

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES



**“PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS DE MICROALGAS A
TRAVÉS DE LA REUTILIZACIÓN DE NUTRIENTES DE
RESIDUOS AGROALIMENTARIOS”**

Presentada por:

MARCO ALBERTO MAMANI CONDORI

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE EN CIENCIAS AMBIENTALES**

Lima – Perú

2023

PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS DE MICROALGAS A TRAVÉS DE LA REUTILIZACIÓN DE NUTRIENTES DE RESIDUOS AGROALIMENTARIOS

INFORME DE ORIGINALIDAD

12%

INDICE DE SIMILITUD

11%

FUENTES DE INTERNET

6%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
2	innovacionumh.es Fuente de Internet	1%
3	www.scielo.org.mx Fuente de Internet	1%
4	ebin.pub Fuente de Internet	<1%
5	Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante	<1%
6	eprints.uanl.mx Fuente de Internet	<1%
7	es.scribd.com Fuente de Internet	<1%
8	dokumen.pub Fuente de Internet	<1%

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**“PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS DE MICROALGAS A
TRAVÉS DE LA REUTILIZACIÓN DE NUTRIENTES DE
RESIDUOS AGROALIMENTARIOS”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE**

Presentada por:

MARCO ALBERTO MAMANI CONDORI

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ph.D. Lisveth Flores del Pino

PRESIDENTE

Mg.Sc. Rosa María Miglio Toledo

ASESORA

Dr. Ronald Demetrio Navarro Oviedo

CO-ASESOR

Mg.Sc. Juan Carlos Palma

MIEMBRO

Dra. Rosemary Vela Cardich

MIEMBRO

DEDICATORIA

Esta investigación está dirigido a las personas que amo en mi vida, Marco Simión Mamani Villas, Lucero Nicol Guzmán Mamani, Margot Elizabeth Villas Gutierrez, Marlyn Mamani Condori, Rosa Condori Sullasi y Francisco Fortunato Mamani Ramos, grandes seres que mostraron su apoyo incondicional en cada momento y vuestra existencia es mi gran motivo esencial para seguir triunfando.

AGRADECIMIENTO

A la Mg. Sc. Rosa María Miglio Toledo y al Dr. Ronald Demetrio Navarro Oviedo por sus grandes enseñanzas, asesorías e ideas.

En especial agradezco con gran amor a Dios, mi familia y mis hijos, por ser el eje motivador, imprescindible en mi búsqueda de la profesión de Ingeniería Ambiental e Ingen. de Seguridad.

"Si he hecho descubrimientos invaluables ha sido más por tener paciencia que cualquier otro talento"

Isaac New

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 MARCO NORMATIVO DE LA GESTIÓN DE RESIDUOS SÓLIDOS	3
2.1.1 Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos, Decreto Legislativo N° 1278	3
2.1.1.1 Artículo 5 – Principios.....	3
2.1.1.2 Artículo 37 – Valorización	3
2.1.1.3 Artículo 51 – Valorización de residuos orgánicos municipales	3
2.1.2 Nueva Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos, Ley N° 27314, D.L. N° 1278.....	3
2.2 RESIDUOS AGROALIMENTARIOS	4
2.2.1 Generación de residuos agroalimentarios.....	4
2.2.2 Residuos de frutas	5
2.2.3 Caracterización de residuos agroalimentarios	6
2.2.4 Impacto ambiental de la disposición de residuos agroalimentarios	7
2.2.5 Gestión de los residuos agroalimentarios.....	7
2.2.6 Reutilización de los residuos agroalimentarios	7
2.3 MICROALGAS	8
2.3.1 Microalgas fotosintéticas	8
2.3.2 Producción de biomasa de microalgas	9
2.3.2.1 Producción autotrófica.....	9
2.3.2.2 Producción heterotrófica	9
2.3.2.3 Producción mixotrófica.....	9
2.3.3 Variación en la composición de nutrientes	9
2.4 MICROALGAS Y RESIDUOS AGROALIMENTARIOS	10
2.4.1 Microalgas en aguas residuales.....	10

3.5.2.1 Muestreo del material biológico	26
3.5.2.2 Selección de microalgas con potencial de adaptación en RFP.....	27
3.5.2.3 Screening de microalgas.....	27
3.5.3 Generación del subproducto líquido de fruta (SLF) y evaluación del crecimiento de microalgas en SLF	27
3.5.3.1 Generación del SLF a partir del RFP.....	27
3.5.3.2 Evaluación del cultivo de microalgas en formulaciones de SLF	28
3.5.3.3 Cinética de crecimiento de <i>Chlorella</i> sp.	28
3.5.4. Producción de lípidos de microalgas en las mejores condiciones de crecimiento.....	28
3.5.4.1 Diseño del fotobiorreactor	28
3.5.4.2 Producción de lípidos en microalgas.....	29
3.5.4.3 Cuantificación de la concentración de lípidos.....	30
3.5.4.4 Estimación de aceites a gran escala	30
3.5.5 Caracterización del SLF y determinación de eficiencia de remoción de la carga de nutrientes	30
3.5.5.1 Determinación del consumo de DQO, nitrato, fosfato y sulfato.....	30
3.5.5.2 Caracterización fisicoquímica del SLF al 100 por ciento y 10 por ciento	31
3.5.5.3 Remoción del contenido de nutrientes del SLF al 10 por ciento	31
3.5.6 Análisis estadístico	31
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
4.1 Determinación de la caracterización fisicoquímica de RFP	32
4.2 Evaluación de la adaptación de microalgas en RFP.....	34
4.3 Generación de SLF y evaluación del crecimiento de microalgas	35
4.4 Cultivo de <i>Chlorella</i> sp. en las formulaciones del SLF.....	38
4.5 Producción de lípidos de microalgas en las mejores condiciones de crecimiento	46

4.6 Caracterización del SLF y determinación de su eficiencia de remoción	49
V. CONCLUSIONES	54
VI. RECOMENDACIONES.....	55
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
VIII. ANEXOS.....	69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición de diferentes residuos de frutas y hortalizas.....	6
Tabla 2: Parámetros de crecimiento y productividad de biomasa de microalgas, cultivo algal en biocompost hortofrutícolas (HB) y biocompost hortícola (HBM). 13	13
Tabla 3: Parámetros de crecimiento de los cultivos de <i>Arthrospira platensis</i>, adición con dosis diarias (mL día⁻¹) de aguas residuales del procesamiento de yuca (CPW)	14
Tabla 4: Eliminación de nitrógeno (N) y fósforo (P). Diversas especies de microalgas cultivadas en procesos discontinuos con diferentes tipos de aguas residuales.....	16
Tabla 5: Tasas de remoción porcentual. Eliminación de contaminantes en diferentes orígenes de aguas residuales y productividad de biomasa de microalgas	17
Tabla 6: Productividades de cepas de microalgas en residuos agroalimentarios. Desechos orgánicos como medios de cultivo de microalgas.....	18
Tabla 7: Ubicación geográfica de la zona de estudio.....	21
Tabla 8: Operacionalización de variables independientes y dependientes	22
Tabla 9: Marca, modelo y procedencia de los equipos, materiales, insumos e informática utilizados en este estudio	24
Tabla 10: Instrumentación del Laboratorio de Certificaciones del Perú (CERPER S.A.).....	25
Tabla 11: Caracterización fisicoquímica del residuo de fruta procesado (RFP)....	32
Tabla 12: Comparación de tasa de crecimiento. Valores máximos de crecimiento (d⁻¹) de <i>Chlorella</i> sp. obtenidos en este estudio y resultados reportados en la literatura.....	43
Tabla 13: Caracterización fisicoquímica y eficiencia de remoción de nutrientes por parte de <i>Chlorella</i> sp. al 10 por ciento del SLF en H₂O	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Principales sectores de generación de residuos agroalimentarios.....	4
Figura 2: Producción de frutas y generación de residuos frutícolas en la región de Arequipa (los residuos de frutas son estimados según el ítem 2.2)	5
Figura 3: Jerarquía de reutilización de los residuos de agroalimentos	8
Figura 4: Relación entre el tratamiento de desechos alimentarios a base de microalgas	11
Figura 5: Lípidos de microalgas para la producción de biocombustibles y productos de alto valor	20
Figura 6: Diagrama esquemático del fotobiorreactor	29
Figura 7: Aislamiento e identificación de <i>Chlorella</i> sp. adaptada en RFP. Definición visual de microscopía óptica en el objetivo 40^x	34
Figura 8: Resultados del pretratamiento del RFP y SLF. Reducción del material particulado. Turbidez (NTU) y Absorbancia a 570 nm (UA). Barras de error representan la desviación estándar de n = 3. RFP (residuo de fruta procesado); SLF (subproducto líquido de fruta)	35
Figura 9: Conductividad y absorbancia. Valores promedios de conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$) (a) y absorbancia a 570 nm (UA) (b) de la concentración del SLF a diferentes combinaciones (H_2O, MBM y MN) y controles (BG11, MBM y MN). Barras de error representan la desviación estándar de n = 3. SLF (subproducto líquido de fruta)	37
Figura 10: Curva de crecimiento de <i>Chlorella</i> sp. en BG11. Logaritmo natural de los valores promedio de la densidad celular ($\text{Ln células mL}^{-1}$) para el medio sintético BG11. Barras de error representan la desviación estándar de n = 3.....	38
Figura 11: Curvas de crecimiento de <i>Chlorella</i> sp. en diferentes formulaciones del SLF. Logaritmo natural de valores promedio de densidad celular ($\text{Ln células mL}^{-1}$) en 10, 20, 30, 40 y 50 por ciento del SLF a diferentes formulaciones (H_2O, MBM y MN), respectivamente, y controles (BG11, MBM y MN). Barras de error	

representan la desviación estándar de $n = 3$. Letras diferentes indican que los valores difieren significativamente (ANOVA, $p < 0.05$)..... 39

Figura 12: Rendimiento celular (células mL^{-1}) (a) y productividad celular (células $\text{mL}^{-1} \text{d}^{-1}$) (b) de *Chlorella* sp. en 10, 20, 30, 40 y 50 por ciento de las formulaciones de SLF (H_2O , MBM y MN) y controles (BG11, MBM y MN) al 4^{to} día de tratamiento. Barras de error representan la desviación estándar de $n = 3$. Letras diferentes indican que los valores difieren significativamente (ANOVA, $p < 0.05$) 41

Figura 13: Tasa de crecimiento (μ) (d^{-1}) de *Chlorella* sp. en 10, 20, 30, 40 y 50 por ciento de las formulaciones del SLF (H_2O , MBM y MN) y controles al 2^{do} día de tratamiento. Barras de error representan la desviación estándar de $n = 3$. Letras diferentes indican que los valores difieren significativamente (ANOVA, $p < 0.05$) 42

Figura 14: Evolución del pH. Promedio diario de valores de pH en función del tiempo (días) de *Chlorella* sp. del 10 al 50 por ciento de las formulaciones del SLF (H_2O , MBM y MN) y controles (BG11, MBM y MN). Barras de error representan la desviación estándar de $n = 3$ 45

Figura 15: Producción de lípidos. Curvas de concentración de lípidos (mg L^{-1}) por *Chlorella* sp. en función del tiempo (días) a partir de 10 por ciento del SLF en H_2O , MBM y MN y control BG11. Barras de error representan la desviación estándar de $n = 3$. Letras diferentes indican que los valores difieren significativamente (ANOVA, $p < 0.05$) 47

Figura 16: Rendimiento (mg L^{-1}) (a) y productividad ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$) (b) de lípidos por *Chlorella* sp. en 10 por ciento del SLF en H_2O , MBM y MN al 7^{mo} día y en BG11 al 3^{er} día. Barras de error representan la desviación estándar de $n = 3$. Letras diferentes indican que los valores difieren significativamente (ANOVA, $p < 0.05$) 48

Figura 17: Estimación de aceites (kg) por tonelada de residuos de frutas, durante el cultivo de *Chlorella* sp. en 10 por ciento del SLF (H_2O , MBM y MN). Estimaciones al año (365 días). Barras de error representan la desviación estándar de $n = 3$. *Estimación en base a la tasa de conversión de 1 kg de aceites de ácidos grasos a 1 kg de biodiesel 49

Figura 18: Tasa de consumo de nutrientes por *Chlorella* sp. Concentraciones de DQO, NO₃⁻, PO₄³⁻ y SO₄²⁻ en mg L⁻¹ durante el cultivo de *Chlorella* sp. en función del tiempo (días), en el tratamiento de 10 por ciento del SLF en H₂O, MBM y MN, respectivamente. Barras de error representan la desviación estándar de n = 3..... 50

Figura 19. Tasa de reducción de nutrientes. Eficiencia de remoción de DQO, NO₃⁻, PO₄³⁻ y SO₄²⁻ por *Chlorella* sp. cultivada en 10 por ciento SLF en H₂O, MBM y MN. Barras de error son la desviación estándar (n = 3). Letras diferentes sobre las barras indican que los valores difieren significativamente (ANOVA, p < 0.05) 51

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Medio sintético BG11. Composición (g L⁻¹) del BG11.....	69
Anexo 2. Medio sintético MBM. Composición (g L⁻¹) del 3N-Bristol Modificado .	69
Anexo 3: Determinación de la presencia de microalgas fotosintéticas	70
Anexo 4: Determinación de la microalga no adaptada en el residuo agroalimentario. Imagen de microscopía óptica en el objetivo 40×	70
Anexo 5: Ambiente del reactor. Lugar donde se prolifera las microalgas.....	71
Anexo 6: (a) Ilustraciones de los instrumentos utilizados en la investigación	71
Anexo 7: (b) Ilustraciones del instrumento de medición utilizado en la investigación	72
Anexo 8: (c) Ilustraciones de los equipos utilizados en la investigación.....	72
Anexo 9: (d) Ilustraciones de los equipos utilizados en la investigación	73
Anexo 10: (e) Ilustraciones de los equipos utilizados en la investigación.....	74
Anexo 11: Microalgas del género <i>Chlorella</i> sp. cultivadas en fotobiorreactores de vidrio bajo diferentes formulaciones del subproducto líquido de fruta.....	74
Anexo 12: ANOVA. Análisis de varianza de la concentración celular final (células mL⁻¹) de <i>Chlorella</i> sp. en 10, 20, 30, 40 y 50 por ciento del SLF con H₂O (a), MBM (b) y MN (c), respectivamente y controles (BG11, MBM y MN) al séptimo día de tratamiento.....	75
Anexo 13: ANOVA. Análisis de varianza del rendimiento celular (células mL⁻¹) (a), productividad celular (células mL⁻¹ d⁻¹) (b) y tasa de crecimiento (d⁻¹) (c) de <i>Chlorella</i> sp. en 10, 20, 30, 40 y 50 por ciento del SLF en combinación con H₂O, MBM y MN, respectivamente, y BG11, MBM y MN al 2^{do} y 4^{to} día de tratamiento	76
Anexo 14: ANOVA del contenido de lípidos (mg L⁻¹) de <i>Chlorella</i> sp. en 10 por ciento del SLF en H₂O, MBM y MN, y BG11 al 3^{er} (a) y 7^{mo} (b) día de tratamiento	77

Anexo 15: ANOVA: Análisis de varianza del rendimiento lipídica (mg L^{-1}) (a) productividad de lípidos ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$) (b) de <i>Chlorella</i> sp. en 10 por ciento del SLF en H_2O, MBM y MN al 7^{mo} día, y BG11 al 3^{er} día de tratamiento.....	77
Anexo 16: ANOVA. Análisis de varianza de la eficiencia de remoción porcentual de DQO (a), NO_3^- (b), PO_4^{3-} (c) y SO_4^{2-} (d) por <i>Chlorella</i> sp. cultivada en 10 por ciento del SLF en H_2O, MBM y MN al séptimo día de tratamiento	78
Anexo 17: HSD Tukey^a. Análisis de significancia de concentración final (células mL^{-1}) de <i>Chlorella</i> sp. en 10, 20, 30, 40 y 50 por ciento del SLF con H_2O (a), MBM (b) y MN (c), respectivamente, y controles (BG11, MBM y MN) al séptimo día de tratamiento.....	80
Anexo 18: HSD Tukey^a. Análisis de significancia del rendimiento (células mL^{-1}) (a), productividad (células $\text{mL}^{-1} \text{d}^{-1}$) (b) y tasa de crecimiento (d^{-1}) (c) de <i>Chlorella</i> sp. de 10 al 50 por ciento del SLF en H_2O, MBM y MN, y controles al 2^{do} y 4^{to} día de tratamiento.....	82
Anexo 19: HSD Tukey^a. Análisis de significancia de contenido de lípidos (mg L^{-1}) de <i>Chlorella</i> sp. en 10 por ciento del SLF en H_2O, MBM y MN, y BG11 al 3^{er} día de tratamiento.....	85
Anexo 20: HSD Tukey^a. Análisis de significancia de contenido de lípidos (mg L^{-1}), rendimiento de lípidos (mg L^{-1}), productividad de lípidos ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$) de <i>Chlorella</i> sp. en 10 por ciento del SLF en H_2O, MBM y MN, y BG11 al 3^{er} y 7^{mo} día de tratamiento.....	85
Anexo 21: HSD Tukey^a. Análisis de significancia de la eficiencia de remoción porcentual de DQO (a), NO_3^- (b), PO_4^{3-} (c) y SO_4^{2-} (d) por <i>Chlorella</i> sp. cultivada en 10 por ciento del SLF en H_2O, MBM y MN al séptimo día de tratamiento	86
Anexo 22: Informes de la caracterización química. Disponibilidad de informes de CERPER S.A.....	87

RESUMEN

Los residuos agroalimentarios son una fuente de nutrientes para la producción de lípidos de microalgas. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la producción de lípidos a partir de microalgas en un fotobiorreactor, a través de la reutilización de componentes orgánicos provenientes de residuos de frutas. Los resultados demuestran que, la composición del residuo de fruta procesado tiene alta carga orgánica. Las mejores condiciones del cultivo para la microalga *Chlorella* sp. fueron al 10 por ciento del subproducto líquido de fruta en combinaciones con agua (H₂O), suplemento de nitrógeno y fósforo (MN) y medio de cultivo (MBM), alcanzando máximas tasas de crecimientos de 1.15 ± 0.006 , 1.47 ± 0.002 y 1.35 ± 0.008 día⁻¹, respectivamente. En estas condiciones, el alga logró la producción de lípidos de 15.60 ± 3.17 mg L⁻¹ en MN, 12.77 ± 3.61 mg L⁻¹ en H₂O, y 9.2 ± 1.3 mg L⁻¹ en MBM, mostrando simultáneamente altos índices de remoción para DQO, NO₃⁻, PO₄³⁻ y SO₄²⁻ en todas las formulaciones del subproducto líquido de fruta. La composición final al 10 por ciento del subproducto líquido de fruta y H₂O mostró un efluente con características por debajo de los límites de regulación medioambiental. En general, estos resultados sugieren que es posible integrar el cultivo de *Chlorella* sp. como estrategia ambiental para disponer y valorizar adecuadamente los residuos de frutas en la ciudad de Arequipa; así se pueden utilizar tecnologías modernas con el fin producir bioproductos de alto valor agregado.

Palabras claves: Residuos de frutas, microalga, producción de lípidos, Remoción de nutrientes

ABSTRACT

Agri-food waste is a source of nutrients for the production of microalgae lipids. This study aimed to evaluate the production of lipids from microalgae in a photobioreactor, through the reuse of organic components from fruit waste. The results show that the composition of the processed fruit residue has a high organic load. The best culture conditions for the microalga *Chlorella* sp. were at 10 percent of the liquid fruit by-product in combinations with water (H₂O), nitrogen and phosphorous supplement (MN) and culture medium (MBM), reaching maximum growth rates of 1.15 ± 0.006 , 1.47 ± 0.002 , and 1.35 ± 0.008 day⁻¹, respectively. Under these conditions, the alga achieved lipid production of 15.60 ± 3.17 mg L⁻¹ in MN, 12.77 ± 3.61 mg L⁻¹ in H₂O, and 9.2 ± 1.3 mg L⁻¹ in MBM, simultaneously showing high removal rates for COD, NO₃⁻, PO₄³⁻, and SO₄²⁻ in all formulations of the liquid fruit by-product. The final composition at 10 percent of the liquid by-product of fruit and H₂O showed an effluent with characteristics below the limits of environmental regulation. In general, these results suggest that it is possible to integrate the culture of *Chlorella* sp. as an environmental strategy to adequately dispose and value fruit waste in the city of Arequipa; thus, modern technologies can be used in order to produce bioproducts with high added value.

Keywords: Fruit residues, microalga, lipid production, nutrient removal

I. INTRODUCCIÓN

Arequipa se encuentra entre las regiones con mayor tasa de crecimiento poblacional, de acuerdo con datos censales del Instituto Nacional de Estadística e Informática se tuvo un incremento de 1 316 000 a 1 554 251 habitantes entre el 2017 y 2022, respectivamente (INEI 2017; UCSP 2022). En esta región se generaron 355 000 Tn de residuos sólidos en el 2022, con el 15.3 por ciento correspondiente a desechos alimentarios (SINIA 2022).

En el 2022, Arequipa tuvo un ingreso anual de frutas de 153 490 Tn (MIDAGRI 2022). Según Dreyer *et al.* (2019), la generación del residuo alimentario tiene una relación directa con la cantidad de habitantes de una sociedad; la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) estima que un tercio de los alimentos para el consumo cotidiano terminan en desperdicios (Coman *et al.* 2020); por lo tanto, la producción de residuos de frutas fue de ~51 163 Tn al 2022. Estos desperdicios son dispuestos en botaderos improvisados y clandestino generando un impacto negativo en el ambiente (Alcántara *et al.* 2019).

Los residuos agroalimentarios se caracterizan por tener un alto contenido de material orgánico, con una demanda química de oxígeno (DQO) que varía entre 30,000–40,000 mg L⁻¹ (Chuka-ogwude *et al.* 2020; 2022). Estos desechos se eliminan en vertederos y se dejan pudrir sin un adecuado manejo y control (Barzee *et al.* 2022), ocasionando un impacto negativo al medio ambiente debido a su alta fermentabilidad y biodegradabilidad. La descomposición aeróbica o anaeróbica de la materia orgánica en residuos de frutas pueden contribuir significativamente a las emisiones de gases de efecto invernadero (Lin *et al.* 2021); su disposición continua en botaderos genera gases y olores nauseabundos (Liakou *et al.* 2018).

La legislación ambiental de Perú mediante la Nueva Ley de Residuos Sólidos (Ley N° 27314, Decreto Legislativo N° 1278), se sostiene en tres pilares principales que se fundamentan en la reducción, reutilización y recuperación de los residuos (MINAM 2021). A través de la valorización de los residuos de frutas es posible conducir a beneficios sustanciales para el ambiente; los desechos se pueden reutilizar como materia prima potencial en procesos biológicos para producción de microalgas (Lu *et al.* 2016; Dahiya *et al.* 2018), con perspectivas de generar diferentes bioproductos de alto valor agregado.

La producción de algas y los sistemas de cultivo han llamado últimamente la atención por su gran relevancia comercial y económica (Barone *et al.* 2019). Las microalgas se desarrollan sobre medios sintéticos, siendo el principal obstáculo para su crecimiento el costo de la fuente de carbono, nitrógeno y fósforo, que representa en promedio el 50 por ciento del costo total del medio de cultivo (Chandra *et al.* 2014). Por esta razón, la estrategia ambiental más viable para aumentar la rentabilidad del cultivo de microalgas es reutilizar recursos alternativos, sostenibles y de bajo costo (de Medeiros *et al.* 2020). Los métodos de suplementación con componentes exógenos son ventajosos para mejorar y acelerar la productividad algal (Pang *et al.* 2019). El cultivo de microalgas ofrece la posibilidad de reciclar el residuo de fruta de manera eficaz, haciendo énfasis en el tratamiento de coproductos alimentarios donde, el principal mecanismo de reutilización de los nutrientes es por la absorción de biomasa de microalgas (Mujtaba *et al.* 2015).

Diversos estudios han demostrado que, el reúso de los desechos agroalimentarios con altos contenidos de C, N y P representan una forma alternativa de mejorar la acumulación de lípidos en microalgas (Calixto *et al.* 2016; Pleissner *et al.* 2017; Chew *et al.* 2018; de Medeiros *et al.* 2020). Se ha descubierto que los cultivos mixotróficos de microalgas utilizan el carbono orgánico como fuente principal de nutrición, con el fin de optimizar la productividad de biomasa y lípidos, reduciendo de esta manera, la carga contaminante de residuos orgánicos (Álvarez-Díaz *et al.* 2017; Araujo *et al.* 2021; Zheng *et al.* 2021).

Esta investigación tuvo como objetivo, evaluar la producción de lípidos a partir de microalgas en un fotobiorreactor, a través de la reutilización de componentes orgánicos provenientes de residuos de frutas del Centro Comercial Mercado Pesquero. Este trabajo determinó la composición fisicoquímica de residuos de frutas procesados; evaluó el crecimiento de microalgas en un fotobiorreactor alimentado con subproducto líquido de fruta (SLF); evaluó la producción de lípidos de microalgas en las mejores condiciones de crecimiento y determinó la caracterización del SLF y la eficiencia de remoción de la carga contaminante.

El impacto del estudio radica en que la reutilización de los residuos agroalimentarios va a generar un bioproducto de alto valor agregado a partir de microalgas, permitiendo reducir el impacto contaminante de los desechos sobre el medio ambiente.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 MARCO NORMATIVO DE LA GESTIÓN DE RESIDUOS SÓLIDOS

2.1.1 Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos, Decreto Legislativo N° 1278

2.1.1.1 Artículo 5 – Principios

Para efectos de este Decreto Legislativo son de aplicación los siguientes principios (SINIA 2017):

1. Economía circular; la creación de valor no se limita al consumo de recursos, considera el ciclo de vida de bienes y debe procurarse eficientemente la regeneración y recuperación de los recursos dentro del ciclo biológico o técnico, según sea el caso (SINIA 2017).
2. Valorización del residuo; los residuos sólidos generados en actividades productivas y de consumo constituyen un recurso económico, y se priorizará una valorización objetiva, considerando su utilidad en actividades de fertilizantes, transformaciones biológicas o recuperación de componentes en desechos orgánicos (SINIA 2017).
3. Principio de protección del ambiente y salud pública; la gestión integral de residuos comprende las medidas necesarias para la protección de la salud individual y colectiva de las personas, en conformidad con el ejercicio pleno del derecho fundamental “a vivir en un ambiente equilibrado y adecuado para el desarrollo de la vida” (SINIA 2017).

2.1.1.2 Artículo 37 – Valorización

La valorización constituye la alternativa de gestión y manejo que debe priorizarse frente a la disposición final de residuos orgánicos; incluye las actividades de reutilización, reciclaje, compostaje, valorización energética entre otras alternativas (SINIA 2017).

2.1.1.3 Artículo 51 – Valorización de residuos orgánicos municipales

La entidad pública tiene como eje principal valorizar prioritariamente los residuos orgánicos provenientes de mercados municipales, así como, de ser factible, los desechos orgánicos de origen doméstico (SINIA 2017).

