

**Bioabsorción de nitratos y fosfatos mediante *Chlorella vulgaris* a partir de aguas residuales domésticas del Parque Ambiental Cantarrana - Bogotá.**

**Estudiantes**

**Stephany Lizeth García Acevedo**

**María Fernanda Ortiz Fajardo**

**Director**

**Hugo Mauricio Jiménez Melo**

**Microbiólogo, M. Sc.**

**Trabajo de Grado**

**Línea de Investigación**

**Biodiversidad, Biotecnología y Conservación**

**Universidad Pedagógica Nacional**

**Facultad de Ciencias y Tecnología**

**Departamento de Biología**

**Bogotá, D.C.**

**2023**

## **Agradecimientos**

*Agradecemos a la Universidad Pedagógica Nacional, por abrirnos las puertas a esta gran institución, que aun con sus dificultades es formadora de maestros y de conocimiento como el que logramos obtener en este trabajo.*

*A nuestro director de Trabajo de Grado Hugo Mauricio Jimenez Melo quien nos orientó en el área biológica de laboratorios, nos brindó su conocimiento y motivación en cada momento de este trabajo por lo cuál fue muy grato y divertido realizarlo junto a él.*

*A nuestras familias que desde sus esfuerzos nos apoyaron desde el inicio de la carrera hasta el final y siempre estuvieron con nosotras en todos los momentos ayudándonos tanto en lo económico como académico.*

*Al compañero Brayan Cortés, quien nos ayudó con la obtención de cepas de *Chlorella vulgaris* e hizo posible la realización de este trabajo en la parte de los bioensayos.*

*A nuestra paciencia y compromiso mutuo por llevar juntas este trabajo a flote hasta el final, al haber construido una vez más experiencias y momentos.*

## Tabla de Contenido

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>6</b>
<b>2. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>7</b>
<b>3. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>8</b>
3.1. Cuerpos de agua.....	8
3.1.1. Río.....	9
3.1.1.1. Río Tunjuelo.....	9
3.1.2. Aguas residuales domésticas.....	9
3.1.2.1. nitratos y fosfatos.....	10
3.2. Parque Ecológico.....	10
3.2.1. Parque Ambiental Cantarrana.....	10
3.3. Biorremediación.....	11
3.3.1. Bioabsorción.....	12
3.4. Microalgas.....	12
3.4.1. Chlorella vulgaris.....	13
3.5. Estrategia pedagógica guias practicas de laboratorio.....	14
<b>4. ANTECEDENTES.....</b>	<b>14</b>
4.1. Internacionales.....	14
4.2. Nacionales.....	16
4.3 Regionales.....	17
<b>5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>19</b>
<b>6. OBJETIVOS.....</b>	<b>20</b>
<b>7. METODOLOGÍA.....</b>	<b>21</b>
7.1 Paradigma y Enfoque.....	21
7.2 Área de estudio.....	22
7.3 Recolección de las muestras.....	22
7.4 Aislamiento de la microalga Chlorella vulgaris.....	22
7.5 Identificación la microalga Chlorella vulgaris.....	23
7.6 Cultivo celulares líquidos de Chlorella vulgaris.....	24
7.7 Bioensayos.....	24
7.10. Diseño y elaboración de Guías Prácticas de Laboratorio.....	25
7.11. Validación.....	25
<b>8. RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
8.1. Área de estudio.....	26
8.2. Recolección de las muestras.....	27
8.3. Aislamiento de la microalga Chlorella vulgaris.....	29
8.4. Identificación la microalga Chlorella vulgaris.....	31
8.5. Cultivo celulares líquidos de Chlorella vulgaris.....	32
8.6. Bioensayos.....	32
8.7. Diseño y Elaboración de Guías Prácticas de Laboratorio.....	40
8.8. Validación Guias Practicas de Laboratorio.....	44
<b>9. CONCLUSIONES.....</b>	<b>50</b>
<b>10. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>51</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>52</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Parque Ambiental Cantarrana, Usme - Bogotá. Tomado de google maps .....	<b>11</b>
<b>Figura 2.</b> Parque Ambiental Cantarrana, Usme - Bogotá. Tomado de Acueducto de Bogotá .....	<b>26</b>
<b>Figura 3.</b> Parque Ambiental Cantarrana, vista aérea. Usme - Bogotá. Tomado de Acueducto de Bogotá .....	<b>27</b>
<b>Figura 4.</b> Recolección de muestra de agua para aislamiento primario de microalgas. Usme - Bogotá. Tomado por García, V. (2022) .....	<b>28</b>
<b>Figura 5.</b> Recolección de muestra de agua de la cuenca media del Río Tunjuelito para la realización de los bioensayos. Usme - Bogotá. Tomado por García, S. (2023) .....	<b>28</b>
<b>Figura 6.</b> Medición de temperatura del Parque Ambiental Cantarrana. Usme - Bogotá. Tomado por García, S. (2023) .....	<b>28</b>
<b>Figura 7.</b> Cuenca media del Río Tunjuelito, lugar en donde se tomaron todas las muestras. Usme - Bogotá. Tomado por García, S. (2023) .....	<b>29</b>
<b>Figura 8.</b> Preparación de medio Bristol. Laboratorio Biología. Tomado por Ortiz, M. (2022) .....	<b>29</b>
<b>Figura 9.</b> Aislamiento primario a partir de muestras de agua. Laboratorio Biología. Tomado por García, S. (2022) .....	<b>30</b>
<b>Figura 10.</b> Aislamiento primario a partir de muestras de suelo. Laboratorio Biología. Tomado por García, S. (2022) .....	<b>31</b>
<b>Figura 11.</b> Aislamiento secundario de <i>Chlorella vulgaris</i> en medio Bristol líquido .....	<b>31</b>
<b>Figura 12.</b> <i>Chlorella vulgaris</i> . Observación al microscopio en 40x. Tomado por Ortiz, M. (2022) .....	<b>32</b>
<b>Figura 13.</b> Cultivo celular líquido de <i>Chlorella vulgaris</i> .....	<b>32</b>
<b>Figura 14.</b> Muestra de agua de la cuenca media del Río Tunjuelo .....	<b>33</b>
<b>Figura 15.</b> Procedimiento de los bioensayos, en donde se agregaron 45 mL de muestra de agua del Río Tunjuelo y 5 mL de <i>Chlorella Vulgaris</i> en los erlenmeyers .....	<b>33</b>
<b>Figura 16.</b> Muestra control de nitritos, nitratos y fosfatos .....	<b>34</b>
<b>Figura 17.</b> Total de bioensayos con sus réplicas / Bioensayos a los cuales se les hizo la medición .....	<b>34</b>
<b>Figura 18.</b> Resultados de la bioabsorción de <i>Chlorella vulgaris</i> de nitritos, nitratos y fosfatos .....	<b>35</b>

