>
- Marsh, J., & Weinstein, D. (1966). Simple charring method for determination of lipids. *Journal of Lipid Research*, 7(4), 574–576.
- Niccolai, A., Zittelli, G., Rodolfi, L., Biondi, N., & Tredici, M. (2019). Microalgae of interest as food source: Biochemical composition and digestibility. *Algal Research*, 42, 19. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101617>
- Nurmayani, S., Sugiarti, Y., & Putra, R. H. (2016). Utilization of industrial dairy waste as microalgae cultivation medium : a potential study for sustainable energy resources. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 128(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/128/1/012033>
- Oswald, W., Gotaas, H., Golueke, C., Kellen, W., Gloyna, E., & Hermann, E. (1957). Algae in Waste Treatment. *Sewage and Industrial Wastes*, 29(4), 437–457.
- Quevedo, C., Sonia, M., & Acosta, A. (2008). Crecimiento de *Scenedesmus* sp en diferentes medios de cultivo para la producción de proteína microalgal. *Vitae, Revista de La Fac. de Medicina Farmaceutica*, 15(1), 25–31.
- Ramaraj, R., Dussadee, N., Whangchai, N., & Unpaprom, Y. (2015). Microalgae biomass as an alternative substrate in biogas production Microalgae biomass as an alternative substrate in biogas production. *International Journal of Sustainable and Green Energy*, 4((1)), 13–19. <https://doi.org/10.11648/j.ijrse.s.2015040101.13>
- Ramaraj, R., Tsai, D. D. W., & Chen, P. H. (2014). An exploration of the relationships between microalgae biomass growth and related environmental variables. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 135, 44–47. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.04.001>
- Rawat, I., Ranjith Kumar, R., Mutanda, T., & Bux, F. (2013). Biodiesel from microalgae: A critical evaluation from laboratory to large scale production. *Applied Energy*, 103, 444–467. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.10.004>
- Rearte, T. (2016). *Acumulación de lípidos y biosorción de metales en*

microalgas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

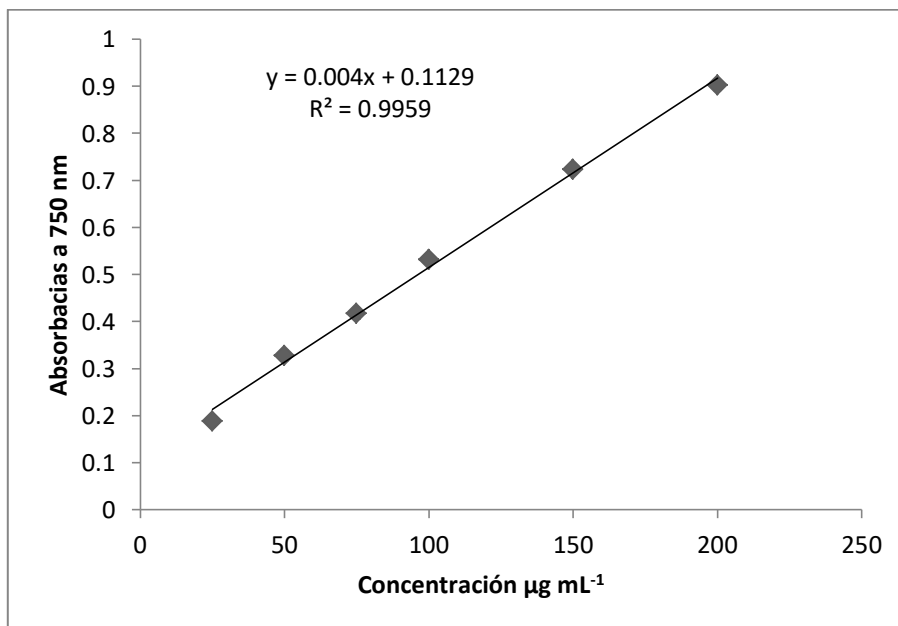
- Sforza, E., Gris, B., De Farias Silva, C. E., Morosinotto, T., & Bertucco, A. (2014). Effects of light on cultivation of *scenedesmus obliquus* in batch and continuous flat plate photobioreactor. *Chemical Engineering Transactions*, 38, 211–216. <https://doi.org/10.3303/CET1438036>
- Silveira, Y., Gómez, L., Kufundala, M., Salazar, D., & Ortega, Y. (2018). Variación de la composición de pigmentos de *Chlorella vulgaris* Beijerinck, con la aplicación del campo magnético estático. *Revista Cubana de Química*, 30(1), 55–67.
- Swetha, C., Sirisha, K., Swaminathan, D., & Sivasubramanian, V. (2016). Study on the treatment of dairy effluent using *chlorella vulgaris* and production of biofuel (Algal treatment of dairy effluent). *BioTechnology An Indian Journal FULL*, 12(1), 12–17.
- Tandon, H., Cescas, M., & Tyner, E. (1968). An Acid-Free Vanadate-Molybdate Reagent for the Determination of Total Phosphorus in Soils. *Vladikavkaz Mathematical Journal*, 32(1), 48.
- Tirado, D., Gallo, L., Acevedo, D., & Mouthon, J. (2016). Biotratamientos de aguas residuales en la industria láctea. *Producción + Limpia*, 11(1), 171–184. <https://doi.org/10.22507/pml.v11n1a16>
- Tricolici, O., Bumbac, C., Patroescu, V., & Postolache, C. (2014). Dairy wastewater treatment using an activated sludge-microalgae system at different light intensities. *Water Science and Technology*, 69(8), 1598–1605. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.752>
- Zhu, C. J., & Lee, Y. K. (1997). Determination of biomass dry weight of marine microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 9(2), 189–194. <https://doi.org/10.1023/A:1007914806640>