2.1.2 Nueva Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos, Ley N° 27314, D.L. N° 1278

Actualmente, tres son los ejes que proyecta esta nueva legislación sobre la Gestión Integral de Residuos Sólidos en el país (MINAM 2021):

I. ¿Qué son los residuos sólidos?, basura como materia prima, el primer gran cambio de paradigma está relacionado a considerar a los residuos sólidos como una materia prima o insumo para otras industrias;

II. Industrialización de reciclaje, el segundo gran aporte de la nueva ley es que pone las bases para el desarrollo de una gran industria del reciclaje a nivel internacional;

III. Involucramiento de actores, un tercer aporte es la vinculación de actores claves en este proceso con el tratamiento de los residuos sólidos.

2.2 RESIDUOS AGROALIMENTARIOS

Los residuos de frutas establecen los desperdicios y pérdidas a lo largo de la cadena alimentaria, que incluye la: producción, transformación, manipulación, almacenamiento, comercialización y consumo. Según la FAO en su proyecto medioambiental “Huella de desperdicio de alimentos”, se estimó que, por cada año se pierde o desperdicia un tercio de los agroalimentos producidos para el consumo humano en el mundo (FAO 2013).

2.2.1 Generación de residuos agroalimentarios

El estudio del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) estimó que, en las últimas décadas se generaron 931 millones de toneladas de desperdicios agroalimentarios a nivel internacional (UNEP 2021), definiendo la cantidad del residuo por cada sector significativo (Figura 1).

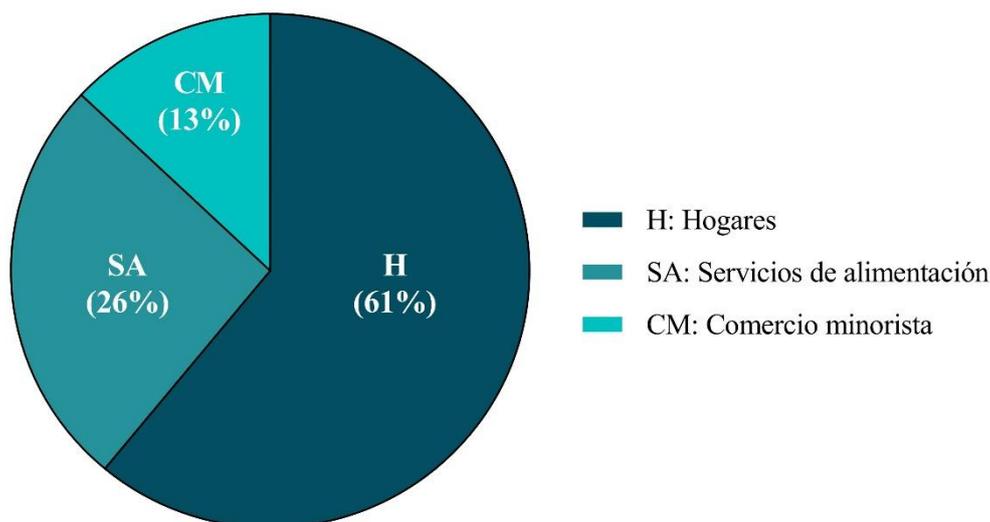


Figura 1: Principales sectores de generación de residuos agroalimentarios

Fuente: UNEP (2021)

Según la Figura 1, el sector comercio minorista es el tercer sector más importante en la generación de desperdicios de frutas y verduras, considerando a este sector un foco de contaminación ambiental producto de la mala gestión de los residuos orgánicos con relación a las 3R de la ecología (reducción, reutilización y reciclaje).

2.2.2 Residuos de frutas

Son residuos agroalimentarios que ocasionan un gran impacto negativo a la sociedad, estos desechos deben ser tratados o reutilizados lo antes posible con la finalidad de reducir el impacto ambiental y mejorar la eficiencia, capacidad y rentabilidad de las cadenas de suministro de alimentos en los mercados (Balaji y Arshinder 2016); es evidente encontrar alternativas de tratamiento de los residuos de frutas con la visión de hacer sostenible tanto económica como ambientalmente a la agroindustria.

De acuerdo con la Gerencia Regional de Agricultura Arequipa (GRAG) del Gobierno Regional de Arequipa, la producción de frutas (chirimoya, ciruela, fresa, manzana, melón, naranja, mandarina, mango, melocotón, membrillo, pera, papaya, plátano, tomate y uva) fue de 80 418.06 Tn en el 2021 generando en promedio 26 806.02 Tn de residuos de frutas (Figura 2), lo que indica un gran impacto no solo en la sociedad sino en el ambiente.

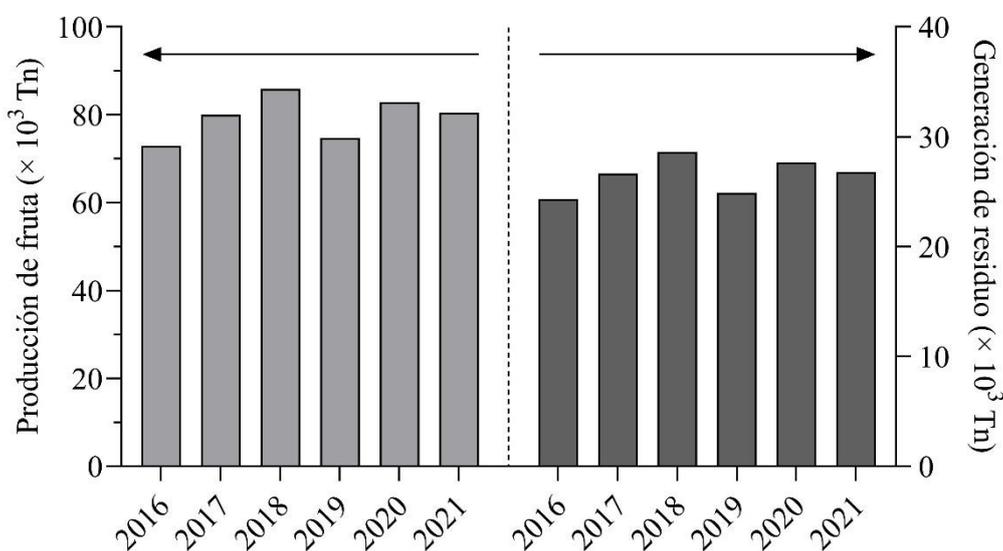


Figura 2: Producción de frutas y generación de residuos frutícolas en la región de Arequipa (los residuos de frutas son estimados según el ítem 2.2)

Fuente: GRAG (2021)

2.2.3 Caracterización de residuos agroalimentarios

Los residuos alimentarios son restos no inertes (no peligrosos) pero son clasificados como materia activa, debido a propiedades intrínsecas de biodegradabilidad y solubilidad. Son básicamente desechos con características de los residuos domésticos (Feitosa *et al.* 2017). Asimismo, según la composición y naturaleza, su caracterización fisicoquímica es variable, siendo el material orgánico el componente más representativo.

De acuerdo con diversas investigaciones, la caracterización de los residuos de frutas o verduras se presenta en la Tabla 1. Los residuos de frutas/verduras independientemente del tipo de producto (P.ej. naranja, fresa, melón, etc.) se caracterizan por tener una fuente elevada de carbono orgánico, además de, contener otros macronutrientes (N, P y K), con características ácidas (bajo pH) (Calixto *et al.* 2016).

Tabla 1: Composición de diferentes residuos de frutas y hortalizas

Residuos agroalimentarios					
	Unidad	HB		Unidad	HBM
pH		Nd	Nitrógeno	g kg ⁻¹	1.68
DBO ₅	mg L ⁻¹	Nd	Potasio	g kg ⁻¹	1.52
DQO	mg L ⁻¹	208	Fosforo	g kg ⁻¹	1.25
NO ₃ ⁻	mg L ⁻¹	63.7	Carbono orgánico	g kg ⁻¹	0.94
NO ₂ ⁻	mg L ⁻¹	0.475			
NH ₄ ⁺	mg L ⁻¹	1.3			
PO ₄ ⁻	mg L ⁻¹	31.6			
Cl ⁻	mg L ⁻¹	62			
CE	mS cm ⁻¹	0.374			
STD	mg L ⁻¹	243			
Turbidez	NTU	4.4			

HB: Biocompost de frutas/hortalizas (Calixto *et al.* 2016)

HBM: Biocompost hortícola (de Medeiros *et al.* 2020)

CE: Conductividad eléctrica

Nd: No determinado

2.2.4 Impacto ambiental de la disposición de residuos agroalimentarios

Los residuos agroalimentarios de frutas son un problema medioambiental, debido a su elevada fermentabilidad y biodegradabilidad; además, pueden contribuir negativamente a las emisiones de gases de efecto invernadero (CH_4 y CO_2), donde los flujos de gases serían producto de la descomposición aeróbica o anaeróbica de la materia orgánica (Lin *et al.* 2021). Los residuos de frutas son una fuente potencial de contaminación debido a su vertimiento en vertederos (de Medeiros *et al.* 2020). En este contexto, la FAO (2013) estima una generación de 3.3 GTn de CO_2 por la descomposición química de los residuos alimentarios.

Los problemas ambientales más significativos están asociados a la mala gestión de los residuos agroalimentarios, siendo principalmente la contaminación de suelos y aguas superficiales, producto de su inadecuado control y disposición en la ciudad de Arequipa (Alcántara *et al.* 2019).

2.2.5 Gestión de los residuos agroalimentarios

La Cumbre sobre el Desarrollo Sostenible de la Organización de las Naciones Unidas, define el indicador 12 (consumo y producción responsable) de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), donde indica que los residuos orgánicos deben tener una gestión adecuada, mediante métodos de reducción, reutilización o reciclaje; asimismo uno de los compromisos ambientales está la reducción del 50 por ciento para el 2030 (ONU 2021). Por tanto, siguiendo con la meta de los ODS, los desperdicios de frutas producidas en las diversas etapas de la cadena de suministro alimentaria deben ser reutilizadas sustancialmente de modo que, se genere un escenario de bioeconomía circular.

2.2.6 Reutilización de los residuos agroalimentarios

La reutilización de los residuos de frutas es una opción de tratamiento segura, ésta presenta una jerarquía de reuso en los agroalimentos, conteniendo diferentes opciones de utilización considerando el nivel de impacto ambiental, empezando por el más bajo en la parte superior de la pirámide de jerarquía de aprovechamiento (Bagherzadeh *et al.* 2014).

La jerarquía de residuos tiene el fin de hacer más eficiente los sistemas agroalimentarios, con acciones prácticas como: reducir la concentración de desechos de frutas por medio de su reutilización (generación de bioproductos de alto valor agregado) (Figura 3).

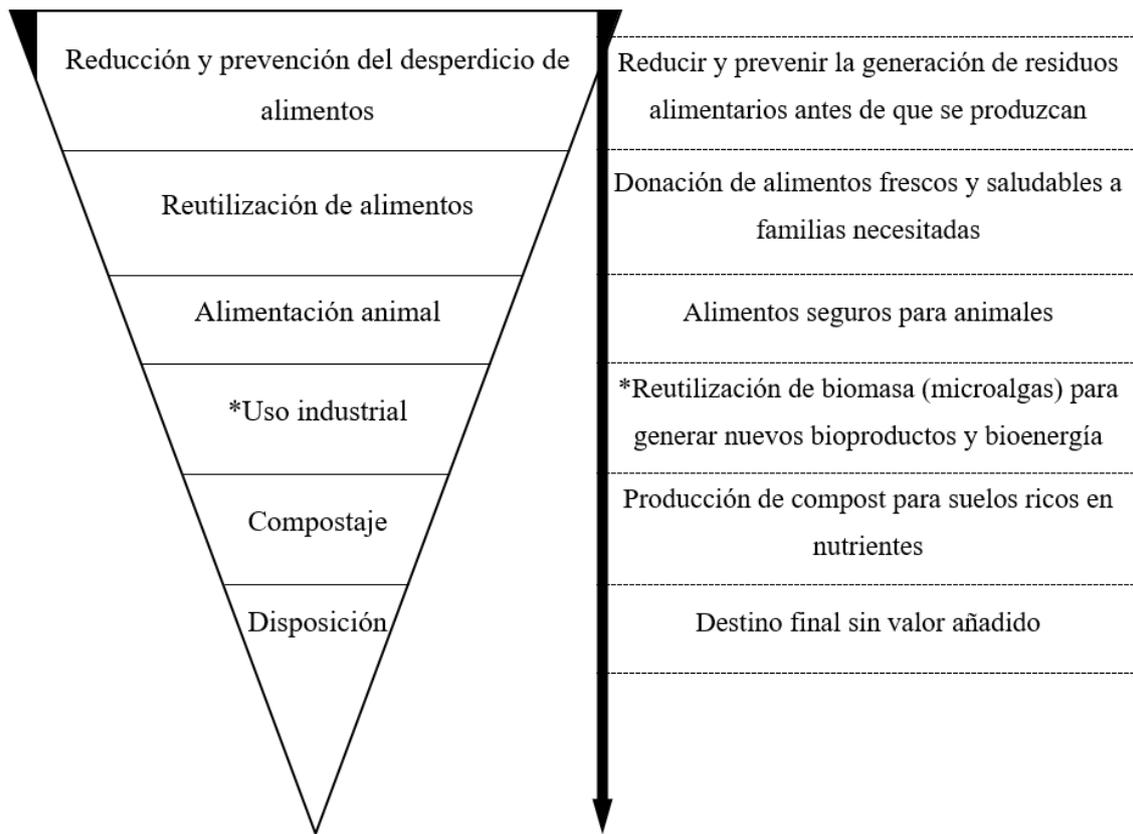


Figura 3: Jerarquía de reutilización de los residuos de agroalimentos

Fuente: Bagherzadeh *et al.* (2014)

2.3 MICROALGAS

2.3.1 Microalgas fotosintéticas

El cultivo de microalgas es rentable y se considera una alternativa a la independencia energética que se tiene hoy con las energías tradicionales; y esto se debe a varias razones, entre ellas; el bajo consumo de agua para su sistema, el elevado rendimiento por área y la posibilidad de usar tierras no agrícolas para su proceso biotecnológico (Yen *et al.* 2013). Las microalgas comprenden diferentes grupos de seres vivos acuáticos y autótrofos, que generan la energía necesaria para su metabolismo mediante la fotosíntesis. Las microalgas son los microorganismos más importantes para el desarrollo de procesos biotecnológicos, ya que constituyen un grupo diverso de especies con aplicaciones en las áreas de la biorremediación (Hossain *et al.* 2019).

2.3.2 Producción de biomasa de microalgas

El crecimiento de microalgas depende en gran medida de la accesibilidad e intensidad de la luz, la disponibilidad de macronutrientes (C, N y P), las concentraciones de dióxido de carbono/oxígeno, la temperatura y el tipo de sistema de cultivo utilizado (Moncada *et al.* 2014). Por lo tanto, el optimizar y controlar las variables del cultivo de algas resultaría una alta producción en su biomasa, con el objetivo de generar bioproductos de alto valor en el mercado internacional.

Choong *et al.* (2020) definen tres mecanismos de producción de biomasa de microalgas:

2.3.2.1 Producción autotrófica

La producción autotrófica es un método que, es técnica y económicamente viable en la generación de biomasa de microalgas a gran escala; en el proceso, las microalgas se cultivan en biorreactores o estanques abiertos con una fuente de energía lumínica, carbono inorgánico y sales minerales.

2.3.2.2 Producción heterotrófica

La producción heterotrófica se utiliza con éxito para generar biomasa de algas; en el proceso, las microalgas se cultivan en biorreactores o fermentadores con una fuente de carbono orgánico, el crecimiento de la microalga es independiente a la luz, lo que permite la posibilidad de su extensión a nivel industrial.

2.3.2.3 Producción mixotrófica

La producción mixotrófica se caracteriza porque las algas son capaces de utilizar uno de los dos procesos de metabolismo (autótrofo o heterótrofo) para su crecimiento, lo que significa que es capaz de realizar la fotosíntesis y asimilar los materiales orgánicos.

2.3.3 Variación en la composición de nutrientes

Las microalgas verdes sufren variaciones en su crecimiento según el medio sintético de cultivo utilizado y las condiciones del ambiente externo (temperatura, iluminación, pH y aireación). Cuando existe un sistema estándar de cultivo homogéneo, en el que, el aporte de nutrientes es limitado y no se añade ni se quita nada en el proceso (sistema batch); el crecimiento de microalgas fotosintéticas pasa por varias fases distintas, definiéndose estas fases (He *et al.* 2018), tales como:

- Fase 1: adaptación (retraso);
- Fase 2: aceleración del crecimiento;
- Fase 3: crecimiento exponencial (logarítmica);
- Fase 4: disminución del crecimiento (crecimiento lineal);
- Fase 5: fase estacionaria;
- Fase 6: etapa de muerte de algas; y Fase 7: fase de registro de muertes.

2.4 MICROALGAS Y RESIDUOS AGROALIMENTARIOS

2.4.1 Microalgas en aguas residuales

El cultivo de microalgas promete un proceso interesante en la remediación de las aguas residuales agroalimentarias, debido a que proporcionan un tratamiento biológico terciario junto con la producción de biomasa potencialmente valiosa, que se puede utilizar para diferentes propósitos biotecnológicos (Mujtaba *et al.* 2015).

El crecimiento de microalgas basadas con desechos sólidos de frutas, hortalizas y/o biocompost (Figura 4), es un escenario ideal para lograr simultáneamente la reducción de los desechos líquidos y la producción de energía renovable, cuando su biomasa generada se convierte en biocombustibles o bioproductos de valor agregado (Barone *et al.* 2019).

2.4.1.1 Residuo de fruta como medio de cultivo

La utilización de residuos de frutas para el cultivo de algas es una tendencia en el desarrollo de procesos sostenibles, con el fin de ser ambientalmente deseable, económicamente viable y legalmente requerido; asimismo, en su proceso se aprovecha el agua que es elevada en nutrientes orgánicos de costo económico bajo o cero, disponible en grandes cantidades y que debe tener una carga de nutrientes reducida, antes de ser eliminada a un medio natural (de Medeiros *et al.* 2020). Estos desechos derivados de centros comerciales podrían convertirse en un medio de cultivo ideal para el crecimiento de microalgas.

2.4.2 Microalgas en residuos orgánicos

El cultivo de las microalgas promete un proceso interesante en la remediación de los residuos orgánicos, debido que proporcionan un tratamiento biológico terciario junto con la producción de biomasa potencialmente valiosa para la obtención de lípidos (Figura 4), los cuales se pueden usar en varios propósitos biotecnológicos (Abdel-Raouf *et al.* 2012).

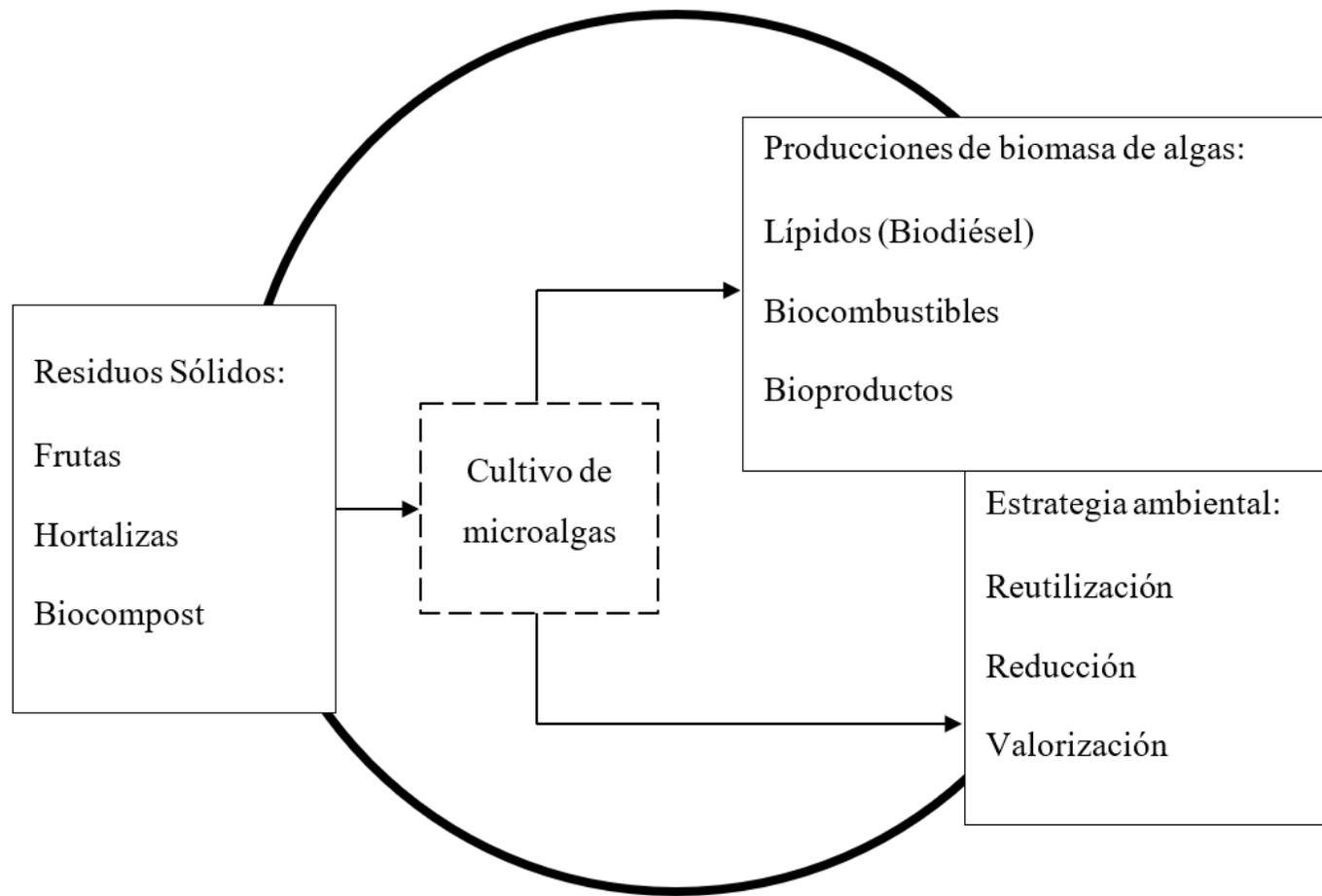


Figura 4: Relación entre el tratamiento de desechos alimentarios a base de microalgas

Fuente: Cheah *et al.* (2016); Vaz *et al.* (2016)

2.4.3 Cultivo de microalgas en fotobiorreactores

2.4.3.1 Fotobiorreactor cerrado

Un fotobiorreactor cerrado es un reactor para el crecimiento de microalgas, donde se simula un sistema aislado del ambiente externo; y se caracteriza por ser un recipiente transparente. Se encuentran varios tipos de fotobiorreactores, pero los más eficientes son los diseños de placas rectangulares. Este reactor puede estar construido de vidrio, lo que permite la transferencia de la luz y su orientación para aprovechar al máximo la intensidad luminosa (Rinanti 2016).

Kunjapur y Eldridge (2010), detallan las ventajas de uso del fotobiorreactor cerrado para la producción masiva de las concentraciones (mg L^{-1}) de la biomasa de microalgas:

- (1) Baja contaminación; (evita la contaminación de cualquier microorganismo externo);
- (2) Alta productividad por unidad de área (g/L/d); (mejora la generación de microalgas);
- (3) Fácil control de varios parámetros (pH, inyección de aire, temperatura e iluminación).

2.4.3.2 Condiciones del cultivo

Según Ma *et al.* (2020), es preciso que exista un equilibrio dinámico entre factores ambientales (temperatura, iluminación y nutrientes) debido a que estas variables influyen directamente en la producción de biomasa y lípidos de las microalgas. A continuación, se describen los 3 factores que afectan significativamente en el proceso del cultivo algal:

- a. Temperatura: Es uno de los parámetros críticos a controlar porque influye en el proceso celular que afecta la capacidad fotosintética, el desarrollo y la respiración de microalgas. El impacto de la temperatura sobre la productividad de biomasa celular se justifica por el principal aspecto de, estar asociado a la interdependencia entre la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y los metabolitos primario y secundario que componen la estructura celular (Ras *et al.* 2013).
- b. Iluminación: Es esencial para el crecimiento de algas actuando como la principal fuente de energía para inducir la actividad enzimática e influir en la síntesis de biomasa; el alga exhibe una actividad fotosintética, donde la tasa de luminosidad tiene un papel importante en el crecimiento algal, además de traer cambios en su producción (Khoeyi *et al.* 2012).
- c. Nutrientes: El medio artificial proporciona los nutrientes para la propagación de las células algales. El impacto del manejo de nutrientes en la productividad de las microalgas

ocurre previamente durante el cultivo, donde las algas se colocan en un medio nutritivo y después, se mejora su sistema de nutrición para mejorar la biomasa (Herrera *et al.* 2021).

Hay varios factores que influyen en el crecimiento de microalgas: factores abióticos como la luz, temperatura, fuente de carbono, pH y la concentración de nutrientes que incluyen nitratos, fosfatos, carbohidratos, elementos traza; además, encontramos factores dinámicos, como la agitación. Los parámetros operativos deben mantenerse y controlarse para que sean efectivos en las tasas de producción de microalgas (Avinash *et al.* 2020).

2.4.4 Estudios de microalgas en residuos agroalimentarios

Calixto *et al.* (2016), evaluaron el desarrollo y crecimiento de cuatro especies de microalgas verdes en diferentes sustratos alternativos de residuos agroindustriales, para determinar su producción de biomasa. Finalmente, este estudio demostró el alto potencial de aprovechamiento de residuos de frutas y hortalizas, permitiendo un enfoque de cultivo a escala industrial debido a la rápida generación de biomasa de microalgas enriquecida de carbohidratos, proteínas, lípidos.

La Tabla 2, muestra los resultados de diferentes investigaciones sobre la cinética de crecimiento de microalgas cultivadas en residuos alimentarios:

Tabla 2: Parámetros de crecimiento y productividad de biomasa de microalgas, cultivo algal en biocompost hortofrutícolas (HB) y biocompost hortícola (HBM)

Cepa	Medio	k (d ⁻¹)	R (células mL ⁻¹)	Biomasa (g L ⁻¹)	Productividad (g L ⁻¹ d ⁻¹)
a		0.88 ± 0.32	3.50 × 10 ⁵	0.183	0.161
b	HB	0.79 ± 0.17	4.84 × 10 ⁶	0.483	0.382
c		0.69 ± 0.25	1.07 × 10 ⁸	0.38	0.262
d		0.46 ± 0.14	1.40 × 10 ⁶	0.142	0.065
e		1.27 ± 0.58	2.17 × 10 ⁶	0.506	0.034
f	HBM	1.03 ± 0.41	8.52 × 10 ⁶	0.38	0.022
g		1.22 ± 0.42	8.32 × 10 ⁶	0.248	0.017

^a*Chlorella* sp.; ^b*Chlamydomonas* sp.; ^c*Lagerheimia longiseta*; ^d*Pediastrum tetras*. ^e*Scenedesmus* q.; ^f*L. longiseta*; ^g*M. contortum*. K: Tasa de crecimiento; R: Crecimiento máximo de microalgas

Fuente: Calixto *et al.* (2016); de Medeiros *et al.* (2020)

Araujo *et al.* (2021), estudiaron la eficiencia de respuesta de la microalga *Arthrospira platensis* para el tratamiento de desechos agrarios de yuca, investigando la capacidad del alga para reutilizar el contenido del carbono orgánico total (COT). Finalmente, en este estudio demostraron que, la microalga puede estabilizar los desechos agrícolas de la yuca, reduciendo significativamente los valores de COT, además, esta técnica se utilizaría para mitigar el problema de los desperdicios actuales de la agricultura.

de Medeiros *et al.* (2020), evaluaron el sistema de microalgas en un medio alternativo de bajo costo (biocompost de frutas), con la finalidad de generar diversos bioproductos y así establecer futuras aplicaciones biotecnológicas en la industria agroalimentaria. En este estudio demostraron que, el novedoso medio alternativo de residuos orgánicos frutícolas es un sustrato eficaz en el desarrollo de microalgas proporcionando un crecimiento celular óptimo y satisfactorio, con un elevado porcentaje de bioaceites.