<b>Figura 19.</b> Resultados de la muestra control del agua del Río Tunjuelo a los 0 días y a los 15 días después .....	<b>36</b>
<b>Figura 20.</b> Muestra control de nitritos, nitratos y fosfatos .....	<b>36</b>
<b>Figura 21.</b> Bioensayo de absorción, medición de nitritos, nitratos y fosfatos .....	<b>37</b>
<b>Figura 22.</b> Réplica 1, medición de nitritos, nitratos y fosfatos .....	<b>37</b>
<b>Figura 23.</b> Réplica 2, medición de nitritos, nitratos y fosfatos .....	<b>37</b>
<b>Figura 24.</b> Conteo celular de <i>Chlorella vulgaris</i> Control .....	<b>39</b>
<b>Figura 25.</b> Conteo celular de <i>Chlorella vulgaris</i> Bioensayo .....	<b>39</b>
<b>Figura 26.</b> Portada de la primera guía práctica de laboratorio .....	<b>41</b>
<b>Figura 27.</b> Portada de la segunda guía práctica de laboratorio .....	<b>42</b>
<b>Figura 28.</b> Portada de la tercera guía práctica de laboratorio .....	<b>43</b>
<b>Figura 29.</b> Portada de la cuarta guía práctica de laboratorio .....	<b>44</b>
<b>Figura 30.</b> Encuesta realizada al grupo 1 de sistemas microbianos .....	<b>45</b>
<b>Figura 31.</b> Resultados de la primera pregunta del cuestionario de validación de las guías prácticas de laboratorio .....	<b>45</b>
<b>Figura 32.</b> Resultados de la segunda pregunta del cuestionario de validación de las guías prácticas de laboratorio .....	<b>46</b>
<b>Figura 33.</b> Resultados de la tercera pregunta del cuestionario de validación de las guías prácticas de laboratorio .....	<b>46</b>
<b>Figura 34.</b> Resultados de la Cuarta pregunta del cuestionario de validación de las guías prácticas de laboratorio .....	<b>47</b>
<b>Figura 35.</b> Resultados de la quinta pregunta del cuestionario de validación de las guías prácticas de laboratorio .....	<b>47</b>
<b>Figura 36.</b> Resultados de la sexta pregunta del cuestionario de validación de las guías prácticas de laboratorio .....	<b>48</b>
<b>Figura 37.</b> Resultados de la séptima pregunta del cuestionario de validación de las guías prácticas de laboratorio .....	<b>48</b>
<b>Figura 38.</b> Algunas sugerencias y recomendaciones de los estudiantes de grupo 1 de sistemas microbianos .....	<b>49</b>
<b>Figura 39.</b> Estudiantes durante la validación de las guías prácticas de laboratorio .....	<b>49</b>
<b>Figura 40 .</b> Estudiantes durante la validación de las guías prácticas de laboratorio .....	<b>50</b>