10. ANEXOS

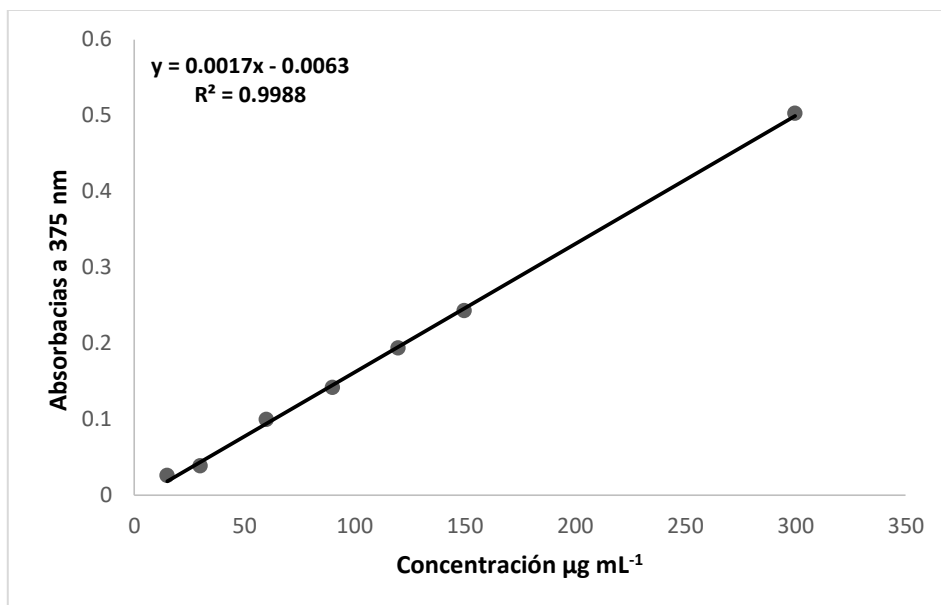
Anexo 1. Curva patrón para la determinación de carbohidratos en base a una solución de glucosa



Anexo 2. Curva patrón para la determinación de proteínas en base a una solución con Albúmina de Suero Bovino (ASB)



Anexo 3. Curva patrón para la determinación de lípidos en base a una solución de tripalmitina-cloroformo



Anexo 4. ANOVA de una vía (p 0,05) del crecimiento de *Scenedesmus* spp., cultivada en aguas residuales de una industria láctea y en medio estándar BG11.