La Tabla 3, muestra la tasa de crecimiento algal cultivada en residuos alimentarios.

Tabla 3: Parámetros de crecimiento de los cultivos de *Arthrospira platensis*, adición con dosis diarias (mL día⁻¹) de aguas residuales del procesamiento de yuca (CPW)

Periodo de cultivo	CPW (mL día ⁻¹)	k (día ⁻¹)
Fase de retraso (días 0 a 2)	0	0.8
	0.5	1.15
	1	1.15
	1.5	1.18
	2	1.16
Fase de crecimiento exponencial (días 3 a 5)	0	0.14
	0.5	1.16
	1	1.16
	1.5	1.11
	2	1.02
Fase estacionaria (días 6 y 7)	0	0.2
	0.5	1.16
	1	1.16
	1.5	1.11
	2	1.02

Fuente: Araujo *et al.* (2021)

2.4.5 Tratamiento de residuos agroalimentarios con microalgas

Durante el cultivo heterótrofo y/o mixotrófico, las microalgas consumen el carbono orgánico de diferentes fuentes, reduciendo la carga contaminante de las aguas residuales y desechos orgánicos (Jiang *et al.* 2019). Las microalgas pueden ser utilizadas para el tratamiento de residuos de frutas, reduciendo los altos niveles de contaminantes (C, N, P y C), logrando resolver la problemática actual de los desechos agroalimentarios.

2.4.5.1 Microalgas en el tratamiento de residuos de frutas

Los residuos de frutas se pueden utilizar como sustrato natural para la floración y evolución de microalgas a través de tratamientos preliminares (filtración o centrifugación, digestión aeróbica/anaeróbica). De esta manera, los nutrientes orgánicos / inorgánicos (C, N y P) presentes en el residuo de frutas pueden transformarse en biomasa de microalgas, mediante asimilación o eliminación de la composición química del desecho, permitiendo el escenario ideal para el aprovechamiento de residuos orgánicos (Mousavi *et al.* 2018).

2.4.5.2 Reutilización de residuos de frutas

Es un proceso innovador de reciclaje, de forma que los residuos sólidos o líquidos ofrecen el potencial de producir biomasa de microalgas de forma económicamente viable a través de la utilización de nutrientes (C, N y P), con el fin de estandarizar sistemas de cultivo eficientes que disminuyen los costos de producción de microalgas (Kamyab *et al.* 2016).

2.4.5.3 Cooperación entre microalgas y bacterias

La remediación de desechos agroalimentarios o agroindustriales en los sistemas de cultivo batch no es totalmente dependiente de las microalgas; puede ser más efectiva por consorcios naturales de microorganismos. Las interacciones complejas entre microalgas y bacterias durante el tratamiento de las aguas residuales pueden ayudar a una eliminación eficiente de carbono, nutrientes, metales pesados, compuestos recalcitrantes y patógenos; además, la proporción de microalgas y bacterias son una función de la composición del desecho y de las condiciones operativas de cultivo (Posadas *et al.* 2017). Entonces, en los bioensayos de crecimiento de microalgas en medios de residuos de frutas es difícil realizar cultivos axénicos, debido a que no es factible con el escalamiento a nivel industrial.

La Tabla 4 y 5, muestra la eficiencia remoción de contaminantes de diferentes tipos de aguas residuales e industriales por varias especies de microalgas.

Tabla 4: Eliminación de nitrógeno (N) y fósforo (P). Diversas especies de microalgas cultivadas en procesos discontinuos con diferentes tipos de aguas residuales

Categoría	Especie	Flujo de residuos	Nitrógeno total (N _T)		Fósforo total (P _T)	
			CI (mg L ⁻¹)	ER (por ciento)	CI (mg L ⁻¹)	ER (por ciento)
	<i>Chlorella</i> sp.	Estiércol digerido	100–240	76–83	15–30	63–75
	<i>C. kessleri</i>	Medio artificial	168	8–19 ^b	10–12	8–20 ^c
	<i>C. pyrenoidosa</i>	Aguas residuales industriales	267	87–89	56	70
	<i>C. sorokiniana</i>	Aguas residuales municipales	—	—	22	45–72
	<i>C. vulgaris</i>	Medio artificial	13–410	23–100 ^a	5–8	46–94 ^c
Chlorophyte	<i>C. vulgaris</i>	Aguas residuales industriales	3–36	30–95 ^a	112	20–55
	<i>C. vulgaris</i>	Aguas residuales municipales	48–1550	55–88	4–42	12–100
	<i>C. reinhardtii</i>	Medio artificial	129	42–83 ^a	120	13–14 ^c
	<i>Scenedesmus</i> sp.	Medio artificial	14–44	30–100 ^{a,b}	1.4–6.0	30–100 ^c
	<i>S. dimorphus</i>	Aguas residuales industriales	—	—	112	20–55
	<i>S. obliquus</i>	Aguas residuales municipales	27	79–100 ^a	12	47–98

^a Nitrógeno amoniacal (N–NH₃); ^b Nitrato (NO₃⁻–N); Nitrito (NO₂⁻–N); ^c Ortofosfatos totales (PO₄³⁻–P). CI: Concentración inicial (mg L⁻¹). ER: Eficiencia de remoción (por ciento)

Fuente: Cai *et al.* (2013)

Tabla 5: Tasas de remoción porcentual. Eliminación de contaminantes en diferentes orígenes de aguas residuales y productividad de biomasa de microalgas

Microalga	Tipo de residuos	ER (por ciento)	Productividad (mg L ⁻¹ d ⁻¹)
Simbiosis algas–bacterias (<i>Chlorella</i> + <i>Bacteria</i>)	AR domésticas sedimentadas	N = 92 P = 74 DQO = 87	N/A
<i>Chlorella sorokiniana</i> y <i>bacterias aeróbicas</i>	AR industriales	N = > 95 P = 80.7 DQO = 84.8	N/A
<i>Chlorella</i> sp.	AR municipales	N _T = 6.3 P _T = 5.7	0.07
	AR (estiércol)	N–NH ₄ ⁺ = 100 N _T = 75.7–82.5 P _T = 62.5–74.7	N/A
<i>Chlorella vulgaris</i>	AR textiles	N _T = 44.4–45.1 P _T = 33.1–33.3 DQO = 38.3–62.3	0.73 g L ⁻¹
	AR de cervecería	N _T = 87.27 P _T = 79.75	2.28 g L ⁻¹
	Efluente de ácido cítrico	N _T = 94.4 P _T = 90.6 DBO = 95.7 DQO = 94.9	0.765 g L ⁻¹
	AR municipales	NO ₃ ⁻ –N = 1.52 NO ₂ ⁻ –N = 3.26 N–NH ₄ ⁺ = 2.17 PO ₄ ³⁻ –P = 2.6	N/A

AR: Aguas residuales. N/A: No aplica

Fuente: Chai *et al.* (2021)

2.5 BIOPRODUCTOS

2.5.1 Bioproductos de microalgas

Las microalgas pertenecen a un grupo de materias primas de tercera generación; estas se presentan como alternativa prometedora, ya que son capaces de acumular altos niveles de lípidos combinados con altas tasas de crecimiento y productividad de biomasa en comparación con especies oleaginosas convencionales, además de no competir con la cadena alimentaria (Chen *et al.* 2018). Los aceites de las microalgas son un gran sustituto natural y renovable en comparación de otras fuentes de aceites convencionales.

2.5.1.1 Producción de lípidos de microalgas

La producción de diferentes microalgas con referencia a los tipos de sustratos con suplementación de residuos agroalimentarios se presenta en la Tabla 6.

Tabla 6: Productividades de cepas de microalgas en residuos agroalimentarios. Desechos orgánicos como medios de cultivo de microalgas

Cultivo	Residuos	Microalgas	Productividad		
			Biomasa (g L ⁻¹ d ⁻¹)	Lípidos (por ciento) ¹	Lípidos (por ciento) ²
M ^a	Agrícolas de arroz	<i>C. pyrenoidosa</i>	1.1 ± 0.02	~51.35	~56.36
M ^b	Frutas/hortalizas	<i>Chlorella</i> sp.	0.161	10–15	10–15
M ^b	Frutas/hortalizas	<i>Chlamydomonas</i> sp.	0.3816	~20	20–25
M ^b	Frutas/hortalizas	<i>Lagerheimia longiseta</i>	0.2622	~10	10–15
M ^b	Frutas/hortalizas	<i>Pediastrum tetras</i>	0.0653	15–20	15–20
H ^c	Vegetales de paja	<i>Chlorella</i> sp.	~1.28	~40.33	66.4
M ^d	Biocompost de frutas	<i>Lagerheimia longiseta</i>	0.0224	~8.17	~15.37
M ^d	Biocompost de frutas	<i>M. contortum</i>	0.0194	~10.27	~11.00
M ^d	Biocompost de frutas	<i>S. quadricauda</i>	0.0337	~12.61	~16.39

M: Mixotrófico; H: Heterotrófico.

¹Productividad de lípidos en medio sintético (control); ²Productividad de lípidos con adición de residuos agroalimentarios (tratamientos).

Fuente: ^aLi *et al.* (2011); ^bCalixto *et al.* (2016); ^cZhang *et al.* (2019); ^dde Medeiros *et al.* (2020)

2.5.2 Bioproductos de valor agregado

La biomasa de microalgas se ha convertido en una fuente alternativa de energía renovable, dentro de sus componentes químicos, las microalgas pueden acumular un alto contenido de lípidos (30–50 por ciento del peso total de biomasa); por consiguiente, en un enfoque de industrialización, las microalgas pueden alcanzar una mayor productividad de lípidos en comparación con cultivos energéticos convencionales, lo cual, le convierte en atractivo como materia prima en la producción de biodiesel y suplementos alimenticios saludables (Chen *et al.* 2018).

2.5.2.1 Lípidos de microalgas

Las microalgas producen lípidos, como el triacilglicérido (TAG) que se puede convertir en biodiesel, pero también en numerosos lípidos no combustibles (Figura 5). Las microalgas se pueden utilizar como fuente de suplementos alimenticios, como el omega-3, extraído tradicionalmente de aceite de pescado y también pueden ser fuente de materiales como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) para las industrias farmacéuticas (Roux *et al.* 2017).

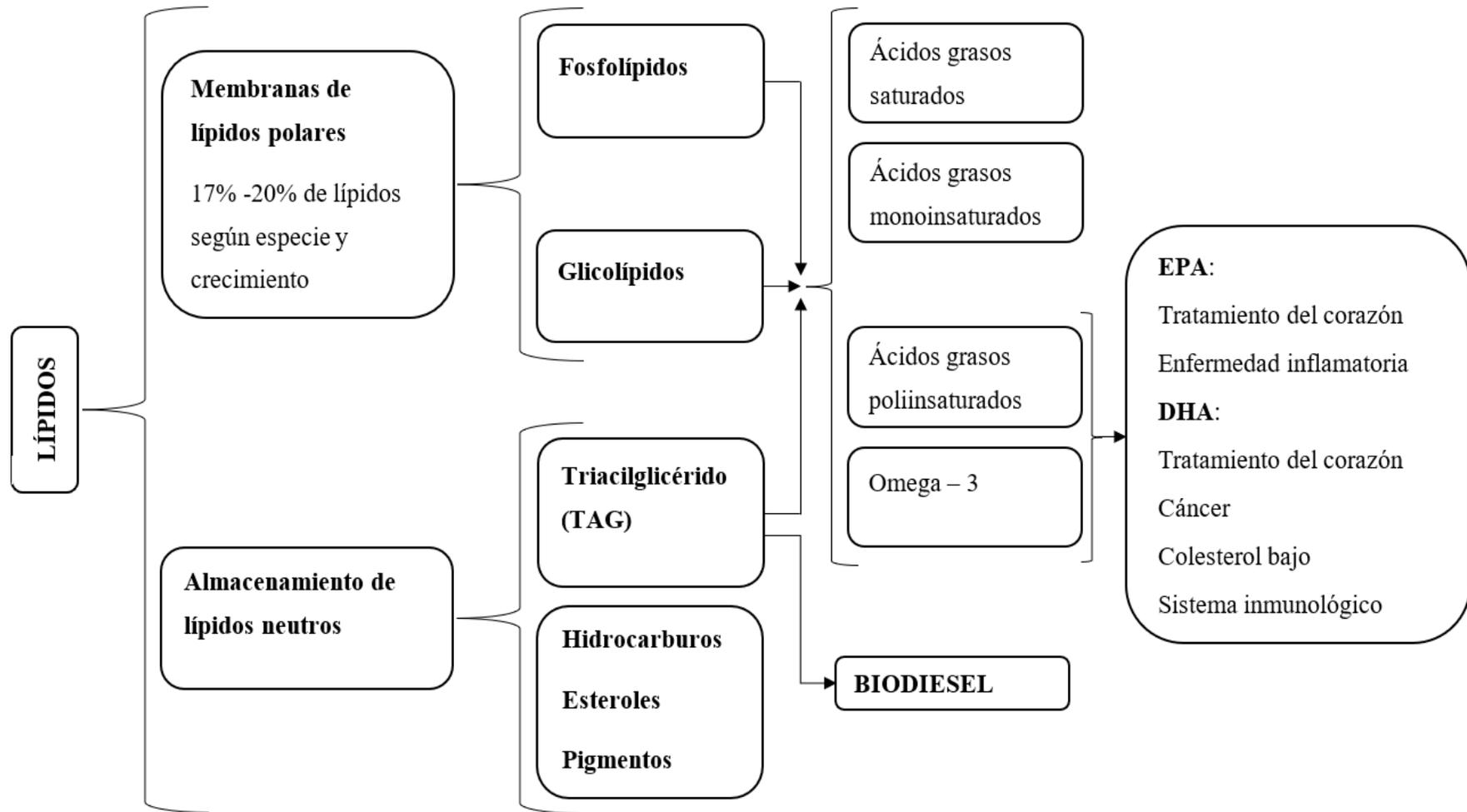


Figura 5: Lípidos de microalgas para la producción de biocombustibles y productos de alto valor

Fuente: Roux *et al.* (2017)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se desarrolló en el Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular (L-BBM), Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa (UNSA). Los experimentos realizados en este estudio fueron de escala laboratorio y se ejecutaron en 4 etapas principales:

- a. Caracterización fisicoquímica del residuo de fruta procesado (RFP);
- b. Generación del subproducto líquido de fruta (SLF) a partir del RFP y evaluación del crecimiento de microalgas en este medio.
- c. Producción de lípidos de microalgas en las mejores condiciones de crecimiento.
- d. Caracterización del SLF y determinación de su eficiencia de remoción de la carga contaminante.

3.1 ZONA DE ESTUDIO

En este estudio, el muestreo de los residuos agroalimentarios se realizó siguiendo la metodología de Edjabou *et al.* (2015), situado en la zona urbana del sector de distribución central, Plataforma Comercial Mercado Pesquero Arequipa (PC-MPA) ubicado en Yura-Uchumayo, distrito de Cerro Colorado, provincia de Arequipa. El muestreo de microalgas se realizó siguiendo el protocolo de colección de algas planctónicas de Bellinger y Sigee (2015), donde se ubicó un vertimiento de aguas residuales agroindustriales, localizado en el distrito de Cocachacra, provincia de Islay, Arequipa (Tabla 7).

Tabla 7: Ubicación geográfica de la zona de estudio

Descripción	Localización geográfica		
	¹ Este	¹ Norte	² Altura
PC-MPA	224484	8191098	2513
Microalgas	210311	8110279	101.5

¹Este y Norte (UTM WGS 84) – HUSO 19; ²Altitud (m s. n. m.).

3.2 VARIABLES E INDICADORES

La Tabla 8 muestra las variables independientes y dependientes con sus respectivos indicadores.

Tabla 8: Operacionalización de variables independientes y dependientes

Variable independiente	Indicador	Unidad	Operacionalización
Reutilización de residuos de frutas	Caracterización química	mg L ⁻¹	Color; DBO ₅ ; DQO; SST; NO ₃ ⁻ ; NO ₂ ⁻ ; N- NH ₃ ; NT Kjeldahl; K ⁺ ; PO ₄ ³⁻ ; SO ₄ ²⁻
	Combinación del SLF	v/v	SLF + H ₂ O, SLF + MBM, SLF + MN
	Concentraciones del SLF	por ciento	10, 20, 30, 40, 50
Variable dependiente	Indicador	Unidad	Operacionalización
Producción de lípidos a partir de microalgas con la reducción de nutrientes del SLF	Curvas de crecimiento	Ln células mL ⁻¹	0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 (días)
	Rendimiento de biomasa	células mL ⁻¹	0-7 (días)
	Productividad de biomasa	células mL ⁻¹	0-7 (días)
	Tasa de crecimiento	día ⁻¹	0-4 (días)
	Concentración de lípidos	mg L ⁻¹	0-3-7 (días)
	Rendimiento lipídico	mg L ⁻¹	0-7 (días)
	Productividad lipídica	mg L ⁻¹ d ⁻¹	0-7 (días)
	Consumo de nutrientes	mg L ⁻¹	DQO, NO ₃ ⁻ , PO ₄ ³⁻ , SO ₄ ²⁻ 0-2-4-7 días
	Eficiencia de remoción	por ciento	DQO, NO ₃ ⁻ , PO ₄ ³⁻ , SO ₄ ²⁻ 0-7 días
	Caracterización final del residuo	mg L ⁻¹	Color; DBO ₅ ; DQO; SST; NO ₃ ⁻ ; NO ₂ ⁻ ; N- NH ₃ ; NTK; K ⁺ ; PO ₄ ³⁻ ; SO ₄ ²⁻ 0-7 (días)

3.3 PLANIFICACIÓN EXPERIMENTAL

Se realizó la planificación experimental en base a los criterios de Calixto *et al.* (2016), Santana *et al.* (2017), Engin *et al.* (2018) y de Medeiros *et al.* (2020), donde se analizaron los efectos de diferentes condiciones de cultivo frente al crecimiento de la microalga:

1. La concentración inicial estándar del alga *Chlorella* sp. fue 1.0×10^6 células mL^{-1} (Condori *et al.* 2023) que se inocularon a las diferentes formulaciones del SLF.

2. Combinación del SLF con diferentes formulaciones de medios:

– X₁ = medio I (SLF + H₂O, agua destilada)

– X₂ = medio II (SLF + MBM¹)

– X₃ = medio III (SLF + MN²)

¹El MBM es un medio de cultivo sintético (Anexo 2) altamente nutritivo, que permite un mejor crecimiento de microalgas.

²La concentración de MN (suplemento) fue una solución de NaNO₃ (0.274 g L⁻¹) y K₂HPO₄ (0.036 g L⁻¹) con la finalidad de mejorar el medio de cultivo para las microalgas.

3. Las microalgas se cultivaron en diferentes combinaciones y formulaciones del SLF, que variaron de 10 a 50 por ciento, de acuerdo a los tratamientos descritos a continuación:

a. Tratamiento 1: 10 por ciento (10 mL SLF + 90 mL H₂O), 20, 30, 40 y 50 por ciento;

b. Tratamiento 2: 10 por ciento (10 mL SLF + 90 mL MBM), 20, 30, 40 y 50 por ciento;

c. Tratamiento 3: 10 por ciento (10 mL SLF + 90 mL MN), 20, 30, 40 y 50 por ciento;

d. Controles: BG11, MBM y MN. Se incluyeron controles inorgánicos, donde las microalgas se cultivaron en medio BG11 (anexo 1), MBM (anexo 2) y MN enriquecido de macro y/o micronutrientes, comúnmente utilizado en cultivos a gran escala.

Cada unidad experimental se desarrolló con 3 repeticiones (n = 3), para demostrar la representatividad de los datos.

3.4 INSTRUMENTACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Se utilizaron diversos equipos, materiales, insumos e informática para este estudio, que se describen en la Tabla 9.

Tabla 9: Marca, modelo y procedencia de los equipos, materiales, insumos e informática utilizados en este estudio

Clasificación	Marca / Modelo	Procedencia
Autoclave	Jpinglobal Model 2020, Autoclave	Colombia
Campana de flujo	Laminar flow chamber, Safzone	Estados Unidos
Microscopio	Carl Zeiss, Primo Star	Alemania
Conductímetro	HI 98130, Hanna Instruments	Italia
Turbidímetro	HACH 2100Q, Turbidimeter	España
Centrifugadora	Hettich Zentrifugen Universal 320R	Alemania
Espectrofotómetro	HITACHI, UH5300 Spectrophotometer	Japón
Cromatógrafo iónico	Sykam, S-150 IC Chromatography Systems	Alemania
Luxómetro	LX1010B Light Meter	Estados Unidos
Balanza analítica	A&D GH-200	Japón
Hemocitómetro	Neubauer Improved, Marienfeld	Alemania
Mini-compresor	SØBO, Aquarium Air Pump	Perú
Fluorescentes	Brook-Lighting, 18W	Perú
Recipiente	Borosilicato Pyrex	Alemania
Erlenmeyer	Boeco Pyrex	Alemania
Reactivos químicos I	Medio BG11	Perú
Reactivos químicos II	Medio MBM	Perú
Software graficador	GraphPad Prism 8.0.1.	Perú
Software estadístico	IBM SPSS Statistics V25.0	Perú

*medio BG11 (anexo 1); medio MBM (anexo 2)

Para cumplir con los objetivos del estudio se transfirieron muestras al Laboratorio de Certificaciones del Perú S.A. donde se analizaron los parámetros de color, DBO₅, DQO, SST, NO₃⁻, NO₂⁻, N-NH₃, NTK, PO₄³⁻ y K⁺, de acuerdo con los métodos descritos en la Tabla 10.

Tabla 10: Instrumentación del Laboratorio de Certificaciones del Perú (CERPER S.A.)

Parámetro	Unidad	Metodología	Método	Laboratorio
Color	UC	SMEWW-APHA-AWWA-WEF	Parte 2120 C, Spectrophotometric Single Wavelength Method	CERPER S.A. (INACAL)
DBO ₅	mg L ⁻¹		Parte 5210 B, 5-Day BOD Test	
DQO	mg L ⁻¹		Parte 5220 D, Closed Reflux, Colorimetric Method	
SST	mg L ⁻¹		Parte 2540 D, Total Suspended Solids Dried at 103–105 °C	
NO ₃ ⁻	mg L ⁻¹		Parte 4500–NO ₃ ⁻ E, Cadmium Reduction Method	
NO ₂ ⁻	mg L ⁻¹		Parte 4500–NO ₂ ⁻ E, Colorimetric Method	
N–NH ₃	mg L ⁻¹		Parte 4500–NH ₃ D, Ammonia-Selective Electrode Method	
NTK	mg L ⁻¹		Parte 4500–NORG B, Nitrogen Organic Macro-Kjeldahl Method	
PO ₄ ³⁻	mg L ⁻¹		Parte 4500–PO ₄ ³⁻ E, Ascorbic Acid Method	
K ⁺	mg L ⁻¹		Parte 3111 B, Direct Air-Acetylene Flame Method	

SMEWW-APHA-AWWA-WEF (Edición 23rd - 2017)

INACAL (Instituto Nacional de Calidad).

3.5 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.5.1 Determinación de la composición fisicoquímica del residuo de fruta procesado (RFP)

3.5.1.1 Muestreo de los residuos agroalimentarios

Se realizó siguiendo la metodología de Edjabou *et al.* (2015):

El lugar de muestreo se localizó en los containers de residuos de frutas de la PC-MPA. Se recolectaron muestras de residuos de frutas (mango, plátano, manzana, tomate, ciruela, melón, naranja, mandarina, uva, fresa, chirimoya, pera, piña, durazno y pepino) utilizando bolsas de polipropileno Ziploc (30 × 40) de capacidad de 10 kg. Se segregaron y rotularon los residuos de frutas, respectivamente. Las muestras se preservaron a ~4 °C en un cooler térmico, donde se transportaron al L-BBM de la UNSA para su procesamiento.

3.5.1.2 Preparación y caracterización del residuo de fruta procesado (RFP)

Se realizó siguiendo la metodología descrita por Choudhary *et al.* (2019):

Los residuos de frutas se procesaron en combinación de 1 L de agua destilada por 1 kg de residuo de fruta; se homogenizaron con centrifugación y trituración a razón de 10000 RPM (J. Oster BLST-4655, México). Después del licuado se coló y reservó la fracción líquida y se preservó a -15 °C. Se registraron el pH, conductividad eléctrica y temperatura (HI 98130, Hanna Instruments) y absorbancia a 570 nm (HITACHI, UH5300 Spectrophotometer). Se determinaron los parámetros DBO₅ y DQO, SST, NO₃⁻, NO₂⁻, N-NH₃, NTK, PO₄³⁻ y K⁺ en el laboratorio de CERPER S.A., y SO₄²⁻ en la UNSA.

3.5.2 Selección de microalgas adaptadas en RFP

3.5.2.1 Muestreo del material biológico

El muestreo biológico se realizó según el protocolo de colección de algas (Bellinger y Sigeo 2015). Se recolectaron muestras de microalgas en una corriente de agua conexas al sistema de alcantarillado de una agroindustria (Tabla 7), posible lugar donde descargan aguas residuales (OEFA 2019). Se recolectaron 40 mL (Falcón™ estéril 50 mL) de algas en 3 puntos ubicados en una sección transversal del riachuelo, y fueron trasladadas al L-BBM de la UNSA en un recipiente oscuro para luego ser procesadas y aisladas.

3.5.2.2 Selección de microalgas con potencial de adaptación en RFP

Este procedimiento se realizó siguiendo la metodología de Santana (2016). Se inocularon 10 por ciento de muestras de microalgas en RFP en proporciones de 5 por ciento (5 mL RFP + 95 mL agua destilada), 7.5 y 10 por ciento, respectivamente. Se ajustó el valor de pH a ~7 con adición de NaOH 2M. Se cultivaron las microalgas durante siete días a 24 ± 2 °C, bajo régimen de 12 horas de luz con intensidad de iluminación de 3000 Lx (LX1010B Light Meter) y 12 horas de oscuridad, y 2×4 L min⁻¹ de flujo de aire.

3.5.2.3 Screening de microalgas

Se aislaron las cepas de microalgas resistentes a residuos de frutas, utilizando un medio BG11 según el protocolo de aislamiento, purificación y mantenimiento de cepas de microalgas (Vega *et al.* 2017). De cada muestra biológica analizada en microscopio óptico (Carl Zeiss, Primo Star), se realizó la inoculación del 10 por ciento en medio BG11. Luego, se llevó a cabo el aislamiento de microalgas utilizando la técnica de diluciones en serie y agotamiento de placas en BG11 solidificado con 1.5 por ciento agar bacteriológico (Piligaev *et al.* 2015). Después del procedimiento, se incubaron las algas aisladas según las mismas condiciones del ítem 3.5.2.2.

3.5.3 Generación del subproducto líquido de fruta (SLF) y evaluación del crecimiento de microalgas en SLF

3.5.3.1 Generación del SLF a partir del RFP

Debido a que, las microalgas no pueden vivir en residuos de frutas procesados por la elevada turbidez se realizó la producción del SLF siguiendo los principios de Pleissner y Rumpold (2018), con los siguientes procedimientos:

Se clarificó el RFP con una centrifuga (H. Zentrifugen Universal – 320 R) a razón de 4500 RPM por 10 minutos a 4 °C. Se recogió el sobrenadante y se preservó a -15 °C, este producto se denominó subproducto líquido de fruta (SLF) y se utilizó para el cultivo de la microalga aislada. El SLF se mezcló con H₂O, MN, MBM (ver acápite planificación experimental) en las concentraciones de 10, 20, 30, 40 y 50 por ciento, respectivamente. Se determinó el pH, conductividad eléctrica, absorbancia a 570 nm y la turbidez (HACH 2100Q, Turbidimeter) de los medios generados a partir de las diluciones y formulaciones del SLF.

3.5.3.2 Evaluación del cultivo de microalgas en formulaciones de SLF

Este procedimiento se realizó siguiendo las metodologías de Santana *et al.* (2017) y Engin *et al.* (2018). Se inocularon 1.0×10^6 células mL^{-1} del alga *Chlorella* sp. en 250 mL de medios del SLF con H₂O, MBM y MN, respectivamente (ítem 3.3) con el ajuste inicial de pH ~ 7 , y en medios de BG11, MBM y MN (controles). Se cultivaron las microalgas durante 7 días en condiciones ambientales controladas (25 ± 2 °C), fotoperiodo (12h/12h), iluminación (4.0 ± 0.5 klux) y aireación continua (2×4 L min^{-1}). Se determinó la densidad celular de *Chlorella* sp. en cada tratamiento, y se monitorearon los cultivos mediante la determinación del pH.

3.5.3.3 Cinética de crecimiento de *Chlorella* sp.

El rendimiento y productividad de biomasa, y la tasa de crecimiento específica de *Chlorella* sp. en los cultivos (Gao *et al.* 2018) se calcularon de acuerdo con las ecuaciones (1), (2) y (3), respectivamente:

$$\text{Rendimiento de biomasa (células mL}^{-1}\text{)} = X_{max} - X_1 \quad (1)$$

$$\text{Productividad de biomasa (células mL}^{-1} \text{ d}^{-1}\text{)} = \frac{(X_{max} - X_1)}{\Delta t} \quad (2)$$

$$\text{Tasa de crecimiento específica (d}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Ln}(X_{max}) - \text{Ln}(X_1)}{\Delta t} \quad (3)$$

Donde X_{max} y X_1 es la concentración máxima e inicial de la biomasa de microalgas, durante el periodo de cultivo, respectivamente. La Δt es el intervalo del tiempo (día) entre X_{max} y X_1 .

De acuerdo con los mejores resultados de la evaluación de crecimiento de *Chlorella* sp. en formulaciones del SLF mediante pruebas estadísticas de significancia de ANOVA y HSD Tukey; se determinaron las condiciones óptimas para la producción de lípidos del alga *Chlorella* sp. y la reducción de nutrientes del SLF.

3.5.4. Producción de lípidos de microalgas en las mejores condiciones de crecimiento

3.5.4.1 Diseño del fotobiorreactor

Se diseñó un fotobiorreactor de vidrio en base al criterio de Condori *et al.* (2023), con dimensiones de 0.10 m (alto), 0.35 m (largo) y 0.17 m (ancho) (Figura 6) con volumen

de trabajo de ~4.0 L, con un ambiente de iluminación, aireación y temperatura, mediante focos fluorescentes LED, bombas de aire y agua, y ventiladores mecánicos con el fin de realizar el crecimiento de la microalga (anexo 5 y 11).

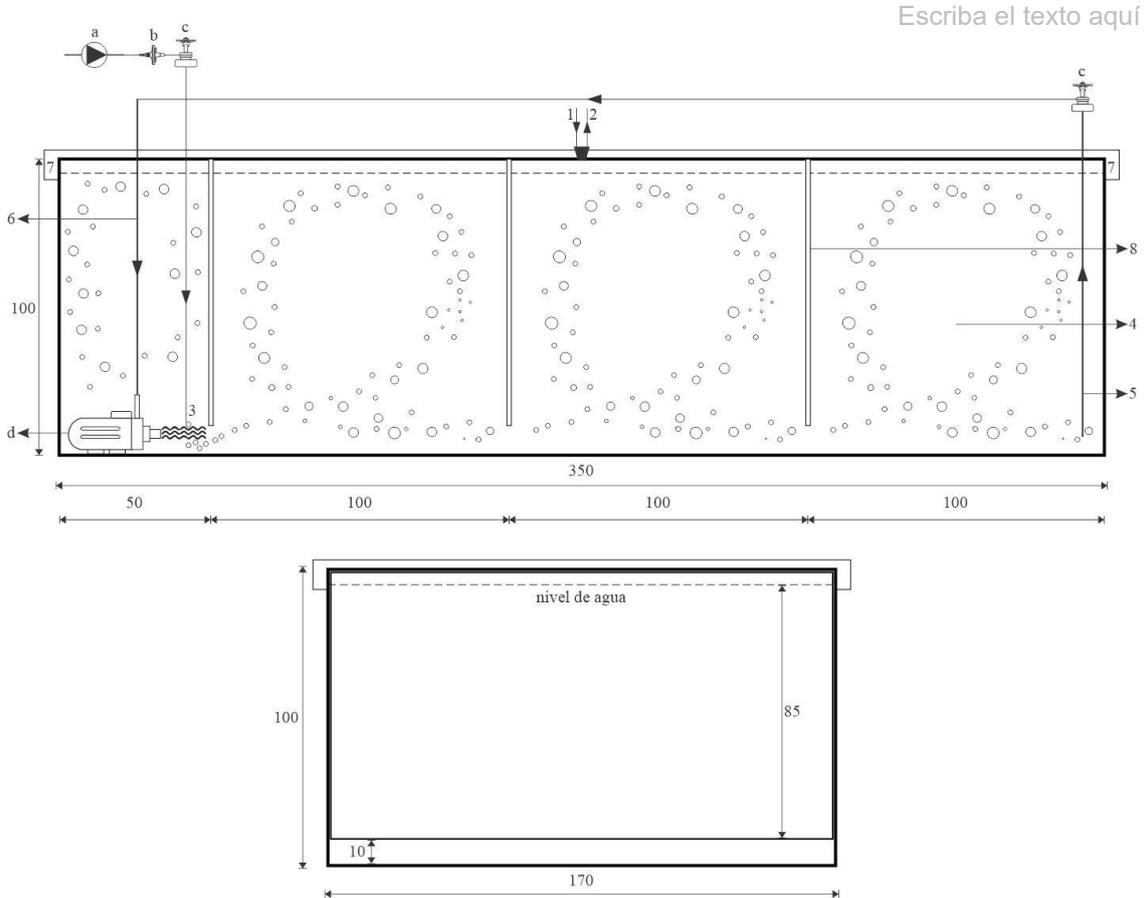


Figura 6: Diagrama esquemático del fotobiorreactor

[a] compresor de aire; [b] filtro de membrana hidrofóbico; [c] reguladores de presión; [d] bomba hidráulica. [1] entrada de muestra; [2] salida de muestra; [3] entrada y difusión de gas; [4] mezcla de líquido; [5] ascenso de líquido; [6] descenso de líquido; [7] salida de gas; [8] estructura vertical

3.5.4.2 Producción de lípidos en microalgas

Se realizó siguiendo la metodología de Cheng *et al.* (2017):

Se cultivaron 1.0×10^6 células mL^{-1} de *Chlorella* sp. en las mejores formulaciones al 10 por ciento del SLF (H_2O , MN, MBM) y control BG11 (0 por ciento) en el fotobiorreactor (Figura 6), durante 7 días en condiciones 25 ± 2 °C, 10 klux con 12/12 horas luz/oscuridad y 2×4 L min^{-1} de flujo de aire. Se recolectaron las muestras de microalgas en recipientes de vidrio ámbar (1 L) al inicio (día 0), intermedio (día 3) y final (día 7). Se acidificaron las muestras con H_2SO_4 6M hasta $\text{pH} \leq 2$.

3.5.4.3 Cuantificación de la concentración de lípidos

Se determinó la concentración de lípidos de *Chlorella* sp. con el método 1664 EPA – revisión B en el Laboratorio CERPER S.A. Los datos de rendimiento y productividad de lípidos de microalgas en el proceso de cultivo se calcularon con las ecuaciones (4) y (5):

$$\text{Rendimiento de lípidos (mg L}^{-1}\text{)} = L_{\max} - L_1 \quad (4)$$

$$\text{Productividad de lípidos (mg L}^{-1}\text{ d}^{-1}\text{)} = \frac{L_{\max} - L_1}{\Delta t} \quad (5)$$

Donde L_{\max} y L_1 es la concentración máxima e inicial de lípidos en los medios de cultivo algal, respectivamente. La Δt es el intervalo del tiempo (día) entre L_{\max} y L_1 .

3.5.4.4 Estimación de aceites a gran escala

Se realizó siguiendo las recomendaciones de Santana *et al.* (2017). La estimación de aceites para un cultivo de microalgas a mayor escala se calculó con la ecuación (6):

$$\text{Estimación de aceites (kg Tn}^{-1}\text{)} = L_{\max} \times \left(\frac{\text{FD} \times \text{FP} \times 10^3 \times 365}{10^6} \right) \quad (6)$$

Donde L_{\max} es la concentración máxima de lípidos. FD es el factor de dilución del residuo, y FP es el factor de proporción para la obtención del SLF. Los datos números de 10^3 , 365, y 10^6 corresponden a la conversión de kg a tn, estimación por año, y conversión de mg a kg, respectivamente.

3.5.5 Caracterización del SLF y determinación de eficiencia de remoción de la carga de nutrientes

Se realizó siguiendo las metodologías de Candido y Lombardi (2017) y Mousavi *et al.* (2018), con los siguientes procedimiento:

3.5.5.1 Determinación del consumo de DQO, nitrato, fosfato y sulfato

Las muestras recolectadas en días alternos (2^{do}; 4^{to}; 7^{mo} día) del periodo de cultivo con *Chlorella* sp. en medios al 10 por ciento del SLF con H₂O, MBM y MN se utilizaron para la determinación de DQO, NO₃⁻, PO₄³⁻ y SO₄²⁻, respectivamente. Para el parámetro de DQO se centrifugó a 3920 ×g, 10 min a 4 °C y el sobrenadante se analizó en CERPER SA. Para el NO₃⁻, PO₄³⁻ y SO₄²⁻ después de la centrifugación paso un filtrado mediante

un filtro de jeringa de 0.450 μm y el sobrenadante se cuantificó con cromatografía iónica (Sykam, S-150 IC Systems, Alemania).

3.5.5.2 Caracterización fisicoquímica del SLF al 100 por ciento y 10 por ciento

Se realizó la caracterización fisicoquímica del SLF al 100 por ciento, se registraron *in situ* el pH, temperatura, conductividad, absorbancia a 570 nm y turbidez. Se determinaron el color, DBO₅, DQO, SST, N-NH₃, NTK y K⁺ en CERPER S.A. Se cultivaron 10⁶ células mL⁻¹ de alga *Chlorella* sp. en el 10 por ciento del SLF con H₂O durante 7 días. Se analizaron las muestras al inicio (día 0) y final (día 7) del tratamiento biológico mediante su recolección y centrifugación a 3920 $\times g$ por 10 minutos a 4 °C, donde se utilizó el sobrenadante para su caracterización fisicoquímica en la UNSA y CERPER S.A.

3.5.5.3 Remoción del contenido de nutrientes del SLF al 10 por ciento

La eficiencia porcentual de remoción de la carga de nutrientes en los cultivos con *Chlorella* sp. en formulaciones al 10 por ciento del SLF (H₂O, MBM y MN) (de Melo *et al.* 2018) se calculó con la ecuación (7):

$$\text{Eficiencia de remoción (ER) (por ciento)} = \frac{C_i - C_n}{C_i} \times 100 \quad (7)$$

Donde C_i y C_n es la concentración inicial y final del contaminante, respectivamente.

3.5.6 Análisis estadístico

Los resultados se expresaron en media \pm desviación estándar ($n = 3$); los datos se graficaron utilizando el software GraphPad Prism 9.5.1. El análisis estadístico se realizó con el software IBM SPSS Statistics 25; la comparación de resultados se realizó mediante pruebas de ANOVA y HSD Tukey, con un nivel de confianza de 95 por ciento. Los valores de $p < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Determinación de la caracterización fisicoquímica de RFP

La Tabla 11 muestra la caracterización fisicoquímica del residuo de fruta procesado (RFP), proveniente de los residuos de frutas de la PC-MPA.

Tabla 11: Caracterización fisicoquímica del residuo de fruta procesado (RFP)

Parámetros	Unidad	RFP	Regulaciones ambientales para agua residual tratada		
			VMA	EEPA ^a	WHO ^a
pH	– log [H ⁺]	3.50	6–9	6–9	6.5–8.5
Temperatura	°C	18.3	<35	5–30	NA
Conductividad eléctrica	μS cm ⁻¹	3193.33		1000	1400
Color verdadero	UC	1119			
Absorbancia a 570 nm	UA	14.02			
Turbidez	NTU	4913.30			25
Sólidos suspendidos totales	mg L ⁻¹	18,730	500		
DBO ₅	mg L ⁻¹	40,041	500	<5	<5
DQO	mg L ⁻¹	76,914	1000	5	<5
Nitrato	mg L ⁻¹	4.35		50	30
Nitrito	mg L ⁻¹	0.008			
Nitrógeno amoniacal	mg L ⁻¹	14.94			
Nitrógeno Orgánico Kjeldahl	mg L ⁻¹	286			
Fosfato	mg L ⁻¹	22.4			
Sulfato	mg L ⁻¹	593.15		200	200
Potasio	mg L ⁻¹	1217			12

Análisis químico en CERPER S.A., con excepción del pH, temperatura, absorbancia, turbidez, conductividad y sulfato. VMA: valores máximos admisibles; EEPA: Autoridad de Protección Ambiental de Etiopía; WHO: Organización Mundial de la Salud. UA: Unidad Arbitraria; NTU: Unidad Nefelométrica de Turbidez; UC: Unidad de Color. Nitrógeno Orgánico Kjeldahl (NTK). Fuente: ^a Mekonnen *et al.* (2020).

Conforme a los resultados mostrados, el RFP presenta contaminantes y nutrientes, se caracteriza principalmente por tener un pH ácido (3.50 ± 0.02), la cantidad de la materia

orgánica es elevada con valores de DBO₅ y DQO de 40,041 mg L⁻¹ y 76,914 mg L⁻¹, respectivamente. La concentración de SST es de 18,730 mg L⁻¹, además, tiene un alto contenido de material particulado, con absorbancia a 570 nm de 14.02 ± 0.4 y turbidez de 4913.30 ± 94.52 NTU; el contenido de sulfato (593.15 mg L⁻¹) y potasio (1217 mg L⁻¹) también fueron moderadamente altos.

La conductividad eléctrica fue alta con valor de 3193.33 ± 15.28 μS cm⁻¹ comparando con las regulaciones ambientales de la EEPA y WHO, así mismo, los valores de nitrógeno y fósforo fueron altos, siendo los parámetros más representativos el NTK con 286 mg L⁻¹ y fosfato con 22.4 mg L⁻¹.

En Perú, todavía no existe una normativa nacional específica que regule o parametrice los residuos agroalimentarios. Por el momento, la legislación aplicable es la Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos (D.L. 1278), en la cual se definen los pilares de reducción, reutilización y valorización de desechos orgánicos. de Medeiros *et al.* (2020), definen que los desechos agroalimentarios de frutas y hortalizas pertenecen a la categoría de residuos agroindustriales; así mismo, Araujo *et al.* (2021), determinan que el procesamiento de los residuos agrícolas corresponde al tipo de efluentes agroindustriales.

Por este motivo, este estudio realiza la comparación del RFP con los VMA del D.S. 001–2015–VIVIENDA (MVCS 2015), según el estándar de Clasificación Industrial Internacional Uniforme (CIIU 1030, elaboración y conservación de frutas, legumbre y hortalizas) (MVCS 2016). A nivel internacional, Mekonnen *et al.* (2020), comparan las propiedades fisicoquímicas de lixiviados de un vertedero de desechos alimentarios, con los límites permisibles de los estándares de la Autoridad de Protección Ambiental de Etiopía (EEPA) y la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Según la información de la composición química del RFP, éstos no cumplen con la normativa ambiental de los VMA aplicada para el sector agroalimentario; a excepción de la temperatura (<35 °C), debido a que el residuo de fruta fue procesado a una temperatura ambiente. Además, el RFP no cumple con los límites de descarga de residuos alimentarios estandarizados por la EEPA y WHO. Según el análisis del RFP, los parámetros fisicoquímicos no cumplen con las regulaciones medioambientales; por lo tanto, es evidente que exista la necesidad de buscar soluciones para la valorización y disposición de los residuos de frutas en el Perú. En este sentido, el RFP se caracteriza principalmente

por tener una alta concentración de materia orgánica, siendo este residuo un medio de cultivo ideal para su reutilización en la producción de bioproductos con microalgas.

4.2 Evaluación de la adaptación de microalgas en RFP

Las microalgas encontradas en el alcantarillado de una agroindustria en Arequipa fueron del género *Chlorella* y *Scenedesmus* (Anexo 3); estas algas se utilizaron como inóculos para el cultivo en el RFP con el fin de seleccionar la mejor alga que se adapte a estos residuos. En la Figura 7 se muestra la microalga del género *Chlorella* sp., la cual se adaptó y creció en los residuos de frutas procesados al 5, 7.5 y 10 por ciento, mostrando una tolerancia hasta la concentración de 10 por ciento del RFP.

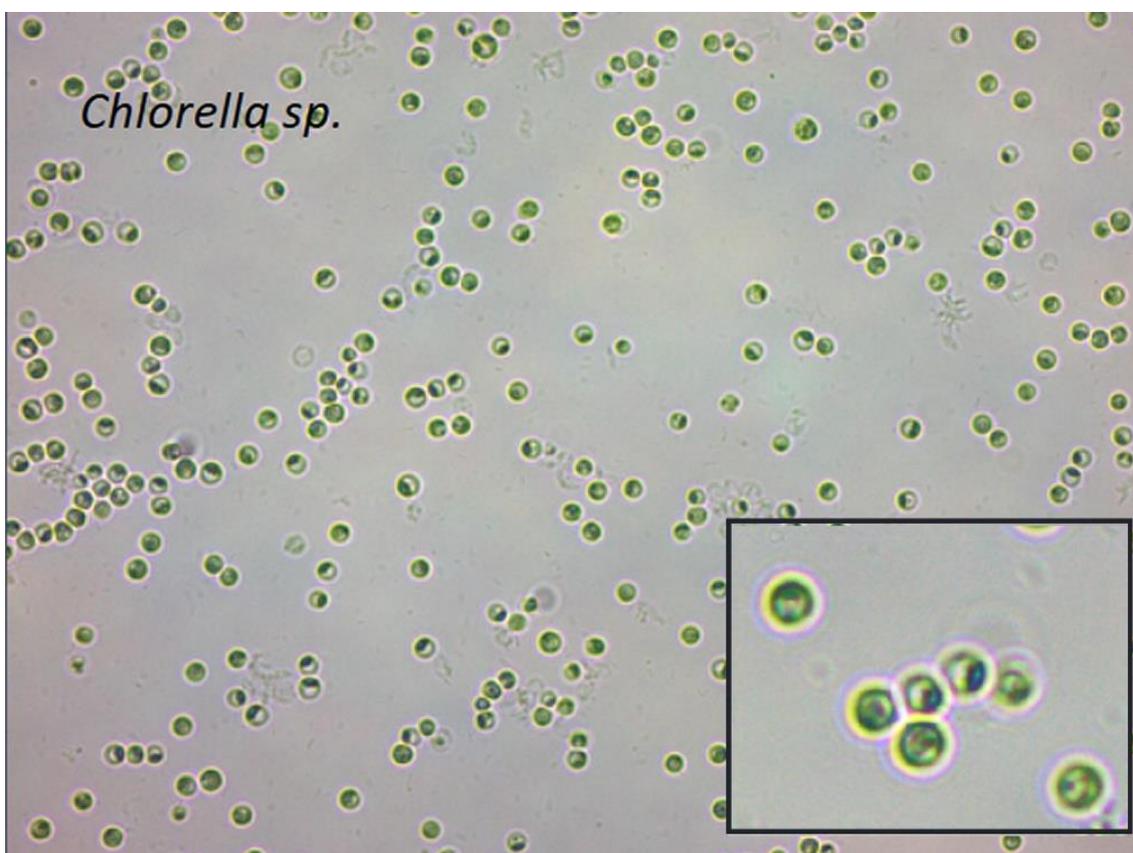


Figura 7: Aislamiento e identificación de *Chlorella* sp. adaptada en RFP. Definición visual de microscopía óptica en el objetivo 40^x

Calixto *et al.* (2016) y de Medeiros *et al.* (2020), demostraron que, las microalgas del género *Chlorella* spp. tienen las mejores respuestas de desarrollo en presencia de residuos agroindustriales y agroalimentarios de hortofrutícolas.

Santana (2016), informó que la adaptación y selección microbiana en residuos agro-industriales es una importante técnica en el screening de cepas de microalgas verdes con potencial tolerante a las aguas residuales con elevada carga orgánica. Éste mismo criterio fue utilizado en la investigación, y se encontró que el alga *Chlorella* sp. tiene las mejores tendencias de desarrollo en residuos de frutas, posiblemente porque son más tolerantes y resistentes en efluentes industriales.

4.3 Generación de SLF y evaluación del crecimiento de microalgas

La Figura 8 muestran los resultados del pretratamiento del RFP mediante centrifugación, con el cual se obtiene un nuevo subproducto líquido de fruta (SLF), en el que se eliminó gran cantidad del material particulado presente en el RFP. Según los resultados, el RFP tiene una absorbancia a 570 nm de 14.02 ± 0.40 , después del pretratamiento el SLF obtuvo un valor 0.372 ± 0.002 , demostrando una reducción de ~97.34 por ciento del material suspendido; esto también se vio reflejado en la medición de la turbidez, que redujo su valor de 4913.33 ± 94.52 NTU a 45.36 ± 0.70 NTU con una eficiencia de eliminación de 99.1 por ciento. El fin de un pretratamiento es la clarificación del residuo, reduciendo al máximo la turbiedad en el RFP, mejorando así, la transmitancia del paso de luz.

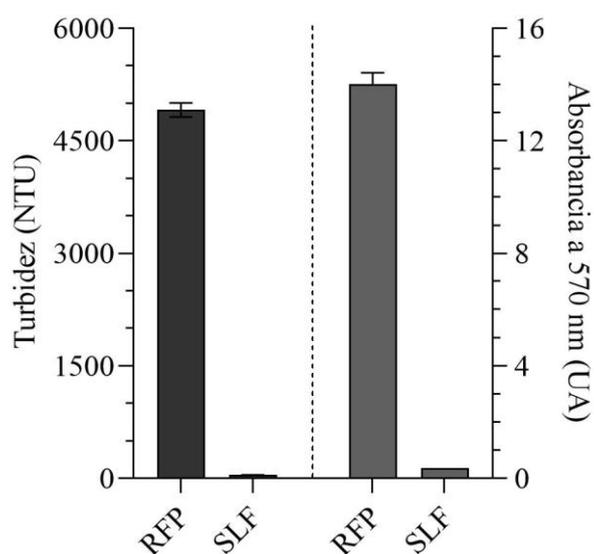


Figura 8: Resultados del pretratamiento del RFP y SLF. Reducción del material particulado. Turbidez (NTU) y Absorbancia a 570 nm (UA). Barras de error representan la desviación estándar de $n = 3$. RFP (residuo de fruta procesado); SLF (subproducto líquido de fruta)

Diferentes investigaciones (Rathika *et al.* 2019; Amor *et al.* 2019) informaron que el pretratamiento de clarificación en residuos agroindustriales se realiza mediante centrifugación a velocidad de 4000 RPM por 10 minutos similar a las condiciones de este estudio. Posadas *et al.* (2014), definieron el proceso de centrifugación y filtración como métodos idóneos para obtener un sobrenadante clarificado y garantizar posteriormente el cultivo con microalgas en residuos agroindustriales tratados.

En las plantas de la industria azúcar–alcoholera, uno de los métodos utilizadas para separar las levaduras de las aguas residuales de destilería, con el fin de obtener la biomasa seca y su destino a la producción de raciones, es la centrifugación a gran escala (Candido y Lombardi 2017). De esta manera, se opta por utilizar la fuerza centrífuga como técnica de tratamiento previa en RFP, debido a que, la aplicación de otros procedimientos físicos o químicos implicarían un aumento de costos en la preparación del medio de cultivo, siendo un escenario no rentable a una escala industrial.

La Figura 9 (a–b) muestra los valores promedios de conductividad y absorbancia para diferentes concentraciones del SLF y diferentes formulaciones (+H₂O, +MBM y +MN) y controles respectivos (BG11, MBM y MN) en condiciones de pH neutro (~7.1). El SLF con H₂O, es clasificado como un sustrato relativamente bajo en nutrientes debido a la combinación con agua; el SLF con MN es un sustrato regular en nutrientes debido a su combinación con MN (N y P) y finalmente, el SLF con MBM es el mejor medio de cultivo debido a la mezcla con MBM (3N–Bristol Modificado, rico en macro y micronutrientes).

Los resultados de conductividad variaron de acuerdo con las concentraciones del SLF incrementándose conforme el mayor porcentaje de SLF. El SLF en combinación con H₂O, MBM y MN tienen los máximos valores de $2866.7 \pm 5.7 \mu\text{S cm}^{-1}$, $3426.7 \pm 5.7 \mu\text{S cm}^{-1}$ y $3056.7 \pm 5.7 \mu\text{S cm}^{-1}$, respectivamente, a la concentración de 50 por ciento.

Con relación a la absorbancia a 570 nm del SLF en combinación con H₂O, MBM y MN, su densidad óptica indicó una relación directa en la concentración del SLF sobre el aumento de material particulado, con valores de 0.037 ± 0.002 , 0.031 ± 0.002 , 0.039 ± 0.002 al 10 por ciento (v/v), respectivamente; siendo estas características los indicadores de un medio de cultivo ideal para el posterior crecimiento de microalgas.