RM one-way ANOVA of Data 52: ANOVA results

	Data Set-A	Data Set-B	Data Set-C	Data Set-D	Data Set-E
Table Analyzed	Data 52				
Repeated measures ANOVA summary					
Assume sphericity?	No				
F	7.312				
P value	0.0064				
P value summary	**				
Statistically significant (P < 0.05)?	Yes				
Geisser-Greenhouse's epsilon	0.5596				
R squared	0.3993				
Was the matching effective?					
F	22.44				
P value	<0.0001				
P value summary	****				
Is there significant matching (P < 0.05)?	Yes				
R squared	0.8179				
ANOVA table					
	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	3.349e+014	3	1.116e+014	F (1.679, 18.47) = 7.312	P=0.0064
Individual (between rows)	3.768e+015	11	3.425e+014	F (11, 33) = 22.44	P<0.0001
Residual (random)	5.038e+014	33	15266291309230		
Total	4.606e+015	47			
Data summary					
Number of treatments (columns)	4				
Number of subjects (rows)	12				
Number of missing values	0				

Anexo 5. Análisis de las diferencias significativas ($p < 0,05$) de las tasas de crecimiento de *Scenedesmus* spp., en BG11 y en efluentes lácteos.

Paired t test of Growth rate SA

	Data Set-A
Table Analyzed	Growth rate SA
Column B	<i>DIWW</i>
vs.	vs.
Column A	BG11
Paired t test	
P value	0.1924
P value summary	ns
Significantly different (P < 0.05)?	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=1.566, df=4
Number of pairs	5
How big is the difference?	
Mean of differences (B - A)	0.08182
SD of differences	0.1168
SEM of differences	0.05225
95% confidence interval	-0.06326 to 0.2269
R squared (partial eta squared)	0.3800
How effective was the pairing?	
Correlation coefficient (r)	-0.9115
P value (one tailed)	0.0156
P value summary	*
Was the pairing significantly effective?	Yes

Anexo 6. Análisis de las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) del peso seco de la biomasa de *Scenedesmus* spp., en BG11 y en efluentes lácteos.

Paired t test of Final Dry-weight

	Data Set-A
Table Analyzed	Final Dry-weight
Column B	<i>DIWW</i>
vs.	vs.
Column A	BG11
Paired t test	
P value	0.4397
P value summary	ns
Significantly different (P < 0.05)?	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=0.8046, df=10
Number of pairs	11
How big is the difference?	
Mean of differences (B - A)	-0.1024
SD of differences	0.4222
SEM of differences	0.1273
95% confidence interval	-0.3861 to 0.1812
R squared (partial eta squared)	0.06081
How effective was the pairing?	
Correlation coefficient (r)	0.9709
P value (one tailed)	<0.0001
P value summary	****
Was the pairing significantly effective?	Yes

Anexo 7. Análisis de las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) de la productividad de biomasa de *Scenedesmus* spp., en BG11 y en efluentes lácteos.

Paired t test of Productivity-final	
	Data Set-A
Table Analyzed	Productivity-final
Column B	DIWW
vs.	vs.
Column A	BG11
Paired t test	
P value	0.3206
P value summary	ns
Significantly different ($P < 0.05$)?	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=1.309, df=2
Number of pairs	3
How big is the difference?	
Mean of differences (B - A)	-0.1000
SD of differences	0.1323
SEM of differences	0.07638
95% confidence interval	-0.4286 to 0.2286
R squared (partial eta squared)	0.4615
How effective was the pairing?	
Correlation coefficient (r)	-0.1147
P value (one tailed)	0.4634
P value summary	ns
Was the pairing significantly effective?	No

Anexo 8. ANOVA de una vía, de las concentraciones de carbohidratos en biomasa de *Scenedesmus* spp., cultivada en aguas residuales de una industrias láctea y en BG11.

Ordinary one-way ANOVA of CHO 100% DIWW:ANOVA results

	Data Set-A	Data Set-B	Data Set-C	Data Set-D	Data Set-E
Table Analyzed	CHO 100% DIWW				
Data sets analyzed	A-D				
ANOVA summary					
F	1.274				
P value	0.3471				
P value summary	ns				
Significant diff. among means ($P < 0.05$)?	No				
R squared	0.3233				
Brown-Forsythe test					
F (DFn, DFd)	1.186 (3, 8)				
P value	0.3747				
P value summary	ns				
Are SDs significantly different ($P < 0.05$)?	No				
Bartlett's test					
Bartlett's statistic (corrected)					
P value					
P value summary					
Are SDs significantly different ($P < 0.05$)?					
ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	917.2	3	305.7	F (3, 8) = 1.274	P=0.3471
Residual (within columns)	1920	8	239.9		
Total	2837	11			
Data summary					
Number of treatments (columns)	4				
Number of values (total)	12				

Anexo 9. ANOVA de una vía, aplicado a las concentraciones de proteínas en biomasa de *Scenedesmus* spp., en los medios: control y tratamiento.