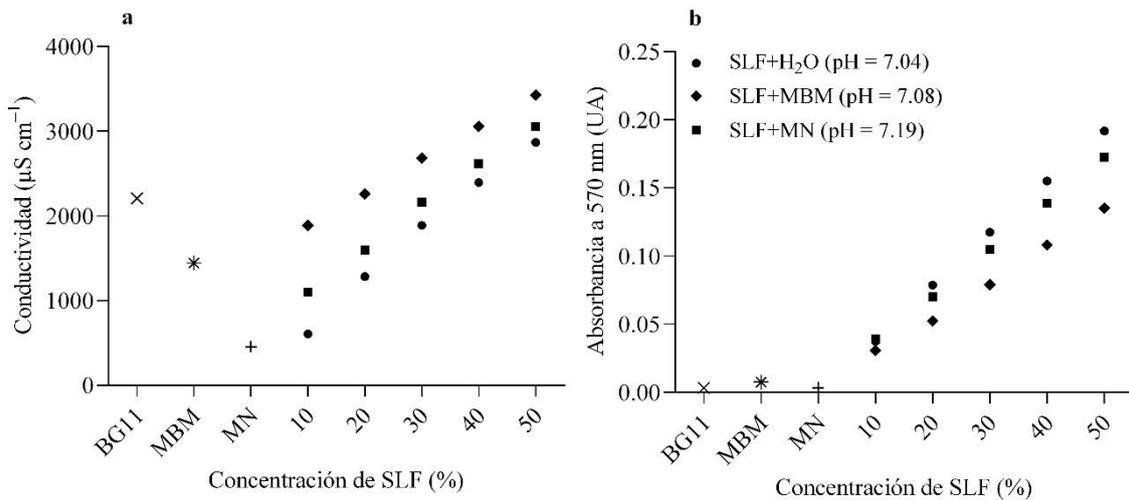


Figura 9: Conductividad y absorbancia. Valores promedio de conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$) (a) y absorbancia a 570 nm (UA) (b) de la concentración del SLF a diferentes combinaciones (H₂O, MBM y MN) y controles (BG11, MBM y MN). Barras de error representan la desviación estándar de n = 3. SLF (subproducto líquido de fruta)

Calixto *et al.* (2016) y de Medeiros *et al.* (2020), estandarizaron un medio de cultivo HB (biocompost de residuos de frutas y hortalizas), con valores de $374 \mu\text{S cm}^{-1}$ de electroconductividad, siendo un sustrato de cultivo de bajo contenido de minerales (electrolitos) a comparación con los medios estándares del SLF de este estudio. Según Condori *et al.* (2023), la conductividad eléctrica y absorbancia se consideran los indicadores físicos que permiten definir el mejor sustrato para el crecimiento del alga *Chlorella sp.*, debido a que las microalgas necesitan suficientes nutrientes para su crecimiento, y la exposición a luz para su actividad fotosintética.

La Figura 10 muestra el ciclo de vida de *Chlorella sp.*, con el objetivo de estandarizar su fase exponencial en el medio BG11; siendo estas células los agentes inoculantes para el tratamiento del SLF en sus formulaciones con H₂O, MBM y MN. Según los resultados, en la curva de crecimiento de *Chlorella sp.* se presenta una fase exponencial (día 0° – 8°) y una fase estacionaria (día 8° – 10°); sin embargo, no se muestra una fase de adaptación debido a que, la microalga fue adaptada al BG11 mediante 4 trasplantes o repiques. Marchello *et al.* (2018), informaron que los inóculos de microalgas en su fase exponencial media tienen un rendimiento fotosintético máximo, que está relacionada con la condición fotosintética más saludable (Candido y Lombardi 2020). Candido y Lombardi (2018), indicaron que la microalga debe activarse fisiológicamente para optimizar su crecimiento.

Por lo tanto, según el análisis de la curva de continuidad de vida de *Chlorella* sp. (Figura 10), se observa que el 5^{to} y 6^{to} día corresponden a los mejores periodos para la transferencia de inóculos en las diferentes formulaciones del SLF.

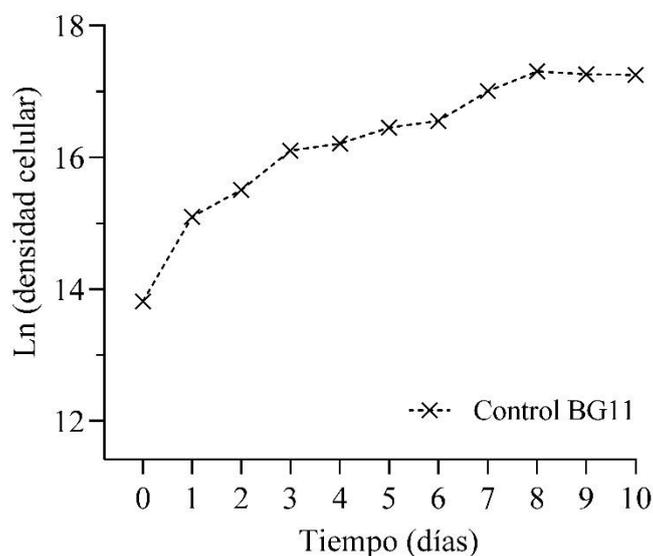


Figura 10: Curva de crecimiento de *Chlorella* sp. en BG11. Logaritmo natural de los valores promedio de la densidad celular (Ln células mL⁻¹) para el medio sintético BG11. Barras de error representan la desviación estándar de n = 3

4.4 Cultivo de *Chlorella* sp. en las formulaciones del SLF

La Figura 11 muestran las curvas de crecimiento del alga *Chlorella* sp. analizada en diferentes concentraciones y formulaciones del SLF durante los siete días de cultivo. La densidad final de biomasa de *Chlorella* sp. fue significativamente superior en 10 por ciento del SLF en todas las formulaciones, mostrando su potencial de crecimiento en este tipo de residuo agroalimentario.

Según los resultados, los cultivos con el SLF (+H₂O, +MBM, +MN) (Figura 11 a, b, c) mostraron tendencias similares para el crecimiento algal, indicando significativamente una similar densidad celular de *Chlorella* sp. al 10 por ciento de SLF en H₂O y MN; seguido del MBM. La Figura 11 (a, b, c) presentan las mejores densidades de biomasa de *Chlorella* sp. con valores de 305 ± 6.06 , 159 ± 4.21 y 306 ± 6 ($\times 10^5$ células mL⁻¹) en 10 por ciento de SLF con H₂O, MBM y MN, respectivamente, superando a los controles (149 ± 6.59 en BG11; 147 ± 4.75 en MBM; 61.9 ± 1.88 en MN, $\times 10^5$ células mL⁻¹). El SLF con H₂O siendo un sustrato relativamente bajo en nutrientes demostró un alto crecimiento del alga. El SLF con MN siendo un sustrato moderado en macronutrientes

con nitrógeno (N) y fósforo (P) limitado, también fue posible el cultivo para *Chlorella* sp. Por último, el SLF con MBM fue el tercer sustrato ideal para el cultivo del alga.

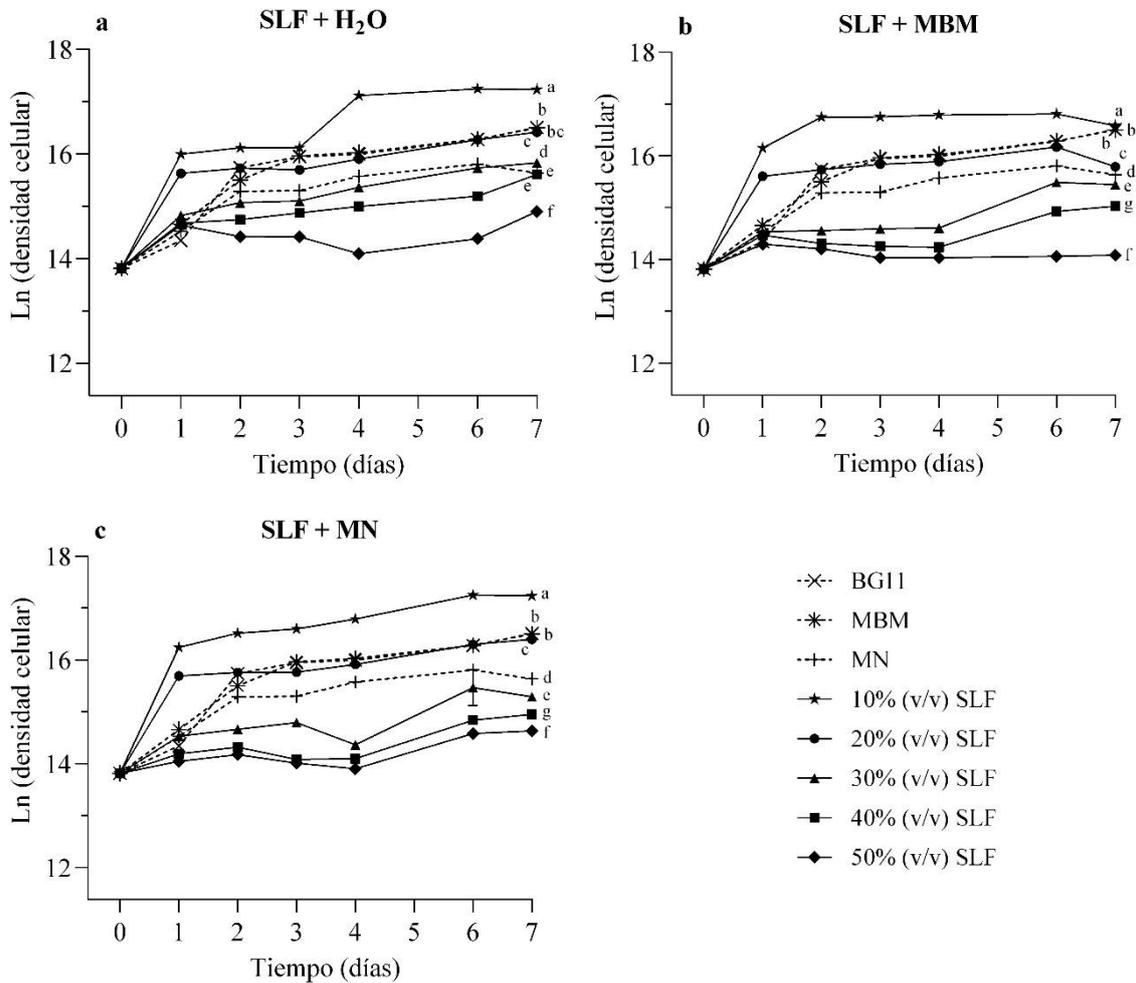


Figura 11: Curvas de crecimiento de *Chlorella* sp. en diferentes formulaciones del SLF. Logaritmo natural de valores promedio de densidad celular ($\text{Ln células mL}^{-1}$) en 10, 20, 30, 40 y 50 por ciento del SLF a diferentes formulaciones (H_2O , MBM y MN), respectivamente, y controles (BG11, MBM y MN). Barras de error representan la desviación estándar de $n = 3$. Letras diferentes indican que los valores difieren significativamente (ANOVA, $p < 0.05$)

Wang *et al.* (2020), aplicaron hidrolizados de residuos de alimentos diluidos a varias dosis de glucosa (10 a 30 g L^{-1}) en el cultivo de microalgas con la finalidad de mejorar la producción de *Chlorella* sp., demostrando resultados prometedores en $20 \text{ g glucosa L}^{-1}$. Chew *et al.* (2018), utilizaron compost de residuos de alimentos como fuente de nutrientes para el crecimiento de *C. vulgaris*; sus resultados indicaron que, el cultivo de la microalga con soluciones de compost (65–85 por ciento) mostró alta producción de biomasa en comparación con el BG11. Lo anterior confirma que, la estrategia de reutilizar desechos

orgánicos en forma de SLF a diferentes proporciones permitió mejorar el crecimiento logarítmico de *Chlorella* sp. a la mejor concentración del residuo. Según los análisis estadísticos (Figura 11 a, b, c), el cultivo de *Chlorella* sp. al 10 por ciento de todas las formulaciones del SLF son significativamente mayores en comparación con los demás tratamientos (20, 30, 40 y 50 por ciento); así mismo, entre las combinaciones del SLF, la mejor fue el H₂O, después el MN, finalmente el MBM, posiblemente este efecto se produce porque las microalgas necesitan de un medio con el balance de nutrientes adecuados. Chang *et al.* (2016) y Fu *et al.* (2016), informaron que, el exceso de macro y micronutrientes o suplementos (N y P), contenidos en medios de aguas residuales, pueden causar efectos negativos durante el crecimiento de las microalgas, lo que conllevan a un desarrollo deficiente o incluso a una muerte celular. Esto último explicaría, que las concentraciones superiores del SLF al 10 por ciento (20 al 50 por ciento) ocasionaron la disminución de crecimiento de *Chlorella* sp., debido que, el alto contenido de materia orgánica y sales minerales se relaciona con una mayor concentración de SLF.

La Figura 12 (a, b) muestra que, el mejor rendimiento y productividad de biomasa se obtiene significativamente en la concentración de 10 por ciento del SLF en la condición con H₂O, seguido con MN y MBM al 4^{to} día de cultivo, con rendimientos de 262 ± 5.39 , 186 ± 2.08 y 185 ± 1.44 ($\times 10^5$ células mL⁻¹), respectivamente, indicando datos superiores a los controles inorgánicos (78.8 ± 1.38 , BG11; 81.5 ± 8.87 , MBM; 4.8 ± 1.0 , MN, $\times 10^5$ células mL⁻¹). Esta tendencia ocurre de igual forma para la productividad celular de la microalga. Además, existe un firme crecimiento celular de *Chlorella* sp. en 20 por ciento del SLF en todas sus formulaciones, superando al control MN. Se observó un ligero incremento de la microalga en el máximo porcentaje (50 por ciento) del SLF en H₂O, MBM, MN. Conforme aumenta el contenido del SLF se redujo el crecimiento del alga *Chlorella* sp. producto del excesivo contenido de materia orgánica (> 8250 mg DQO L⁻¹).

Araujo *et al.* (2021) estudiaron el efecto de las aguas residuales del procesamiento de yuca (CPW) sobre el desarrollo de *Arthrospira platensis*, observaron que la dosis mínima de CPW (0.5 mL día⁻¹) mejoró el cultivo del alga; además, la producción de *A. platensis* sometido a dosis diarias de 2 mL día⁻¹ altera el hábitat del alga e induce un cambio en su ruta metabólica. Lo anterior coincide con nuestro estudio, donde el mínimo contenido del SLF mejoró la cinética de crecimiento del alga sin alterar la fisiología microbiana. Lau *et al.* (2014), evaluaron el crecimiento de *C. vulgaris* en hidrolizados de residuos de alimentos en concentraciones que oscilaron entre el 2.5 y 50 por ciento (v/v); de acuerdo

con los experimentos, del 2.5 al 20 por ciento, la tasa de crecimiento del alga aumentó directamente, sin embargo, a mayores porcentajes (30, 40 y 50 por ciento) el crecimiento disminuyó, mostrando que, los contenidos superiores de carbono orgánico inhiben el desarrollo de *C. vulgaris*. Kamyab *et al.* (2016), realizaron un estudio sobre *C. vulgaris*, la cual se cultivó en efluentes de molinos de aceite de palma (POME), en concentraciones de 0, 250, 500 y 1000 mg DQO L⁻¹. Se encontró que, el potencial para producir alto contenido de biomasa algal utilizando POME diluido fue a 250 mg L⁻¹. En este estudio, a partir del 30 por ciento SLF causaron la muerte en las células de *Chlorella* sp.

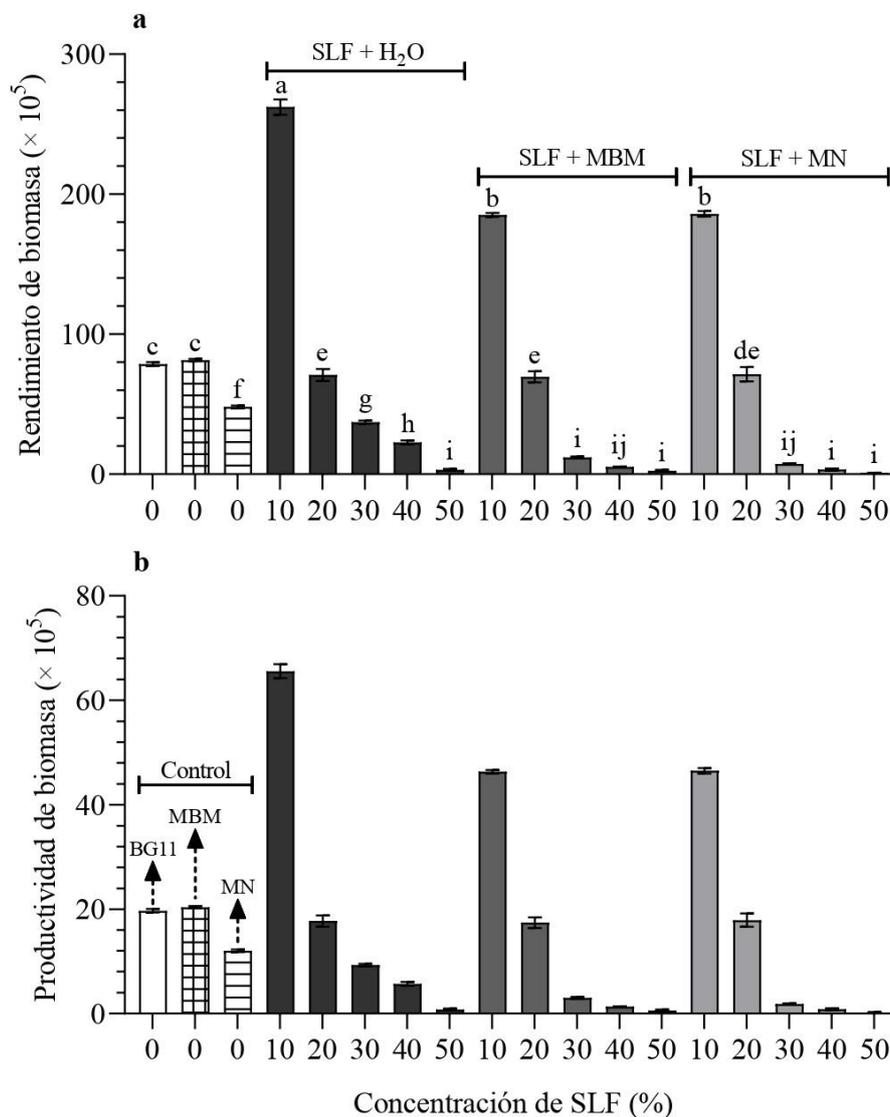


Figura 12: Rendimiento celular (células mL⁻¹) (a) y productividad celular (células mL⁻¹ d⁻¹) (b) de *Chlorella* sp. en 10, 20, 30, 40 y 50 por ciento de las formulaciones de SLF (H₂O, MBM y MN) y controles (BG11, MBM y MN) al 4^{to} día de tratamiento. Barras de error representan la desviación estándar de n = 3. Letras diferentes indican que los valores difieren significativamente (ANOVA, p < 0.05)

La Figura 13 muestra la interacción de la tasa de crecimiento de *Chlorella* sp. en las diferentes concentraciones y formulaciones del SLF al 2^{do} día de cultivo. El crecimiento máximo de *Chlorella* sp. se obtiene significativamente en 10 por ciento del SLF y MBM (análisis en minúsculas), seguido con MN y finalmente con H₂O, con valores de 1.47 ± 0.002 , 1.35 ± 0.008 y 1.15 ± 0.006 d⁻¹, respectivamente, indicando respuestas superiores en comparación a los controles de BG11 (0.96 ± 0.010 d⁻¹), MBM (0.84 ± 0.002 d⁻¹) y MN (0.74 ± 0.007 d⁻¹). Además, existe un crecimiento de la microalga en 20 por ciento del SLF en todas sus formulaciones, estadísticamente similares (análisis en minúsculas) al mejor control sintético inorgánico (BG11). Condori *et al.* (2023), informaron que, el elevado contenido de materia orgánica y minerales en aguas residuales agroindustriales, conducen al efecto osmótico en células de *Chlorella* sp. causando su degradación celular.

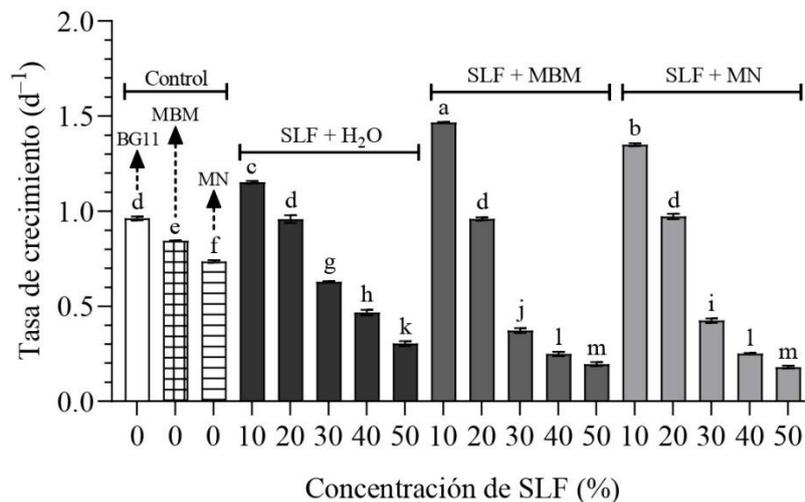


Figura 13: Tasa de crecimiento (μ) (d⁻¹) de *Chlorella* sp. en 10, 20, 30, 40 y 50 por ciento de las formulaciones del SLF (H₂O, MBM y MN) y controles al 2^{do} día de tratamiento. Barras de error representan la desviación estándar de n = 3. Letras diferentes indican que los valores difieren significativamente (ANOVA, p < 0.05)

La Tabla 12 muestra la comparación de los valores máximos de tasas de crecimiento de especies de microalgas en respuesta a diferentes condiciones de residuos alimentarios. En este estudio, la concentración del SLF (10 por ciento) en combinaciones con MBM, MN y H₂O proporcionaron los mejores crecimientos para *Chlorella* sp., superiores con los valores informados en la literatura. En los antecedentes, optimizaron el tratamiento previo de los residuos alimentarios o realizaron diluciones significativas, ocasionando un aumento de los costos económicos para la producción de microalgas. En este trabajo, el único proceso de clarificación fue la centrifugación, seguido de diluciones desde 10 hasta 50 por ciento del SLF demostrando la viabilidad del método de cultivo para *Chlorella* sp.

Tabla 12: Comparación de tasa de crecimiento. Valores máximos de crecimiento (d^{-1}) de *Chlorella* sp. obtenidos en este estudio y resultados reportados en la literatura

Cepa	Condiciones de cultivo	Concentración	μ (d^{-1})	Referencia
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Hidrolizados de residuos alimentarios purificado	—	1.1 ± 0.4	Pleissner <i>et al.</i> (2013)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Hidrolizados de residuos alimentarios	20 v/v	0.8	Lau <i>et al.</i> (2014)
<i>Chlorella</i> sp.	Biocompost de frutas/vegetales	10 mL L ⁻¹	0.88 ± 0.32	Calixto <i>et al.</i> (2016)
<i>Chlorella sorokiniana</i>	POME	250 mg DQO L ⁻¹	0.099	Kamyab <i>et al.</i> (2016)
<i>Galdieria sulfuraria</i>	Hidrolizados de residuos alimentarios	500 mg L ⁻¹ NH ₄ ⁺	1.22 ± 0.01	Sloth <i>et al.</i> (2017)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Compost de residuos de alimentos	25C ^a	0.357 ± 0.035	Chew <i>et al.</i> (2018)
<i>Chlorella</i> sp.	Digestato anaerobio de residuos alimentarios	1500 mg L ⁻¹ N-NH ₃	0.38 ± 0.01	Chuka-ogwude <i>et al.</i> (2020)
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Digestato anaerobio de residuos alimentarios	1500 mg L ⁻¹ N-NH ₃	0.36 ± 0.02	Chuka-ogwude <i>et al.</i> (2020)
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Biocompost hortícola	10 mL L ⁻¹	1.27 ± 0.58	de Medeiros <i>et al.</i> (2020)
<i>Chlorella</i> sp.	Hidrolizados de residuos alimentarios diluidos	20 g L ⁻¹ glucosa	0.24	Wang <i>et al.</i> (2020)
<i>Arthrospira platensis</i>	Agua residual procesamiento yuca	1 mL día ⁻¹	1.16	Araujo <i>et al.</i> (2021)
<i>Chlorella</i> sp.	Digestato anaerobio de residuos alimentarios	950 mg DQO L ⁻¹	0.093 ± 0.02	Chuka-ogwude <i>et al.</i> (2022)
<i>Chlorella</i> sp.	Digestato anaerobio de residuos alimentarios	110 mg DQO L ⁻¹	0.073 ± 0.02	Chuka-ogwude <i>et al.</i> (2022)
<i>Chlorella</i> sp.	SLF + H ₂ O	10 por ciento (v/v)	1.15 ± 0.006	Este estudio
<i>Chlorella</i> sp.	SLF + MBM	10 por ciento (v/v)	1.47 ± 0.002	Este estudio
<i>Chlorella</i> sp.	SLF + MN	10 por ciento (v/v)	1.35 ± 0.008	Este estudio

^a 25C (25:75, BG11/residuo orgánico; 0.1 kg compost de residuos de alimentos por 1 L H₂O). POME (efluentes de molinos de aceite de palma). SLF (subproducto líquido de fruta). μ (tasa de crecimiento). *10 por ciento (v/v) equivale a ~8250 mg DQO L⁻¹.

La Figura 14 (a, b, c) muestra la variación diaria del pH en los cultivos de *Chlorella* sp. con los distintos porcentajes y formulaciones del SLF durante 7 días de cultivo. Según los resultados es notable la disminución de pH (levemente ácido) en 30, 40 y 50 por ciento del SLF en todas sus combinaciones. En 20 por ciento (v/v), el pH se mantuvo casi neutro (pH ~6.89) con insignificantes cambios (± 0.02). Así mismo, en 10 por ciento del SLF con H₂O, MBM y MN, las microalgas tuvieron la tendencia a incrementar el pH (levemente alcalino) con valores relevantes de 8.79 ± 0.05 , 8.18 ± 0.04 y 9.17 ± 0.05 , respectivamente, al 7^{mo} día de cultivo. El pH del control BG11 y MBM aumentó notoriamente a lo largo del crecimiento del alga *Chlorella* sp., con valores finales de 11.29 ± 0.01 y 10.20 ± 0.01 , respectivamente; en el caso del control MN, el pH promedio fue 7.86 ± 0.58 (levemente neutro) durante los siete días de cultivo de la microalga.

El comportamiento dinámico observado en el pH puede explicarse por el crecimiento y contaminación de microorganismos heterótrofos, porque los bioensayos del crecimiento de *Chlorella* sp. en medios del SLF se realizaron en condiciones no axénicas. De La Cruz–Noriega *et al.* (2022), informaron que, las variaciones de pH son debidas a la hidrólisis y acidificación de los residuos de frutas. Condori *et al.* (2023) demostraron que la reducción de pH en cultivos de algas con aguas residuales de alta carga orgánica pueda deberse a la proliferación en la fase logarítmica de los heterótrofos.

En este estudio, las mejores condiciones para *Chlorella* sp. se obtuvieron al 10 por ciento en H₂O, MBM y MN mostrando tendencias de pH levemente alcalino, los resultados actuales coinciden con Deng *et al.* (2021), quienes encontraron que, el desarrollo óptimo de microalgas fotosintéticas podría promover la alcalinización del agua y aumentar significativamente el valor de pH (P. ej. en el tratamiento con microalgas, el pH de las aguas residuales alcanzó un promedio de 9.0). Finalmente, Sutherland *et al.* (2020) produjeron incrementos significativos en las concentraciones de biomasa de microalgas con el aumento de la carga de nutrientes en un concentrado de digeridos anaeróbicos de residuos alimentarios, que indujeron simultáneamente un elevado pH (alcalino).

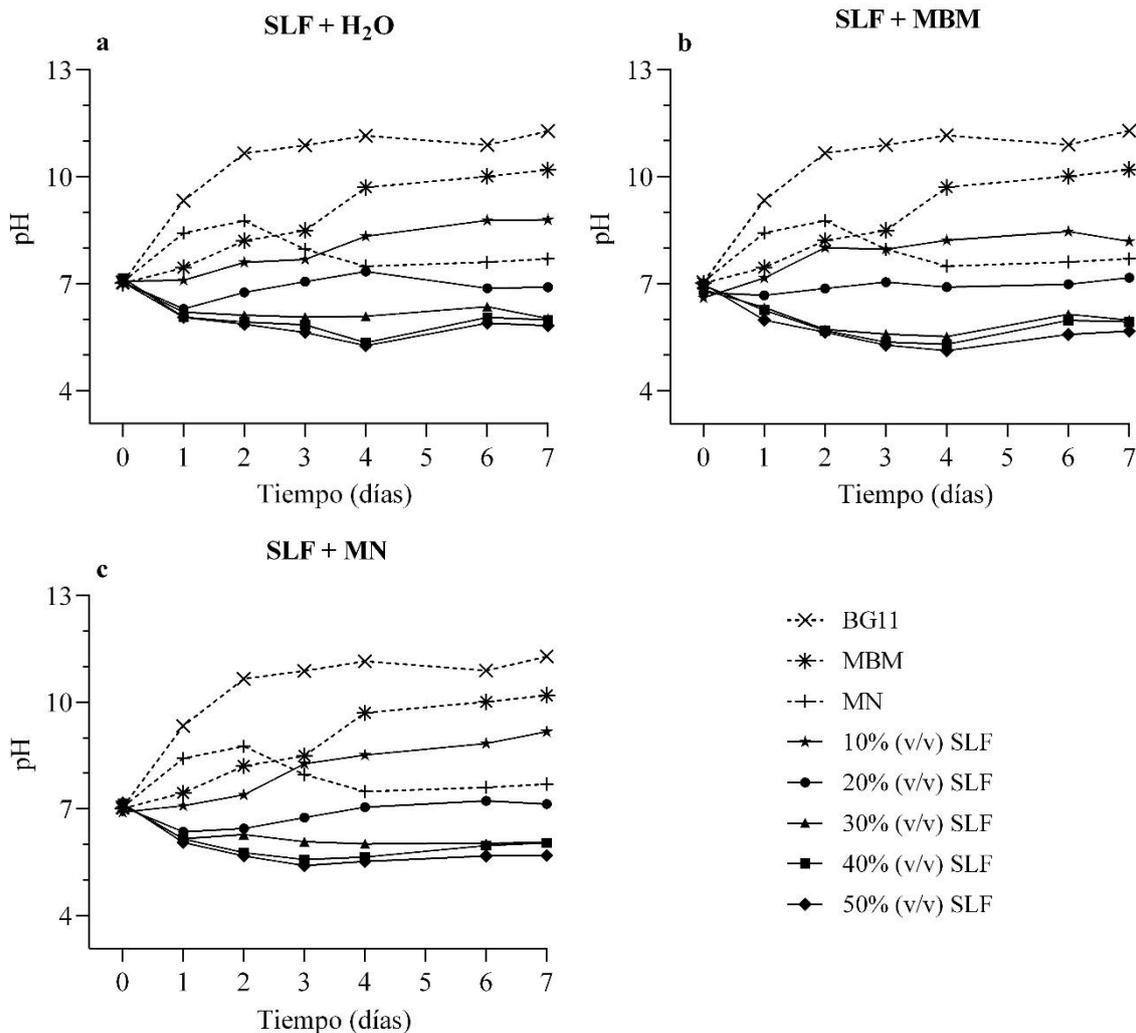


Figura 14: Evolución del pH. Promedio diario de valores de pH en función del tiempo (días) de *Chlorella* sp. del 10 al 50 por ciento de las formulaciones del SLF (H₂O, MBM y MN) y controles (BG11, MBM y MN). Barras de error representan la desviación estándar de n = 3

Según los análisis estadísticos de la Figura 12 (a, b) y la Figura 13, la concentración de 10 por ciento del SLF en H₂O, MBM y MN, respectivamente, presentan los mejores parámetros de cinética de crecimiento en *Chlorella* sp. Con base a los resultados obtenidos en el 2^{do} objetivo, seleccionamos el porcentaje de 10 por ciento (v/v) con las formulaciones de H₂O, MBM y MN, como los sustratos más favorables para la producción de lípidos, y las condiciones del alga para su evaluación en la eficiencia de eliminación de contaminantes orgánicos e inorgánicos.

4.5 Producción de lípidos de microalgas en las mejores condiciones de crecimiento

La Figura 15 presenta las curvas de los contenidos de aceites por *Chlorella* sp. en el porcentaje de 10 por ciento del SLF en H₂O, MBM y MN, respectivamente. Según los resultados, el contenido inicial de lípidos en el inóculo de *Chlorella* sp. fue 0.53 ± 0.06 mg L⁻¹ en los tratamientos del SLF y control BG11. En el tercer día, no existieron diferencias significativas entre los medios de BG11 (control), H₂O, MBM y MN (tratamientos) para la concentración de aceites en *Chlorella* sp. Al séptimo día, la mejor producción de lípidos (análisis en minúsculas) fue al 10 por ciento del SLF en MN (15.60 ± 3.17 mg L⁻¹), seguida de un cultivo con H₂O (12.77 ± 3.61 mg L⁻¹) y MBM (9.2 ± 1.3 mg L⁻¹), superando al control BG11 (2.67 ± 0.68 mg L⁻¹). Conforme la adición de una fuente de carbono orgánico en forma de SLF al 10 por ciento (v/v) indujeron la mayor producción de aceites por parte de esta microalga en las formulaciones con H₂O, MBM y MN, lo que sugiere que la concentración de 10 por ciento de SLF es adecuada para la producción de lípidos por *Chlorella* sp.

Chew *et al.* (2018), lograron un contenido de lípidos a partir del cultivo de *Chlorella vulgaris* utilizando compost de residuos de alimentos al 25 por ciento suplementada en BG11. Se informó que, el contenido de lípidos con mezcla de compost fue alto en comparación con el control, probablemente se deba al carbono orgánico presente en la mezcla de compost, que podría promover la asimilación de carbono acelerando la acumulación de lípidos. En este estudio, el SLF contienen sustancias orgánicas, que al combinarse con H₂O, MBM y MN, la microalga asimiló la DQO y aumentó significativamente la producción de su biomasa, esto explicaría la alta tasa de crecimiento y el contenido de lípidos por parte de *Chlorella* sp. cuando se cultivaron en 10 por ciento del SLF. Es bien sabido, que el contenido de lípidos de microalgas varía según la composición mineral del medio de cultivo (Zheng *et al.* 2021). Calixto *et al.* (2016), indicaron que, la síntesis de lípidos en microalgas podría modificarse por variaciones nutricionales en los medios.

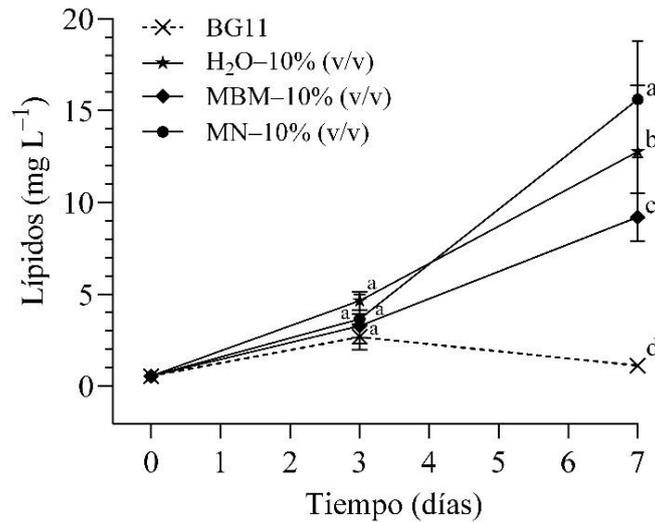


Figura 15: Producción de lípidos. Curvas de concentración de lípidos (mg L^{-1}) por *Chlorella* sp. en función del tiempo (días) a partir de 10 por ciento del SLF en H_2O , MBM y MN y control BG11. Barras de error representan la desviación estándar de $n = 3$. Letras diferentes indican que los valores difieren significativamente (ANOVA, $p < 0.05$)

La Figura 16 (a, b) muestra el mejor rendimiento y productividad de lípidos por parte de la microalga *Chlorella* sp. en cultivos con carga al 10 por ciento del SLF en H_2O , MBM y MN, respectivamente. En el séptimo día de cultivo de la microalga, la combinación del SLF y MN obtiene significativamente (análisis en minúsculas) el máximo rendimiento lipídico ($15.07 \pm 3.14 \text{ mg L}^{-1}$), seguida del cultivo con H_2O ($12.23 \pm 3.57 \text{ mg L}^{-1}$) y MBM ($8.67 \pm 1.36 \text{ mg L}^{-1}$), superando al control inorgánico BG11 ($2.13 \pm 0.67 \text{ mg L}^{-1}$) al tercer día de análisis. Esta tendencia ocurre de igual manera para la productividad de lípidos por parte del alga *Chlorella* sp. Según los resultados, existe el mayor rendimiento y productividad de aceites en la microalga, indicando su potencial de generar un bioproducto de alto valor agregado a partir del subproducto líquido de fruta a una carga de 10 por ciento (v/v) en combinación de MN y H_2O .

Las formulaciones del SLF en 10 por ciento evaluadas en este estudio, modificaron la proporción de nutrientes, induciendo a diferentes patrones de crecimiento y contenidos de lípidos en *Chlorella* sp. La reutilización eficiente de desechos agroalimentarios forma una estrategia ambiental y económica para utilizar el carbono orgánico residual con el fin de contribuir la formación de biomasa y lípidos en microalgas fotosintéticas (Pleissner *et al.* 2017). En un estudio anterior (Condori *et al.* 2023), las microalgas pueden crecer en

un cultivo mixotrófico con aguas residuales de destilería como fuente de carbono orgánico para mejorar la producción de biomoléculas o biomasa de interés comercial.

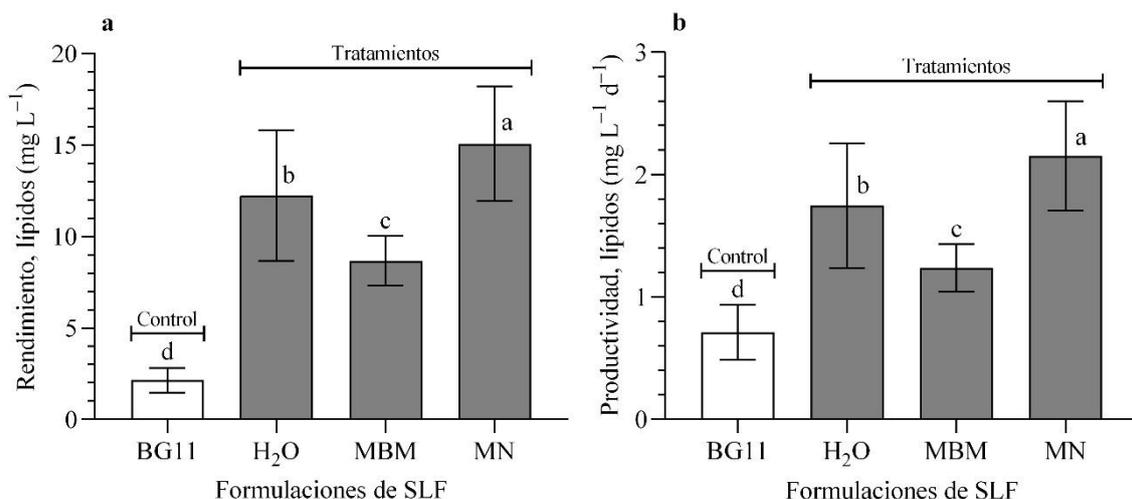


Figura 16: Rendimiento (mg L⁻¹) (a) y productividad (mg L⁻¹ d⁻¹) (b) de lípidos por *Chlorella* sp. en 10 por ciento del SLF en H₂O, MBM y MN al 7^{mo} día y en BG11 al 3^{er} día. Barras de error representan la desviación estándar de n = 3. Letras diferentes indican que los valores difieren significativamente (ANOVA, p < 0.05)

La Figura 17 presenta la estimación de aceites en *Chlorella* sp. a gran escala a partir de los resultados de la curva de concentración de lípidos (Figura 15). Según la evaluación, las mejores producciones de bioaceites serán 113.9 kg y 93.2 kg por tonelada de residuos de frutas en combinación con MN y H₂O, respectivamente, durante todo el año de trabajo (365 días).

Cabe señalar que *Chlorella* sp. mostró la capacidad de producir bioaceites como un bioproducto de alto valor agregado para la industria debido al contenido de nutrientes del SLF. Lau *et al.* (2014), definieron que, el cultivo de la microalga de género *Chlorella* abre una oportunidad innovadora para reciclar los nutrientes de desechos de alimentos para la producción sostenible de bioaceites, que no solo son una fuente de ácidos grasos nutricionales, sino también una fuente de ácidos grasos convertibles en biodiesel. La economía circular (EC) es un enfoque que define a los residuos orgánicos como insumos para la producción de biocomponentes activos de valor agregado (Cooper *et al.* 2017). Por tanto, este estudio establece un método para reaprovechar los residuos de frutas, con el objetivo de producir biomasa y lípidos a través del cultivo de la microalga *Chlorella* sp.

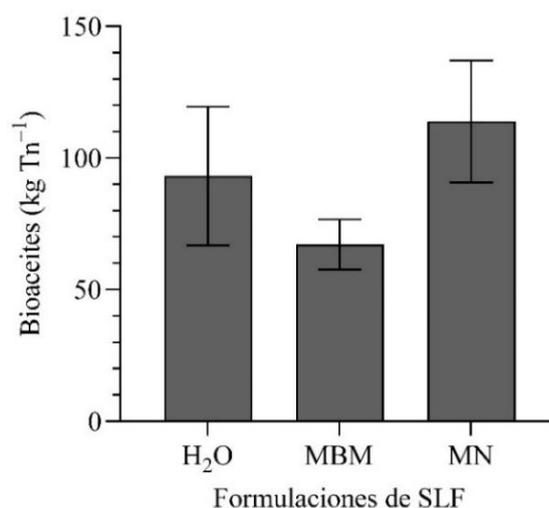


Figura 17: Estimación de aceites (kg) por tonelada de residuos de frutas, durante el cultivo de *Chlorella* sp. en 10 por ciento del SLF (H₂O, MBM y MN). Estimaciones al año (365 días). Barras de error representan la desviación estándar de n = 3. *Estimación en base a la tasa de conversión de 1 kg de aceites de ácidos grasos a 1 kg de biodiesel

Fuente: Cabanelas *et al.* (2013)

4.6 Caracterización del SLF y determinación de su eficiencia de remoción

La Figura 18 muestran las curvas de consumo de DQO, NO₃⁻, PO₄³⁻, SO₄²⁻ obtenidos para la condición de 10 por ciento del SLF con H₂O, MBM y MN durante el cultivo batch del alga *Chlorella* sp. Según los resultados de DQO (Figura 18 a), el contenido inicial fue 8249 ± 229 mg L⁻¹ para las formulaciones del SLF; durante los siete días de tratamiento, la DQO disminuyó gradualmente hasta llegar a una concentración final de 1816 mg L⁻¹, 3184 mg L⁻¹ y 901 mg L⁻¹ en los medios del SLF con H₂O, MBM y MN, respectivamente, donde, la mejor reducción de DQO se obtuvo en MN. Para el nitrato (Figura 18 b), los contenidos iniciales variaron en cada formulación del SLF por la mezcla de diferentes soluciones; el mejor consumo de NO₃⁻ se obtuvo en MBM, seguido de MN en el 2^{do} día de tratamiento; para las tres condiciones del SLF se observó un consumo progresivo durante el cultivo de *Chlorella* sp. Para el caso del fosfato y sulfato (Figura 18 c, d) en todos medios de SLF (H₂O, MBM y MN) se registró una tendencia de consumo continuo de estos nutrientes por parte de la microalga *Chlorella* sp durante los siete días de cultivo.

Chew *et al.* (2018), definieron que las microalgas cultivadas en residuos alimentarios consumen nutrientes y simultáneamente eliminan la materia orgánica en el medio durante el período de cultivo. Es bien sabido que, la fuente de materia orgánica puede mejorar la producción de microalgas. Estos resultados demuestran que, el consumo gradual de DQO

indujo a la obtención de biomasa y lípidos en *Chlorella* sp. cultivadas en medios del SLF. El nitrógeno, fósforo y azufre son los nutrientes más esenciales para el crecimiento de las microalgas (Mohammadi *et al.* 2019). Se han confirmado que, la comunidad microbiana entre microalgas–bacterias mejoran el consumo de nutrientes y promueven el crecimiento de las algas (Yao *et al.* 2019).

Como se describió en el capítulo de métodos, se trabajó con residuos no estériles, por lo tanto, la microbiota formada en los cultivos podría haber contribuido al consumo de DQO, NO_3^- , PO_4^{3-} y SO_4^{2-} y al desarrollo de *Chlorella* sp. En procesos industriales, las microalgas de interés conviven con heterótrofos y comunidades bacterianas y pueden mantener relaciones simbióticas (Condori *et al.* 2023). Álvarez-Díaz *et al.* (2017), concluyeron que especies de microalgas cumplen con el doble objetivo de producción de lípidos y eliminación de nutrientes cuando se cultivan en aguas residuales.

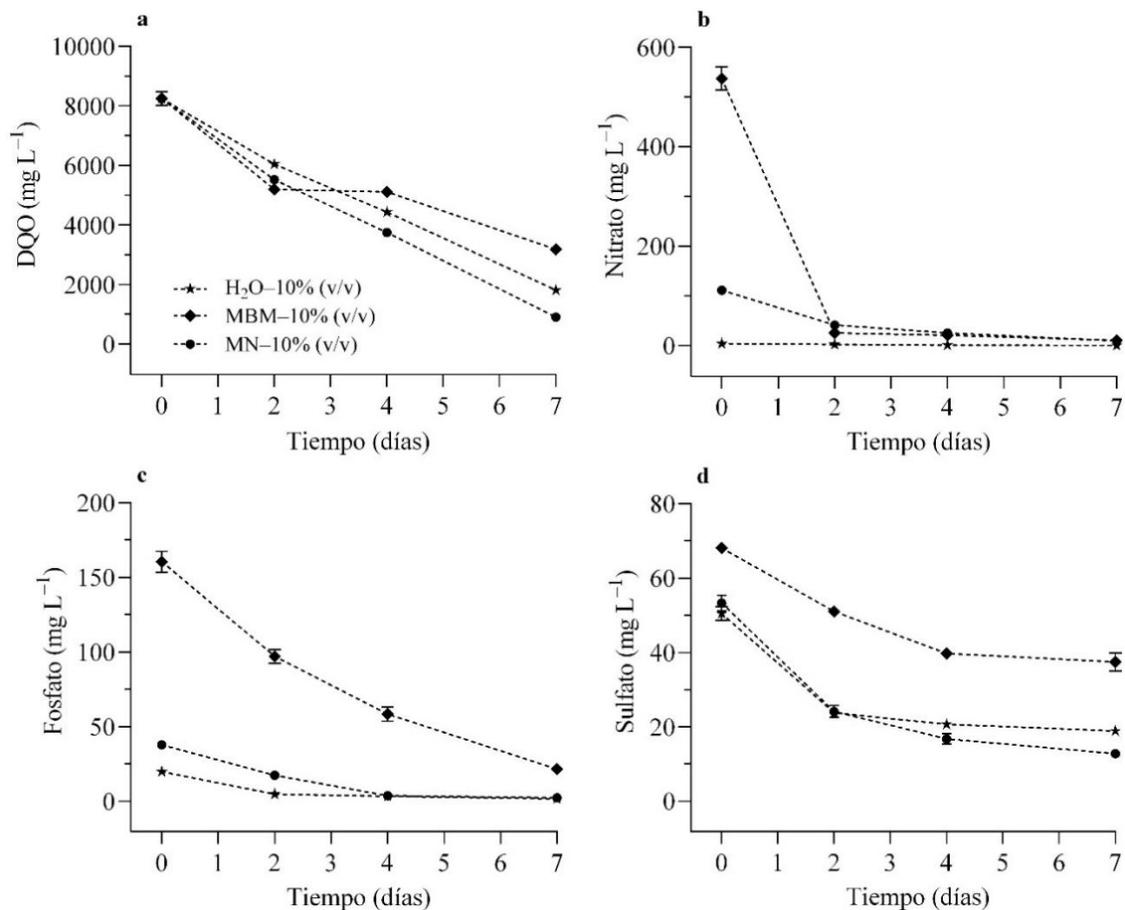


Figura 18: Tasa de consumo de nutrientes por *Chlorella* sp. Concentraciones de DQO, NO_3^- , PO_4^{3-} y SO_4^{2-} en mg L^{-1} durante el cultivo de *Chlorella* sp. en función del tiempo (días), en el tratamiento de 10 por ciento del SLF en H_2O , MBM y MN, respectivamente. Barras de error representan la desviación estándar de $n = 3$

La Figura 19 presenta la eficiencia porcentual de remoción de DQO, NO_3^- , PO_4^{3-} y SO_4^{2-} en 10 por ciento de SLF con H_2O , MBM y MN, respectivamente, al 7^{mo} día de tratamiento con *Chlorella* sp. Según los resultados, la remoción de DQO fue significativamente mejor (análisis en minúsculas) en 10 por ciento del SLF con MN (89.1 ± 0.3 por ciento), seguido con H_2O (78.0 ± 0.6 por ciento) y MBM (61.4 ± 1.1 por ciento). Para el nitrato, la mejor eficiencia de remoción se obtuvo en 10 por ciento del SLF con MBM (98.0 ± 0.1 por ciento). Para el caso del fosfato, las mejores tasas de remoción se obtuvieron en 10 por ciento del SLF con MN (93.8 ± 0.6 por ciento) y H_2O (91.9 ± 1.4 por ciento). Finalmente, la mayor remoción de sulfato fue en el 10 por ciento del SLF con MN (76.0 ± 2.9 por ciento), seguido con H_2O (62.6 ± 1.9 por ciento). Los resultados obtenidos para las eficiencias de remoción de DQO, NO_3^- , PO_4^{3-} y SO_4^{2-} cumplieron con los resultados del crecimiento de *Chlorella* sp.; esto muestra que el alga podría utilizar eficazmente los nutrientes del SLF para mejorar significativamente su producción.

Araujo *et al.* (2021), demostraron que la microalga *Arthrospira platensis* es capaz de remover el contenido de N y P en CPW, con la finalidad de mitigar la contaminación causada por aguas residuales de la agroindustria. Además, la acumulación de lípidos en las microalgas se desencadena cuando las células están limitadas en N, P o S y cuando el carbono está presente en exceso (Pleissner *et al.* 2017; Yaakob *et al.* 2021). La microalga *Chlorella* sp. fue capaz de remover la DQO, PO_4^{3-} y SO_4^{2-} con mayores índices al 10 por ciento del SLF en MN y H_2O , induciendo los mejores contenidos de lípidos.

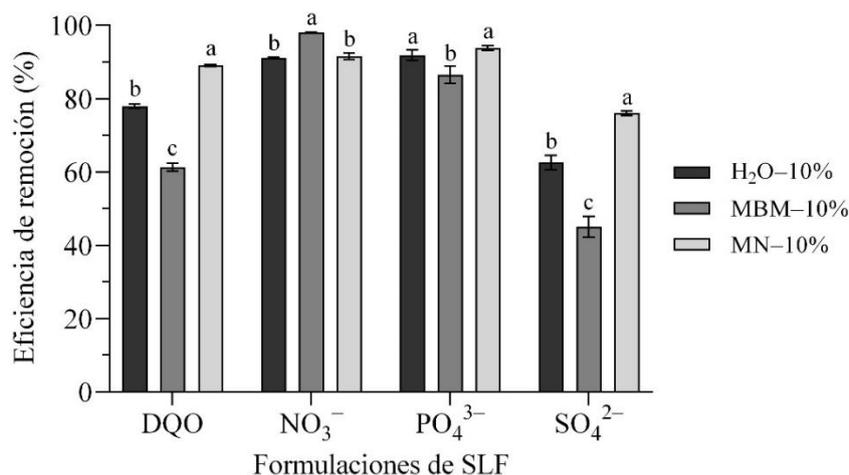


Figura 19. Tasa de reducción de nutrientes. Eficiencia de remoción de DQO, NO_3^- , PO_4^{3-} y SO_4^{2-} por *Chlorella* sp. cultivada en 10 por ciento SLF en H_2O , MBM y MN. Barras de error son la desviación estándar (n = 3). Letras diferentes sobre las barras indican que los valores difieren significativamente (ANOVA, p < 0.05)

La Tabla 13 muestra las características fisicoquímicas del RFP, SLF al 100 por ciento, y SLF al 10 por ciento antes y después de soportar el crecimiento de *Chlorella* sp., así como, la eficiencia de remoción de otros componentes (turbidez, SST, DBO₅, nitrógeno amoniacal, nitrógeno orgánico Kjeldahl), y una comparación con regulaciones medioambientales nacionales e internacionales. Al final del tratamiento en el SLF al 10 por ciento con H₂O, el valor de pH (7.80), temperatura (26.2 °C), electro-conductividad (743 μS cm⁻¹), turbidez (2.36 NTU), sólidos suspendidos totales (47.1 mg L⁻¹), nitrato (0.34 mg L⁻¹), y sulfato (18.87 mg L⁻¹) cumplen con las regulaciones ambientales nacionales (VMA) e internacionales (EEPA y WHO), respectivamente, con excepción de la materia orgánica (1816 mg DQO L⁻¹, 1329 mg DBO₅ L⁻¹) y el potasio (119 mg K⁺ L⁻¹); los hallazgos de este estudio, demuestran la viabilidad del proceso de cultivo con el alga *Chlorella* sp., para obtener un efluente con características por debajo de los límites reglamentarios para la mayoría de parámetros. Después del cultivo microbiano, los valores de DQO, DBO₅ y K⁺ permanecen levemente altos, lo que podrían permitir una posterior reutilización de su sobrenadante para la fertirrigación o cultivo de otras de microalgas, haciendo hincapié en el concepto de biorrefinería. El principio de bioeconomía circular se sustenta por Condori *et al.* (2023) quienes concluyeron que, el cultivo de la microalga *Chlorella* sp. en desechos agroindustriales es una estrategia apropiada para implementar en el sector agroindustrial en Perú.

La eficiencia de remoción de otros nutrientes (Tabla 13) es significativamente alta para la turbidez (70.2 por ciento), sólidos suspendidos totales (64.9 por ciento), DBO₅ (70.8 por ciento), nitrógeno amoniacal (> 98.5 por ciento) y nitrógeno orgánico Kjeldahl (96.8 por ciento). El proceso desarrollado con *Chlorella* sp. también reduciría el impacto de contaminación ambiental por desechos de frutas.

Sutherland *et al.* (2020), indican que, en un esfuerzo por abordar los Objetivos de Desarrollo Sostenible de las Naciones Unidas, se ha pasado de desechar los desperdicios de alimentos en vertederos a alternativas de menor impacto ambiental, como la técnica de compostaje o la digestión anaeróbica para el cultivo de microalgas verdes. En este trabajo, la producción de lípidos a partir de *Chlorella* sp., en combinación al tratamiento y recuperación de nutrientes en subproductos líquidos de frutas podrían respaldar la bioeconomía circular.