Ordinary one-way ANOVA of PRo 100% DIWW:ANOVA results

	Data Set-A	Data Set-B	Data Set-C	Data Set-D	Data Set-E
Table Analyzed	PRo 100% DIWW				
Data sets analyzed	A-D				
ANOVA summary					
F	167.8				
P value	<0.0001				
P value summary	****				
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes				
R squared	0.9844				
Brown-Forsythe test					
F (DFn, DFd)	0.1467 (3, 8)				
P value	0.9289				
P value summary	ns				
Are SDs significantly different (P < 0.05)?	No				
Bartlett's test					
Bartlett's statistic (corrected)					
P value					
P value summary					
Are SDs significantly different (P < 0.05)?					
ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	22317	3	7439	F (3, 8) = 167.8	P<0.0001
Residual (within columns)	354.6	8	44.32		
Total	22671	11			
Data summary					
Number of treatments (columns)	4				
Number of values (total)	12				

Anexo 10. ANOVA de una vía, aplicado a las concentraciones de lípidos en biomasa de *Scenedesmus* spp., en los medios: control y tratamiento.

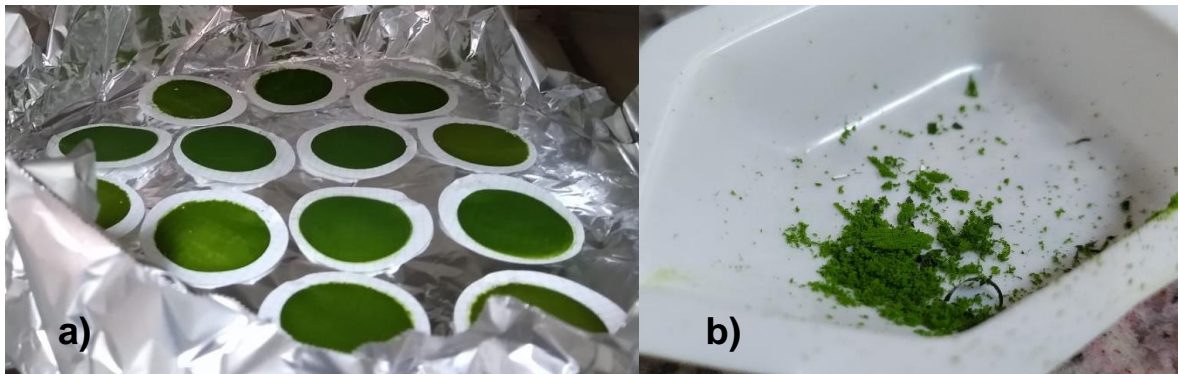
Ordinary one-way ANOVA of Lipid 100% DIWW:ANOVA results

	Data Set-A	Data Set-B	Data Set-C	Data Set-D	Data Set-E
Table Analyzed	Lipid 100% DIWW				
Data sets analyzed	A-D				
ANOVA summary					
F	7.043				
P value	0.0124				
P value summary	*				
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes				
R squared	0.7254				
Brown-Forsythe test					
F (DFn, DFd)	0.8849 (3, 8)				
P value	0.4889				
P value summary	ns				
Are SDs significantly different (P < 0.05)?	No				
Bartlett's test					
Bartlett's statistic (corrected)					
P value					
P value summary					
Are SDs significantly different (P < 0.05)?					
ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	44633	3	14878	F (3, 8) = 7.043	P=0.0124
Residual (within columns)	16900	8	2112		
Total	61533	11			
Data summary					
Number of treatments (columns)	4				
Number of values (total)	12				

Anexo 11. Colecta del agua residual de una industria láctea, utilizada como sustrato de cultivo de *Scenedesmus* spp. b) Drenaje de efluentes de la industria láctea.



Anexo 12. a) Filtros con biomasa de *Scenedesmus* spp., en proceso de secado. b) Biomasa seca de *Scenedesmus* spp.



Anexo 13. Sistema de cultivo *batch* de *Scenedesmus* spp., en fotobiorreactores.



Anexo 14. Proceso de determinación de lípidos (extracción clorofórmica mezclándose con ácido sulfúrico concentrado).



Anexo 15. Determinación del contenido de nitrógeno y fósforo del efluente lácteo.