Tabla 13: Caracterización fisicoquímica y eficiencia de remoción de nutrientes por parte de *Chlorella* sp. al 10 por ciento del SLF en H₂O

Parámetros	Unidad	RFP	SLF	Regulaciones ambientales			SLF tratado		ER (por ciento)
				VMA	EEPA ^a	WHO ^a	SLF10	SLF10-P	
pH	- log [H ⁺]	3.50	3.50	6-9	6-9	6.5-8.5	7.1	7.8	—
Temperatura	°C	18.3	17.9	<35	5-30	NA	21.3	26.2	—
Conductividad eléctrica	μS cm ⁻¹	3193.33	3160		1000	1400	723	743	—
Color verdadero	UC	1119	1504				54.7	88.3	—
Absorbancia a 570 nm	UA	14.02	0.373				0.056	0.025	55.4
Turbidez	NTU	4913.30	45.40			25	7.92	2.36	70.2
Sólidos suspendidos totales	mg L ⁻¹	18,730	793	500			134	47.1	64.9
DBO ₅	mg L ⁻¹	40,041	35,344	500	<5	<5	4550	1329	70.8
DQO	mg L ⁻¹	76,914	80,482	1000	5	<5	8433	1816	78.5
Nitrato	mg L ⁻¹	4.35	9.37		50	30	3.82	0.34	91.1
Nitrito	mg L ⁻¹	0.008	0.548				ND	ND	—
Nitrógeno amoniacal	mg L ⁻¹	14.94	19.8				1.3	<0.02	>98.5
Nitrógeno Orgánico Kjeldahl	mg L ⁻¹	286	90.7				9.7	0.308	96.8
Fosfato	mg L ⁻¹	22.4	167				19.81	1.6	91.9
Sulfato	mg L ⁻¹	593.15	485.03		200	200	50.5	18.87	62.6
Potasio	mg L ⁻¹	1217	1241			12	119	119	—

Valores para el 10 por ciento de SLF en H₂O antes del cultivo con *Chlorella* sp. (SLF10) y después del cultivo al 7^{mo} día (SLF10-P). Regulaciones ambientales (VMA, EEPA y WHO: la descripción de estas siglas se especifica en la Tabla 11). ER (eficiencia de remoción)

V. CONCLUSIONES

1. La composición fisicoquímica del residuo de fruta procesado demostró ser un residuo con alta carga orgánica, con valores de 40,041 mg L⁻¹, 76,914 mg L⁻¹, y 18,730 mg L⁻¹ para DBO₅, DQO, y SST, respectivamente.
2. La adaptación de microalgas en el RFP confirmó que *Chlorella* sp. tiene la capacidad de crecer en este residuo. El crecimiento del alga en formulaciones del SLF confirmaron que, las mejores condiciones fueron al 10 por ciento del SLF con H₂O, MN y MBM, con tasas de crecimientos de 1.15 ± 0.006, 1.47 ± 0.002 y 1.35 ± 0.008 día⁻¹, respectivamente, además de altos rendimientos y productividades de biomasa.
3. La evaluación de lípidos en *Chlorella* sp. mostró que, la mejor producción de aceites fue al 7^{mo} día de cultivo en el 10 por ciento del SLF con MN, H₂O y MBM, con 15.60 ± 3.17 mg L⁻¹, 12.77 ± 3.61 mg L⁻¹ y 9.2 ± 1.3 mg L⁻¹, respectivamente, además presentaron altos rendimientos y productividades de lípidos.
4. La evaluación de los medios del SLF después del cultivo microbiano, demostró altos índices de remoción para DQO, NO₃⁻, PO₄³⁻ y SO₄²⁻ en 10 por ciento del SLF con H₂O, MBM y MN, respectivamente, al 7^{mo} día de tratamiento. Además, la composición final al 10 por ciento del SLF y H₂O mostró un efluente con características por debajo de los límites de regulación ambiental para la mayoría de parámetros con excepción de la DQO, DBO₅ y K⁺.

En conclusión, la reutilización del subproducto líquido de fruta derivado de residuos de frutas procesados como medio de cultivo para la microalga *Chlorella* sp. demostró una alta producción de biomasa, junto con la reducción simultánea de compuestos orgánicos e inorgánicos. Además, el crecimiento de *Chlorella* sp. permitió la producción de lípidos en el SLF. En última instancia, nuestros resultados muestran la factibilidad de integrar el cultivo de *Chlorella* sp. con la finalidad de valorizar los residuos agroalimentarios.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio más detallado sobre los diseños, construcciones y eficiencias de fotobiorreactores con el fin de tener un crecimiento continuo de microalgas a escala real.
- Determinar la caracterización o calidad de lípidos obtenidos en este estudio, para conocer el impacto comercial del bioproducto de alto valor agregado.
- Incrementar la escalabilidad de este trabajo, dependiendo de la viabilidad operativa de la zona.
- Realizar el análisis de viabilidad técnica–económica de nuestro cultivo con *Chlorella* sp. para producir toneladas de aceites.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A.A., Ibraheem, I., 2012. Microalgae and wastewater treatment. *Saudi journal of biological sciences*, 19(3), 257–275. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>

Alcántara P.J.A., Adanaqué B.J.V., Gonzalo L.A., Villamarín Z.J.M., 2019. Generación de valor público a través de un proyecto sinérgico de gestión de residuos sólidos en Arequipa Metropolitana. (Tesis de maestría), Universidad ESAN, Lima – Perú.

Álvarez-Díaz, P.D., Ruiz, J., Arbib, Z., Barragán, J., Garrido-Pérez, M.C., Perales, J.A., 2017. Freshwater microalgae selection for simultaneous wastewater nutrient removal and lipid production. *Algal Research*, 24, 477–485. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.02.006>

Amor, C., Marchão, L., Lucas, M.S., Peres, J.A., 2019. Application of advanced oxidation processes for the treatment of recalcitrant agro-industrial wastewater: A review. *Water*, 11(2), 205. <https://doi.org/10.3390/w11020205>

Araujo, G.S., Santiago, C.S., Moreira, R.T., Neto, M.P.D., Fernandes, F.A., 2021. Nutrient removal by *Arthrospira platensis* cyanobacteria in cassava processing wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 40, 101826. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101826>

Avinash, A., Sasikumar, P., Pugazhendhi, A., 2020. Analysis of the limiting factors for large scale microalgal cultivation: A promising future for renewable and sustainable biofuel industry. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 134, 110250. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110250>

Bagherzadeh, M., Inamura, M., Jeong, H., 2014. Food waste along the food chain. *Food, Agric. Fisheries Papers*. 71, OECD Publishing. <https://doi.org/10.1787/18156797>

Balaji, M., Arshinder, K., 2016. Modeling the causes of food wastage in Indian perishable food supply chain. *Resources, Conservation and Recycling*, 114, 153–167. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2016.07.016>

Barone, V., Puglisi, I., Fragalà, F., Lo Piero, A.R., Giuffrida, F., Baglieri, A., 2019. Novel bioprocess for the cultivation of microalgae in hydroponic growing system of tomato

plants. *Journal of applied phycology*, 31, 465–470. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1518-y>

Barzee, T.J., Yothers, C., Edalati, A., Rude, K., Chio, A., El Mashad, H.M., Franz, A., Zhang, R., 2022. Pilot microalgae cultivation using food waste digestate with minimal resource inputs. *Bioresource Technology Reports*, 19, 101200. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101200>

Bellinger, E.G., Sigeo, D.C., 2015. *Freshwater algae: identification, enumeration and use as bioindicators*. John Wiley & Sons. Wiley, London.

Cabanelas, I.T.D., Arbib, Z., Chinalia, F.A., Souza, C.O., Perales, J.A., Almeida, P.F., Druzian, J.I., Nascimento, I.A., 2013. From waste to energy: Microalgae production in wastewater and glycerol. *Applied Energy*, 109, 283–290. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2013.04.023>

Cai, T., Park, S.Y., Li, Y., 2013. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: status and prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 19, 360–369. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.11.030>

Calixto, C.D., da Silva Santana, J.K., de Lira, E.B., Sassi, P.G.P., Rosenhaim, R., da Costa Sassi, C.F., da Conceição, M.M., Sassi, R., 2016. Biochemical compositions and fatty acid profiles in four species of microalgae cultivated on household sewage and agro-industrial residues. *Bioresource Technology*, 221, 438–446. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.066>

Candido, C., Lombardi, A.T., 2017. Growth of *Chlorella vulgaris* in treated conventional and biodigested vinasses. *Journal of Applied Phycology*, 29, 45–53. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0940-2>

Candido, C., Lombardi, A.T., 2018. The physiology of *Chlorella vulgaris* grown in conventional and biodigested treated vinasses. *Algal research*, 30, 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.01.005>

Candido, C., Lombardi, A.T., 2020. Mixotrophy in green microalgae grown on an organic and nutrient rich waste. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(2), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-2802-y>

- Chai, W.S., Tan, W.G., Munawaroh, H.S.H., Gupta, V.K., Ho, S.H., Show, P.L., 2021. Multifaceted roles of microalgae in the application of wastewater biotreatment: a review. *Environmental Pollution*, 269, 116236. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116236>
- Chandra, R., Rohit, M.V., Swamy, Y.V., Mohan, S.V., 2014. Regulatory function of organic carbon supplementation on biodiesel production during growth and nutrient stress phases of mixotrophic microalgae cultivation. *Bioresource technology*, 165, 279–287. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.102>
- Chang, H.X., Fu, Q., Huang, Y., Xia, A., Liao, Q., Zhu, X., Zheng, Y.P., Sun, C.H., 2016. An annular photobioreactor with ion-exchange-membrane for non-touch microalgae cultivation with wastewater. *Bioresource technology*, 219, 668–676. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.032>
- Cheah, W.Y., Ling, T.C., Show, P.L., Juan, J.C., Chang, J.S., Lee, D.J., 2016. Cultivation in wastewaters for energy: A microalgae platform. *Applied Energy*, 179, 609–625. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.07.015>
- Chen, J., Li, J., Dong, W., Zhang, X., Tyagi, R.D., Drogui, P., Surampalli, R.Y., 2018. The potential of microalgae in biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90, 336–346. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.073>
- Cheng, T., Wei, C.H., Leiknes, T., 2017. Polishing of anaerobic secondary effluent by *Chlorella vulgaris* under low light intensity. *Bioresource technology*, 241, 360–368. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.149>
- Chew, K.W., Chia, S.R., Show, P.L., Ling, T.C., Arya, S.S., Chang, J.S., 2018. Food waste compost as an organic nutrient source for the cultivation of *Chlorella vulgaris*. *Bioresource technology*, 267, 356–362. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.069>
- Choong, Y.J., Yokoyama, H., Matsumura, Y., Lam, M.K., Uemura, Y., Dasan, Y.K., Kadir, W.N.A., Lim, J.W., 2020. The potential of using microalgae for simultaneous oil removal in wastewater and lipid production. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 17, 2755–2766. <https://doi.org/10.1007/s13762-020-02701-4>

Choudhary, P., Suriyamoorthy, P., Moses, J.A., Anandharamakrishnan, C., 2019. Bio-composites from food wastes. *Composites for Environmental Engineering*, 319–345. <https://10.1002/9781119555346>

Chuka-ogwude, D., Mickan, B.S., Ogbonna, J.C., Moheimani, N.R., 2022. Developing food waste biorefinery: using optimized inclined thin layer pond to overcome constraints of microalgal biomass production on food waste digestate. *Journal of Applied Phycology*, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02829-5>

Chuka-ogwude, D., Ogbonna, J., Borowitzka, M.A., Moheimani, N.R., 2020. Screening, acclimation and ammonia tolerance of microalgae grown in food waste digestate. *Journal of Applied Phycology*, 32, 3775–3785. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02276-0>

Coman, V., Teleky, B.E., Mitrea, L., Martău, G.A., Szabo, K., Călinoiu, L.F., Vodnar, D.C., 2020. Bioactive potential of fruit and vegetable wastes. *Advances in food and nutrition research*, 91, 157–225. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.07.001>

Condori, M.A.M., Valencia, M.R.V., Fernández, F.G.A., Choix, F.J., 2023. Evaluation of sugarcane vinasse as a medium for enhanced *Chlorella* sp. growth, lipids production, and process integration. *Journal of Applied Phycology*, 35, 581–591. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02902-z>

Cooper, S.J., Giesekam, J., Hammond, G.P., Norman, J.B., Owen, A., Rogers, J.G., Scott, K., 2017. Thermodynamic insights and assessment of the ‘circular economy’. *Journal of Cleaner Production*, 162, 1356–1367. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.06.169>

Dahiya, S., Kumar, A.N., Sravan, J.S., Chatterjee, S., Sarkar, O., Mohan, S.V., 2018. Food waste biorefinery: Sustainable strategy for circular bioeconomy. *Bioresour technology*, 248, 2–12. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.176>

De La Cruz–Noriega, M., Rojas-Flores, S., Nazario-Naveda, R., Benites, S.M., Delfín-Narciso, D., Rojas-Villacorta, W., Diaz, F., 2022. Potential Use of Mango Waste and Microalgae *Spirulina* sp. for Bioelectricity Generation. *Environmental Research, Engineering and Management*, 78(3), 129–136. <https://doi.org/10.5755/j01.erem.78.3.31117>

de Medeiros, V.P.B., Pimentel, T.C., Varandas, R.C.R., Dos Santos, S.A., de Souza Pedrosa, G.T., da Costa Sassi, C.F., da Conceição, M.M., Magnani, M., 2020. Exploiting the use of agro-industrial residues from fruit and vegetables as alternative microalgae culture medium. *Food Research International*, 137, 109722. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109722>

de Melo, R.G., de Andrade, A.F., Bezerra, R.P., Correia, D.S., de Souza, V.C., Brasileiro-Vidal, A.C., Marques, D.A.V., Porto, A.L.F., 2018. *Chlorella vulgaris* mixotrophic growth enhanced biomass productivity and reduced toxicity from agro-industrial by-products. *Chemosphere*, 204, 344–350. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.039>

Deng, Y., Chen, F., Liao, K., Xiao, Y., Chen, S., Lu, Q., Li, J., Zhou, W., 2021. Microalgae for nutrient recycling from food waste to aquaculture as feed substitute: a promising pathway to eco-friendly development. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 96(9), 2496–2508. <https://doi.org/10.1002/jctb.6786>

Dreyer, H.C., Dukovska-Popovska, I., Yu, Q., Hedenstierna, C.P., 2019. A ranking method for prioritising retail store food waste based on monetary and environmental impacts. *Journal of Cleaner Production*, 210, 505–517. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.11.012>

Edjabou, M.E., Jensen, M.B., Götze, R., Pivnenko, K., Petersen, C., Scheutz, C., Astrup, T.F., 2015. Municipal solid waste composition: Sampling methodology, statistical analyses, and case study evaluation. *Waste Management*, 36, 12–23. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.11.009>

Engin, I.K., Cekmecelioglu, D., Yücel, A.M., Oktem, H.A., 2018. Evaluation of heterotrophic and mixotrophic cultivation of novel *Micractinium* sp. ME05 on vinasse and its scale up for biodiesel production. *Bioresource technology*, 251, 128–134. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.12.023>

FAO, 2013. *Agriculture Organization of the United Nations*. Food Wastage Footprint: Impacts on Natural Resources; Summary Report. *Natural Resources Management and Environment Department: Rome, Italy*.

Feitosa, L.C., da silva, L.O., barreiros, N.R., 2017. A Importância do gerenciamento de resíduos alimentícios para minimizar os impactos ambientais. *3 Simposio Iberoamericano de Ingeniería de Residuos; 2 Seminário da Região Nordeste sobre Resíduos Sólidos*.

Fu, Q., Chang, H.X., Huang, Y., Liao, Q., Zhu, X., Xia, A., Sun, Y.H., 2016. A novel self-adaptive microalgae photobioreactor using anion exchange membranes for continuous supply of nutrients. *Bioresource Technology*, 214, 629–636. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.081>

Gao, F., Peng, Y.Y., Li, C., Yang, G.J., Deng, Y.B., Xue, B., Guo, Y.M., 2018. Simultaneous nutrient removal and biomass/lipid production by *Chlorella* sp. in seafood processing wastewater. *Science of the Total Environment*, 640, 943–953. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.380>

GRAG, 2021. Campaña Agrícola (2016 – 2021). Gerencia Regional de Agricultura Arequipa (GRAG), Gobierno Regional de Arequipa. *Arequipa - Perú*. Recuperado de: https://www.agroarequipa.gob.pe/index.php/agricol/a?showall=1&fbclid=IwAR3uoi8MxiE06iuQZE9rxr_1CD49bRn-AXnEJKBjrsr5zPkvzZDB0c3rzm. Último acceso: 08 de junio de 2022

He, S., Fang, S., Xie, W., Zhang, P., Li, Z., Zhou, D., Zhang, Z., Guo, J., Du, C., Du, J., Wang, D., 2018. Assessment of physiological responses and growth phases of different microalgae under environmental changes by Raman spectroscopy with chemometrics. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 204, 287–294. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.06.060>

Herrera, A., D'Imporzano, G., Fernandez, F.G.A., Adani, F., 2021. Sustainable production of microalgae in raceways: Nutrients and water management as key factors influencing environmental impacts. *Journal of Cleaner Production*, 287, 125005. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.125005>

Hossain, N., Mahlia, T.M.I., Saidur, R., 2019. Latest development in microalgae-biofuel production with nano-additives. *Biotechnology for biofuels*, 12(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1465-0>

INEI, 2017. Población y Territorio. Instituto Nacional de Estadística e Informática – Perú (INEI). Recuperado de: <https://www.inei.gov.pe/prensa/noticias/arequipa-alberga-a-1-millon-316-mil-habitantes-9903/>. Último acceso: 06 de marzo de 2022

Jiang, Q., Song, X., Liu, J., Shao, Y., Feng, Y., 2019. Enhanced nutrients enrichment and removal from eutrophic water using a self-sustaining in situ photomicrobial nutrients recovery cell (PNRC). *Water Research*, 167, 115097. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115097>

Kamyab, H., Din, M.F.M., Hosseini, S.E., Ghoshal, S.K., Ashokkumar, V., Keyvanfar, A., Shafaghat, A., Lee, C.T., Bavafa, A.A., Majid, M.Z.A., 2016. Optimum lipid production using agro-industrial wastewater treated microalgae as biofuel substrate. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 18, 2513–2523. <https://doi.org/10.1007/s10098-016-1212-1>

Khoeyi, Z.A., Seyfabadi, J., Ramezanpour, Z., 2012. Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*. *Aquaculture International*, 20, 41–49. <https://doi.org/10.1007/s10499-011-9440-1>

Kunjapur, A.M., Eldridge, R.B., 2010. Photobioreactor design for commercial biofuel production from microalgae. *Industrial & engineering chemistry research*, 49(8), 3516–3526. <https://doi.org/10.1021/ie901459u>

La, A., Perré, P., Taidi, B., 2019. Process for symbiotic culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Chlorella vulgaris* for in situ CO₂ mitigation. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(2), 731–745. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9506-3>

Lau, K.Y., Pleissner, D., Lin, C.S.K., 2014. Recycling of food waste as nutrients in *Chlorella vulgaris* cultivation. *Bioresource technology*, 170, 144–151. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.096>

Li, P., Miao, X., Li, R., Zhong, J., 2011. In situ biodiesel production from fast-growing and high oil content *Chlorella pyrenoidosa* in rice straw hydrolysate. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/141207>

Liakou, V., Pateraki, C., Palaiogeorgou, A.M., Kopsahelis, N., de Castro, A.M., Freire, D.M.G., Nychas, G.J.E., Papanikolaou, S., Koutinas, A., 2018. Valorisation of fruit and

vegetable waste from open markets for the production of 2,3-butanediol. *Food and Bioproducts Processing*, 108, 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.10.004>

Lin, Y.L., Zheng, N.Y., Hsu, C.H., 2021. Torrefaction of fruit peel waste to produce environmentally friendly biofuel. *Journal of Cleaner Production*, 284, 124676. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124676>

Lu, C., Zhang, Z., Ge, X., Wang, Y., Zhou, X., You, X., Liu, H., Zhang, Q., 2016. Biohydrogen production from apple waste by photosynthetic bacteria HAU-M1. *International Journal of Hydrogen Energy*, 41(31), 13399–13407. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.06.101>

Ma, R., Zhang, Z., Ho, S.H., Ruan, C., Li, J., Xie, Y., Shi, X., Liu, L., Chen, J., 2020. Two-stage bioprocess for hyper-production of lutein from microalga *Chlorella sorokiniana* FZU60: Effects of temperature, light intensity, and operation strategies. *Algal Research*, 52, 102119. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102119>

Marchello, A.E., Santos, A.C., Lombardi, A.T., Souza, W.O., Montanhim, G.C., 2018. Physiological and ecological aspects of *Chlorella sorokiniana* (Trebouxiophyceae) under photoautotrophic and mixotrophic conditions. *Microbial ecology*, 76(3), 791–800. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1170-8>

Mekonnen, B., Haddis, A., Zeine, W., 2020. Assessment of the effect of solid waste dump site on surrounding soil and river water quality in Tepi town, Southwest Ethiopia. *Journal of Environmental and Public Health* (5157046):9. <https://doi.org/10.1155/2020/5157046>

MIDAGRI, 2022. Boletín Estadístico Mensual "El Agro en Cifras" – 2022. Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego del Perú (MIDAGRI). Lima – Perú. Recuperado de: <https://www.gob.pe/institucion/midagri/informes-publicaciones/2826318-boletin-estadistico-mensual-el-agro-en-cifras-2022>. Último acceso: 27 de marzo de 2023

MINAM, 2021. Nueva Ley de Residuos Sólidos – Nueva Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos, Ley N° 27314, D.L. N° 1278. Ministerio del Ambiente del Perú (MINAM). Recuperado de: <https://www.minam.gob.pe/calidadambiental/nueva-ley-de-residuos-solidos/>. Último acceso: 27 de julio de 2021

Mohammadi, M., Mowla, D., Esmailzadeh, F., Ghasemi, Y., 2019. Enhancement of sulfate removal from the power plant wastewater using cultivation of indigenous microalgae: Stage-wise operation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(1), 102870. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.102870>

Moncada, J., Tamayo, J.A., Cardona, C.A., 2014. Integrating first, second, and third generation biorefineries: Incorporating microalgae into the sugarcane biorefinery. *Chemical Engineering Science*, 118, 126–140. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2014.07.035>

Mousavi, S., Najafpour, G.D., Mohammadi, M., Seifi, M.H., 2018. Cultivation of newly isolated microalgae *Coelastrum* sp. in wastewater for simultaneous CO₂ fixation, lipid production and wastewater treatment. *Bioprocess and biosystems engineering*, 41, 519–530. <https://doi.org/10.1007/s00449-017-1887-7>

Mujtaba, G., Rizwan, M., Lee, K., 2015. Simultaneous removal of inorganic nutrients and organic carbon by symbiotic co-culture of *Chlorella vulgaris* and *Pseudomonas putida*. *Biotechnology and bioprocess engineering*, 20, 1114–1122. <https://doi.org/10.1007/s12257-015-0421-5>

MVCS, 2015. Decreto Supremo N° 001-2015-VIVIENDA, Valores Máximos Admisibles de las descargas de aguas residuales no domésticas en el sistema de alcantarillado sanitario. Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento. *Lima – Perú*. Recuperado de: <http://www3.vivienda.gob.pe/direcciones/documentos/DS-001-2015-VIVIENDA.pdf>. Último acceso: 15 de mayo de 2022

MVCS, 2016. Resolución Ministerial N° 116-2012-VIVIENDA, Parámetros para la Actividad que según la Clasificación Industrial Internacional Uniforme (CIU). Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento. *Lima – Perú*. Recuperado de: <http://www3.vivienda.gob.pe/direcciones/documentos/RM-360-2016-VIVIENDA.pdf>. Último acceso: 10 de mayo de 2022

OEFA, 2019. Resolución Directoral N° 01520-2019-OEFA/DFAI. Recuperado de: https://www.oefa.gob.pe/?wpfb_dl=37530. Último acceso: 05 de marzo de 2022

ONU, 2021. Indicadores Brasileiros para os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável. United Nations Organization (ONU), USA. Recuperado de: <https://odsbrasil.gov.br/>. Último acceso: 09 de junio de 2022

- Pang, N., Gu, X., Chen, S., Kirchoff, H., Lei, H., Roje, S., 2019. Exploiting mixotrophy for improving productivities of biomass and co-products of microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 112, 450–460. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.06.001>
- Piligaev, A.V., Sorokina, K.N., Bryanskaya, A.V., Peltek, S.E., Kolchanov, N.A., Parmon, V.N., 2015. Isolation of prospective microalgal strains with high saturated fatty acid content for biofuel production. *Algal Research*, 12, 368–376. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.08.026>
- Pleissner, D., Lam, W.C., Sun, Z., Lin, C.S.K., 2013. Food waste as nutrient source in heterotrophic microalgae cultivation. *Bioresource technology*, 137, 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.088>
- Pleissner, D., Lau, K.Y., Lin, C.S.K., 2017. Utilization of food waste in continuous flow cultures of the heterotrophic microalga *Chlorella pyrenoidosa* for saturated and unsaturated fatty acids production. *Journal of Cleaner Production*, 142, 1417–1424. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.11.165>
- Pleissner, D., Rumpold, B.A., 2018. Utilization of organic residues using heterotrophic microalgae and insects. *Waste Management*, 72, 227–239. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.11.020>
- Posadas, E., Alcántara, C., García-Encina, P.A., Gouveia, L., Guieysse, B., Norvill, Z., Muñoz, R., 2017. Microalgae cultivation in wastewater. In *Microalgae-based biofuels and bioproducts* (pp. 67–91). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101023-5.00003-0>
- Posadas, E., Bochon, S., Coca, M., García-González, M.C., García-Encina, P.A., Muñoz, R., 2014. Microalgae-based agro-industrial wastewater treatment: a preliminary screening of biodegradability. *Journal of applied phycology*, 26(6), 2335–2345. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0263-0>
- Ras, M., Steyer, J.P., Bernard, O., 2013. Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 12(2), 153–164. <https://doi.org/10.1007/s11157-013-9310-6>

Rathika, R., Janaki, V., Shanthi, K., Kamala-Kannan, S., 2019. Bioconversion of agro-industrial effluents for polyhydroxyalkanoates production using *Bacillus subtilis* RS1. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(10), 5725–5734. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2155-3>

Rinanti, A., 2016. Biotechnology carbon capture and storage by microalgae to enhance CO₂ removal efficiency in closed-System photobioreactor. *Algae-Organisms for imminent biotechnology*, 25. <https://dx.doi.org/10.5772/62915>

Roux, J.M., Lamotte, H., Achard, J.L., 2017. An overview of microalgae lipid extraction in a biorefinery framework. *Energy Procedia*, 112, 680–688. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.03.1137>

Santana, H., 2016. Isolamento, seleção e caracterização de microalgas com alta produtividade de biomassa em meio de cultivo a base de vinhaça e CO₂. *Embrapa Agroenergia-Tese/dissertação (ALICE)*. (Tesis de maestría), Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista – Brazil.

Santana, H., Cereijo, C.R., Teles, V.C., Nascimento, R.C., Fernandes, M.S., Brunale, P., Campanha, R.C., Soares, I.P., Silva, F.C.P., Sabaini, P.S., Siqueira, F.G., Brasil, B.S.A.F., 2017. Microalgae cultivation in sugarcane vinasse: Selection, growth and biochemical characterization. *Bioresource technology*, 228, 133–140. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.075>

SINIA, 2017. Decreto Legislativo N° 1278 - Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos. Sistema Nacional de Información Ambiental (SINIA). Recuperado de: <https://sinia.minam.gob.pe/normas/ley-gestion-integral-residuos-solidos#:~:text=El%20presente%20Decreto%20Legislativo%20establece,la%20gesti%C3%B3n%20y%20manejo%20de>. Último acceso: 15 de mayo de 2022

SINIA, 2022. Reporte: Arequipa: estadísticas ambientales, diciembre 2022 – Ministerio del Ambiente de Perú. Sistema Nacional de Información Ambiental (SINIA). Recuperado de: <https://sinia.minam.gob.pe/documentos/arequipa-reporte-estadistico-departamental-diciembre-2022>. Último acceso: 25 de abril de 2023

Sloth, J.K., Jensen, H.C., Pleissner, D., Eriksen, N.T., 2017. Growth and phycocyanin synthesis in the heterotrophic microalga *Galdieria sulphuraria* on substrates made of

food waste from restaurants and bakeries. *Bioresource Technology*, 238, 296–305.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.043>

Sutherland, D.L., Burke, J., Leal, E., Ralph, P.J., 2020. Effects of nutrient load on microalgal productivity and community composition grown in anaerobically digested food-waste concentrate. *Algal Research*, 51, 102037.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102037>

UCSP, 2022. Agenda para el Desarrollo de Arequipa 2023–2026. Universidad Católica San Pablo (UCSP). Arequipa – Perú. Recuperado de: <https://ucsp.edu.pe/wp-content/uploads/2022/10/agenda-para-desarrollo-2023-2026.pdf>. Último acceso: 15 de abril del 2023

UNEP, 2021. Partnership (United Nations Environment Programme); 2015. *Reducing Consumer Food Waste Using Green and Digital Technologies*. Copenhagen and Nairobi. Copyright.

Vaz, B.D.S., Costa, J.A.V., Morais, M.G., 2016. Use of solid waste from thermoelectric plants for the cultivation of microalgae. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016150452>

Vega, B.O.A., Lobina, D.V., Savín, T.Z., Montoya, M.A., Anduro, G.A.G., 2017. *Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal*. 2ª Edición. CIBNOR, México

Wang, S.K., Wang, X., Miao, J., Tian, Y.T., 2018. Tofu whey wastewater is a promising basal medium for microalgae culture. *Bioresource technology*, 253, 79–84.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.012>

Wang, X., Zhang, M.M., Sun, Z., Liu, S.F., Qin, Z.H., Mou, J.H., Zhou, Z.G., Lin, C.S.K., 2020. Sustainable lipid and lutein production from *Chlorella mixotrophic* fermentation by food waste hydrolysate. *Journal of Hazardous Materials*, 400, 123258.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123258>

Yaakob, M.A., Mohamed, R.M.S.R., Al-Gheethi, A., Aswathnarayana, G.R., Ambati, R.R., 2021. Influence of nitrogen and phosphorus on microalgal growth, biomass, lipid,

and fatty acid production: an overview. *Cells*, 10(2), 393.
<https://doi.org/10.3390/cells10020393>

Yao, S., Lyu, S., An, Y., Lu, J., Gjermansen, C., Schramm, A., 2019. Microalgae–bacteria symbiosis in microalgal growth and biofuel production: a review. *Journal of applied microbiology*, 126(2), 359–368. <https://doi.org/10.1111/jam.14095>

Yen, H.W., Hu, I.C., Chen, C.Y., Ho, S.H., Lee, D.J., Chang, J.S., 2013. Microalgae-based biorefinery—from biofuels to natural products. *Bioresource technology*, 135, 166–174. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.099>

Zhang, T.Y., Wu, Y.H., Wang, J.H., Wang, X.X., Deantes-Espinosa, V.M., Dao, G.H., Tong, X., Hu, H.Y., 2019. Heterotrophic cultivation of microalgae in straw lignocellulose hydrolysate for production of high-value biomass rich in polyunsaturated fatty acids (PUFA). *Chemical Engineering Journal*, 367, 37–44.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.02.049>

Zheng, S., Chen, S., Zou, S., Yan, Y., Gao, G., He, M., Wang, C., Chen, H., Wang, Q., 2021. Bioremediation of Pyropia-processing wastewater coupled with lipid production using *Chlorella* sp. *Bioresource Technology*, 321, 124428.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124428>

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Medio sintético BG11. Composición (g L⁻¹) del BG11

Solución	Reactivo	Concentración (g L ⁻¹)
1	Nitrato de sodio (NaNO ₃)	1.5
2	Sulfato de magnesio (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	0.075
3	Cloruro de calcio (CaCl ₂ ·2H ₂ O)	0.036
4	EDTA (Na ₂ EDTA)	0.001
5	Ácido cítrico (C ₆ H ₈ O ₇)	0.006
6	Carbonato de sodio (Na ₂ CO ₃)	0.02
7	Citrato férrico de amonio	0.006
8	Fosfato de potasio dibásico (K ₂ HPO ₄)	0.04
	Ácido bórico (H ₃ BO ₃)	2.86
	Cloruro de manganeso (MnCl ₂ ·4H ₂ O)	1.81
9	Sulfato de zinc (ZnSO ₄ ·4H ₂ O)	0.222
A ₅ +Co	Molibdato de sodio (Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O)	0.39
	Sulfato de cobre (CuSO ₄ ·5H ₂ O)	0.079
	Cloruro de cobalto (CoCl ₂ ·6H ₂ O)	0.04

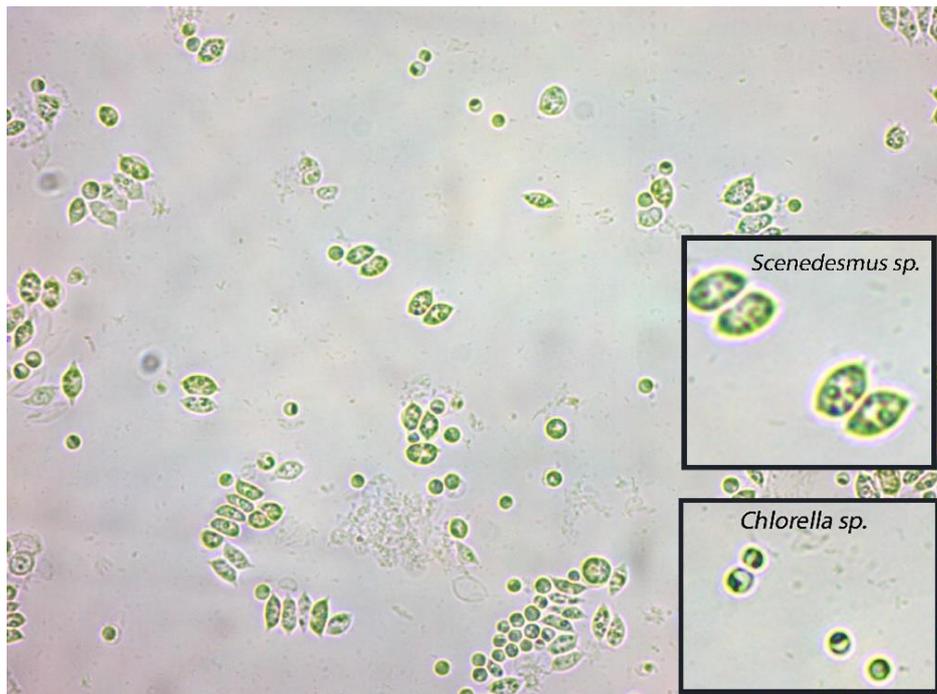
*1 mL de solución de metales traza (A₅+Co) por litro de BG11.

Anexo 2. Medio sintético MBM. Composición (g L⁻¹) del 3N-Bristol Modificado

Solución	Fórmula	Concentración (g L ⁻¹)
1	Nitrato de sodio (NaNO ₃)	0.75
2	Sulfato de magnesio (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	0.075
3	Cloruro de calcio (CaCl ₂ ·2H ₂ O)	0.025
4	EDTA (Na ₂ EDTA)	0.02
5	Cloruro de sodio (NaCl)	0.02
6	Fosfato de potasio dibásico (K ₂ HPO ₄)	0.075
7	Fosfato de potasio monobásico (KH ₂ PO ₄)	0.175
8	Solución de metales traza (A ₅ +Co)	1 mL L ⁻¹

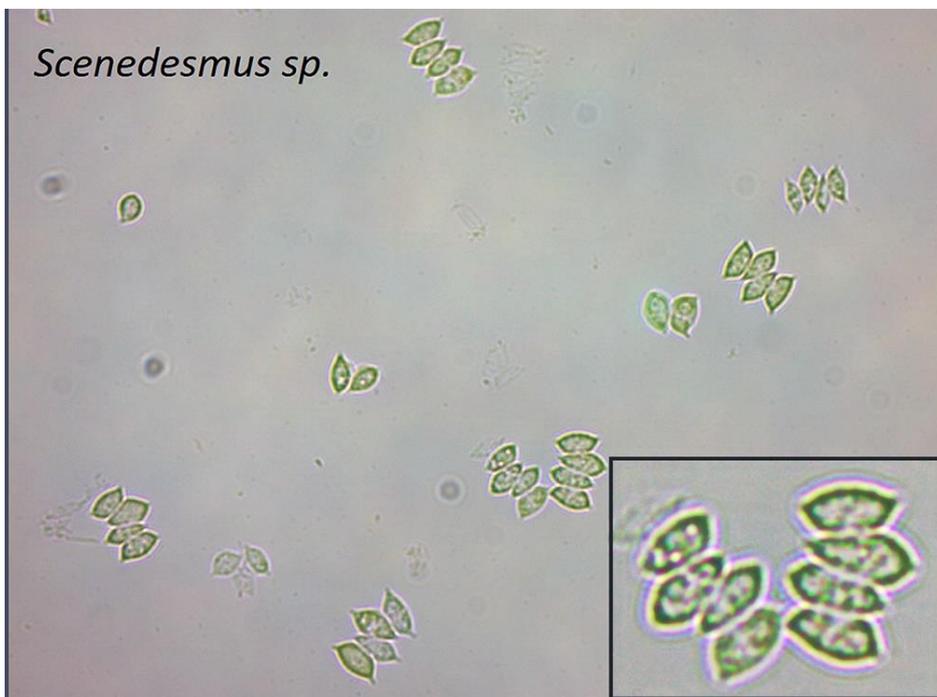
Fuente: La *et al.* (2019)

Anexo 3: Determinación de la presencia de microalgas fotosintéticas



Anexo 4: Determinación de la microalga no adaptada en el residuo agroalimentario.

Imagen de microscopía óptica en el objetivo 40×



Anexo 5: Ambiente del reactor. Lugar donde se prolifera las microalgas



Anexo 6: (a) Ilustraciones de los instrumentos utilizados en la investigación



A: HI 98130, Hanna Instruments (Italy)

B: HACH 2100Q, Turbidimeter (Spain)

Anexo 7: (b) Ilustraciones del instrumento de medición utilizado en la investigación



A: A&D GH-200, Analytical balance (Japan)

Anexo 8: (c) Ilustraciones de los equipos utilizados en la investigación



A: Carl Zeiss, Primo Star, (Germany)



B: Hettich Zentrifugen Universal 320R (Germany)

Anexo 9: (d) Ilustraciones de los equipos utilizados en la investigación

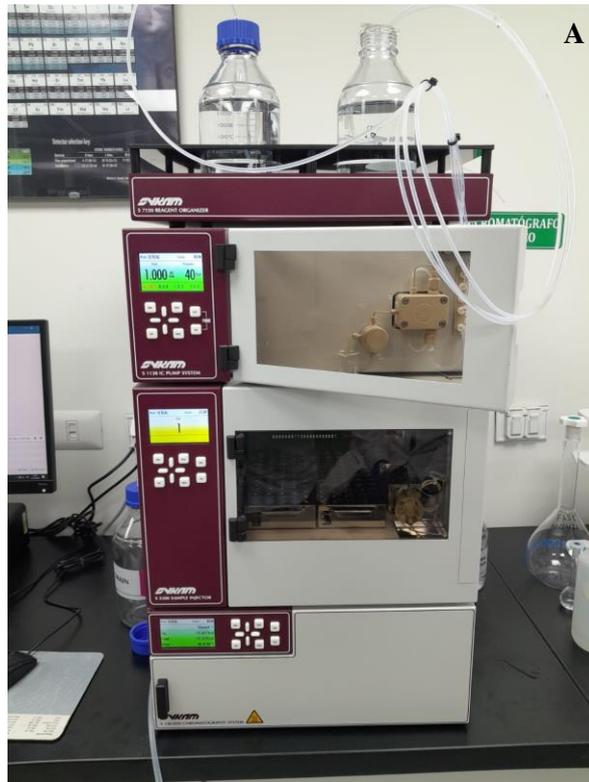


A: HITACHI, UH5300 Spectrophotometer (Japan)

B: Laminar flow chamber - Safzone (United States)

C: Jpinglobal Model 2020, Autoclave (Colombia)

Anexo 10: (e) Ilustraciones de los equipos utilizados en la investigación



A: Sykam, S-150 IC Chromatography Systems (Germany)

Anexo 11: Microalgas del género *Chlorella* sp. cultivadas en fotobiorreactores de vidrio bajo diferentes formulaciones del subproducto líquido de fruta



Anexo 12: ANOVA. Análisis de varianza de la concentración celular final (células mL⁻¹) de *Chlorella* sp. en 10, 20, 30, 40 y 50 por ciento del SLF con H₂O (a), MBM (b) y MN (c), respectivamente y controles (BG11, MBM y MN) al séptimo día de tratamiento

(a)

ANOVA					
Medio I (SLF + H ₂ O): concentración final (células mL ⁻¹)					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1.59 × 10 ¹⁵	7	2.27 × 10 ¹⁴	1362.558	0.000
Dentro de grupos	2.67 × 10 ¹²	16	1.67 × 10 ¹¹		
Total	1.59 × 10 ¹⁵	23			

(b)

ANOVA					
Medio II (SLF + MBM): concentración final (células mL ⁻¹)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	6.89 × 10 ¹⁴	7	9.84 × 10 ¹³	845.267	0.000
Dentro de grupos	1.86 × 10 ¹²	16	1.16 × 10 ¹¹		
Total	6.91 × 10 ¹⁴	23			

(c)

ANOVA					
Medio III (SLF + MN): concentración final (células mL ⁻¹)					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1.87 × 10 ¹⁵	7	2.67 × 10 ¹⁴	1651.29	0.00
Dentro de grupos	2.59 × 10 ¹²	16	1.62 × 10 ¹¹		
Total	1.87 × 10 ¹⁵	23			

Los resultados del ANOVA presentan diferencias significativas en los cultivos a diferentes concentraciones del subproducto líquido de fruta ($p < 0.05$).

Anexo 13: ANOVA. Análisis de varianza del rendimiento celular (células mL⁻¹) (a), productividad celular (células mL⁻¹ d⁻¹) (b) y tasa de crecimiento (d⁻¹) (c) de *Chlorella* sp. en 10, 20, 30, 40 y 50 por ciento del SLF en combinación con H₂O, MBM y MN, respectivamente, y BG11, MBM y MN al 2^{do} y 4^{to} día de tratamiento

(a)

ANOVA					
Rendimiento de biomasa (células mL ⁻¹) – 4 ^{to} día					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2.90 × 10 ¹⁵	17	1.71 × 10 ¹⁴	2912.339	0.000
Dentro de grupos	2.11 × 10 ¹²	36	5.86 × 10 ¹⁰		
Total	2.90 × 10 ¹⁵	53			

(b)

ANOVA					
Productividad de biomasa (células mL ⁻¹ d ⁻¹) – 4 ^{to} día					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1.81 × 10 ¹⁴	17	1.07 × 10 ¹³	2912.339	0.000
Dentro de grupos	1.32 × 10 ¹¹	36	3.66 × 10 ⁹		
Total	1.81 × 10 ¹⁴	53			

(c)

ANOVA					
Tasas de crecimiento (día ⁻¹) – 2 ^{do} día					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	8.527	17	0.502	4765.279	0.000
Dentro de grupos	0.004	36	0.000		
Total	8.531	53			

Los resultados del ANOVA presentan diferencias significativas en los cultivos a diferentes concentraciones y formulaciones del subproducto líquido de fruta ($p < 0.05$).

Anexo 14: ANOVA del contenido de lípidos (mg L^{-1}) de *Chlorella* sp. en 10 por ciento del SLF en H_2O , MBM y MN, y BG11 al 3^{er} (a) y 7^{mo} (b) día de tratamiento

(a)

ANOVA					
Contenidos de lípidos (día 3)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	6.123	3	2.041	2.755	0.112
Dentro de grupos	5.927	8	0.741		
Total	12.050	11			

(b)

ANOVA					
Contenidos de lípidos (día 7)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	355.260	3	118.420	19.067	0.001
Dentro de grupos	49.687	8	6.211		
Total	404.947	11			

Los resultados del ANOVA presentan diferencias significativas en los cultivos a diferentes formulaciones del subproducto líquido de fruta ($p < 0.05$).

Anexo 15: ANOVA: Análisis de varianza del rendimiento lipídica (mg L^{-1}) (a) productividad de lípidos ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$) (b) de *Chlorella* sp. en 10 por ciento del SLF en H_2O , MBM y MN al 7^{mo} día, y BG11 al 3^{er} día de tratamiento

(a)

ANOVA					
Rendimiento de lípidos					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	280.256	3	93.419	15.011	0.001
Dentro de grupos	49.787	8	6.223		
Total	330.043	11			

(b)

ANOVA					
Productividad de lípidos					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3.517	3	1.172	8.552	0.007
Dentro de grupos	1.096	8	0.137		
Total	4.613	11			

Los resultados del ANOVA presentan diferencias significativas en los cultivos a diferentes formulaciones del subproducto líquido de fruta ($p < 0.05$).

Anexo 16: ANOVA. Análisis de varianza de la eficiencia de remoción porcentual de DQO (a), NO_3^- (b), PO_4^{3-} (c) y SO_4^{2-} (d) por *Chlorella* sp. cultivada en 10 por ciento del SLF en H_2O , MBM y MN al séptimo día de tratamiento

(a)

ANOVA					
Remoción de DQO					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1165.335	2	582.668	1054.045	0.000
Dentro de grupos	3.317	6	0.553		
Total	1168.652	8			

(b)

ANOVA					
Remoción de NO_3^-					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	88.476	2	44.238	134.683	0.000
Dentro de grupos	1.971	6	0.328		
Total	90.447	8			

(c)

ANOVA					
Remoción de PO_4^{3-}					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	85.232	2	42.616	16.386	0.004
Dentro de grupos	15.605	6	2.601		
Total	100.836	8			

(d)

ANOVA					
Remoción de SO_4^{2-}					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1445.328	2	722.664	174.429	0.000
Dentro de grupos	24.858	6	4.143		
Total	1470.186	8			

Los resultados del ANOVA presentan diferencias significativas en los cultivos a diferentes formulaciones del subproducto líquido de fruta ($p < 0.05$).

Anexo 17: HSD Tukey^a. Análisis de significancia de concentración final (células mL⁻¹) de *Chlorella* sp. en 10, 20, 30, 40 y 50 por ciento del SLF con H₂O (a), MBM (b) y MN (c), respectivamente, y controles (BG11, MBM y MN) al séptimo día de tratamiento

(a)

Medio I (SLF + H ₂ O): concentración (células mL ⁻¹)							
HSD Tukey ^a							
Código	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		f	e	d	c	b	a
SLF-50	3	2.97 × 10 ⁶					
SLF-40	3		6.03 × 10 ⁶				
MN	3		6.19 × 10 ⁶				
SLF-30	3			7.54 × 10 ⁶			
SLF-20	3				1.35E × 10 ⁷		
MBM	3				1.47 × 10 ⁷	1.47 × 10 ⁷	
BG11	3					1.49 × 10 ⁷	
SLF-10	3						3.05 × 10 ⁷
Sig.		1.000	1.000	1.000	0.059	0.999	1.000

(b)

Medio II (SLF + MBM): concentración (células mL ⁻¹)								
HSD Tukey ^a								
Código	N	Subconjunto para alfa = 0.05						
		G	f	e	d	c	b	a
SLF-50	3	1.3×10 ⁶						
SLF-40	3		3.4×10 ⁶					
SLF-30	3			5.1×10 ⁶				
MN	3				6.2×10 ⁶			
SLF-20	3					7.2×10 ⁶		
MBM	3						1.5×10 ⁷	
BG11	3						1.4×10 ⁷	
SLF-10	3						1.6×10 ⁷	
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.997	1.000

(c)

Medio III (SLF + MN): concentración (células mL ⁻¹)							
HSD Tukey ^a							
Código	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		f	e	d	c	b	a
SLF-50	3	2.28 × 10 ⁶					
SLF-40	3	3.12 × 10 ⁶					
SLF-30	3		4.38 × 10 ⁶				
MN	3			6.19 × 10 ⁶			
SLF-20	3				1.33 × 10 ⁷		
MBM	3					1.47 × 10 ⁷	
BG11	3					1.49 × 10 ⁷	
SLF-10	3						3.06 × 10 ⁷
Sig.		0.238	1.000	1.000	1.000	0.999	1.000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000

Anexo 18: HSD Tukey^a. Análisis de significancia del rendimiento (células mL⁻¹) (a), productividad (células mL⁻¹ d⁻¹) (b) y tasa de crecimiento (d⁻¹) (c) de *Chlorella* sp. de 10 al 50 por ciento del SLF en H₂O, MBM y MN, y controles al 2^{do} y 4^{to} día de tratamiento

(a) HSD Tukey ^a											
Código	N	Subconjunto para alfa = 0.05									
		j	i	h	g	f	e	d	c	b	a
50-MN	3	9.58 × 10 ⁴									
50-MBM	3	2.46 × 10 ⁵									
50-H ₂ O	3	3.21 × 10 ⁵									
40-MN	3	3.29 × 10 ⁵									
40-MBM	3	5.25 × 10 ⁵	5.25 × 10 ⁵								
30-MN	3	7.38 × 10 ⁵	7.38 × 10 ⁵								
30-MBM	3		1.21 × 10 ⁶								
40-H ₂ O	3			2.28 × 10 ⁶							
30-H ₂ O	3				3.72 × 10 ⁶						
MN	3					4.80 × 10 ⁶					
20-MBM	3						6.96 × 10 ⁶				
20-H ₂ O	3						7.09 × 10 ⁶				
20-MN	3						7.15 × 10 ⁶	7.15 × 10 ⁶			
BG11	3							7.88 × 10 ⁶	7.88 × 10 ⁶		
MBM	3								8.15 × 10 ⁶		
10-MBM	3									1.85 × 10 ⁷	
10-MN	3									1.86 × 10 ⁷	
10-H ₂ O	3										2.62 × 10 ⁷
Sig.		0.156	0.099	1.000	1.000	1.000	1.000	0.064	0.992	1.000	1.000

(b) HSD Tukey ^a											
Código	N	Subconjunto para alfa = 0.05									
		j	i	h	g	f	e	d	c	b	a
50-MN	3	2.40×10^4									
50-MBM	3	6.15×10^4									
50-H ₂ O	3	8.02×10^4									
40-MN	3	8.23×10^4									
40-MBM	3	1.31×10^5	1.31×10^5								
30-MN	3	1.84×10^5	1.84×10^5								
30-MBM	3		3.02×10^5								
40-H ₂ O	3			5.70×10^5							
30-H ₂ O	3				9.29×10^5						
MN	3					1.20×10^6					
20-MBM	3						1.74×10^6				
20-H ₂ O	3						1.77×10^6				
20-MN	3						1.79×10^6	1.79×10^6			
BG11	3							1.97×10^6	1.97×10^6		
MBM	3								2.04×10^6		
10-MBM	3									4.63×10^6	
10-MN	3									4.65×10^6	
50-MN	3										6.56×10^6
Sig.		0.156	0.099	1.000	1.000	1.000	1.000	0.064	0.992	1.000	1.000

(c) HSD Tukey ^a															
Código	N	Subconjunto para alfa = 0.05													
		m	l	k	j	i	h	g	f	e	d	c	b	a	
50-MN	3	0.180													
50-MBM	3	0.196													
40-MBM	3		0.249												
40-MN	3		0.252												
50-H ₂ O	3			0.304											
30-MBM	3				0.372										
30-MN	3					0.424									
40-H ₂ O	3						0.466								
30-H ₂ O	3							0.629							
MN	3								0.736						
MBM	3									0.844					
20-H ₂ O	3										0.958				
20-MBM	3										0.960				
BG11	3										0.962				
20-MN	3										0.972				
10-H ₂ O	3											1.152			
10-MN	3												1.350		
10-MBM	3													1.467	
Sig.		0.904	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.951	1.000	1.000	1.000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000

Anexo 19: HSD Tukey^a. Análisis de significancia de contenido de lípidos (mg L⁻¹) de *Chlorella* sp. en 10 por ciento del SLF en H₂O, MBM y MN, y BG11 al 3^{er} día de tratamiento

HSD Tukey ^a		
Código	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		a
BG11	3	2.6667
H ₂ O-10	3	3.2667
MBM-10	3	3.6333
MN-10	3	4.6333
Sig.		0.088

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000

Anexo 20: HSD Tukey^a. Análisis de significancia de contenido de lípidos (mg L⁻¹), rendimiento de lípidos (mg L⁻¹), productividad de lípidos (mg L⁻¹ d⁻¹) de *Chlorella* sp. en 10 por ciento del SLF en H₂O, MBM y MN, y BG11 al 3^{er} y 7^{mo} día de tratamiento

HSD Tukey ^a					
Código	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		d	c	b	a
1	3	BG11			
3	3		H ₂ O-10		
2	3			MBM-10	
4	3				MN-10
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000

Anexo 21: HSD Tukey^a. Análisis de significancia de la eficiencia de remoción porcentual de DQO (a), NO₃⁻ (b), PO₄³⁻ (c) y SO₄²⁻ (d) por *Chlorella* sp. cultivada en 10 por ciento del SLF en H₂O, MBM y MN al séptimo día de tratamiento

(a) HSD Tukey ^a				
Código	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		c	b	a
MBM-10	3	61.38		
H ₂ O-10	3		77.97	
MN-10	3			89.07
Sig.		1.000	1.000	1.000

(b) HSD Tukey ^a				
Código	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		b	a	
H ₂ O-10	3	91.16		
MN-10	3	91.55		
MBM-10	3		98.00	
Sig.		0.694	1.000	

(c) HSD Tukey ^a				
Código	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		b	a	
MBM-10	3	86.54		
H ₂ O-10	3		91.89	
MN-10	3		93.82	
Sig.		1.000	0.370	

HSD Tukey ^a				
Código	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		c	b	a
MBM-10	3	45.06		
H ₂ O-10	3		62.59	
MN-10	3			76.01
Sig.		1.000	1.000	1.000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000

Anexo 22: Informes de la caracterización química. Disponibilidad de informes de CERPER S.A.

Los conjuntos de datos sobre la caracterización química analizados durante el presente estudio fueron emitidos por Certificaciones del Perú S.A. (CERPER S.A.), pero se aplican restricciones para la disponibilidad de los informes debido a la política de CERPER S.A. Sin embargo, estos informes estarán disponibles previa solicitud razonable y permiso del autor de este estudio (Marco A. Mamani Condori).