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Muestra control del agua del Río Tunjuelo ~ Parque Ambiental Cantarrana .....	<b>34</b>
<b>Tabla 2.</b> Resultados de la bioabsorción de <i>Chlorella vulgaris</i> de nitritos, nitratos y fosfatos .....	<b>35</b>
<b>Tabla 3.</b> Conteo celular de <i>Chlorella vulgaris</i> .....	<b>40</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

En la localidad de Usme las aguas residuales domésticas afectan al río Tunjuelo, más exactamente en el Parque Ambiental Cantarrana, esta situación es generada por el conjunto de apartamentos que están ubicados en el parque, los cuales vierten aguas residuales domésticas a la cuenca media del río de este parque, esto claramente afecta al ecosistema que lo rodea y contribuye a la contaminación de la corriente del río Tunjuelito en todo sus demás tramos; de igual modo, se tuvo en cuenta que este río nace de la cuenca alta donde también es contaminado por el flujo de los fertilizantes químicos que utilizan los campesinos en los cultivos y por los residuos sólidos originados por el mal manejo de las basuras (Rodríguez, Y. 2018).

Así mismo, el río Tunjuelito es el segundo río más grande que tiene Bogotá con una longitud aproximadamente de 73 km, nace en la laguna Chisacá en el Páramo de Sumapaz por encima de los 3.700 msnm y desemboca en el río Bogotá, atravesando localidades como la de Sumapaz, Ciudad Bolívar, Tunjuelito, Bosa Kennedy y Usme, siendo esta última localidad el lugar en donde encontramos el Parque Ambiental Cantarrana ubicado específicamente en la subcuenca del Río Tunjuelito, donde es un punto estratégico para el sistema hídrico de la capital (Alcaldía local de Tunjuelito, s.f).

A causa de los altos niveles de contaminación en las aguas con el pasar de los años, los científicos han realizado investigaciones con el fin de encontrar nuevas formas de recuperar los espacios degradados; es así que a principios de la década de los 80 se maneja el término de biorremediación, el cual consiste en una serie de estrategias fisico-químicas para la remediación biológica, constituida principalmente en la capacidad que tienen los organismos para degradar de forma natural algunos compuestos contaminantes, es de esta manera que la biorremediación permite reducir o remover residuos contaminantes como lo son los generados por el vertimiento de residuos en aguas. Usualmente los organismos utilizados para este fin son los microorganismos o los vegetales (Garzón, Rodríguez y Hernández, 2017).

Es así que se busco un microorganismo que disminuyera la contaminación de la vertiente de aguas residuales domésticas, por ello se pretendió desde la biorremediación el uso de *Chlorella vulgaris*, para reducir la carga contaminante de algunos compuestos que deterioran la calidad de agua; sin embargo, al ser un estudio realizado en laboratorio esta biorremediación con *Chlorella vulgaris*, no se llevó a cabo directamente en el ambiente, sino que en cambio se analizó la bioabsorción de nitrato y fosfatos, siendo estos algunos de los principales componentes que las agua residuales domésticas llevan como contaminantes.

Por consiguiente, *Chlorella vulgaris* se destaca entre las microalgas dulceacuícolas como una de las especies más estudiadas, con las que sea obtenido altos rendimientos de producción de metabolitos primarios y secundarios, teniendo una alta capacidad de absorción de nitratos y fosfatos (Gomez, Tormos, L. Y Ortega, Y. 2022). Además esta alga ha llamado la atención en la biotecnología, no solo por su capacidad de bioabsorción de algunos compuestos sino también por su producción de biomasa para la síntesis de biodiesel.

Algunas investigaciones han demostrado que el tratamiento de aguas residuales *in vitro* por medio de la microalga *Chlorella* sp ha tenido un desarrollo y resultado satisfactorio. De acuerdo a una investigación en el municipio de Barrancabermeja, Colombia; mediante bioensayos, en distintos medios de agua (agua 100%, residual 75%, agua residual 25%, agua purificada y un último con fertilizante foliar), se concluyó que el agua residual es un medio que brindaba las condiciones necesarias para el crecimiento y desarrollo de *Chlorella* sp, además alcanzó un 83,8% y 87,0% de efectividad en remoción de nitratos y fosfatos (Álvarez, T; Enrique, J y Palencia, E. 2015)

Por otro lado, en este trabajo se elaboró una serie de guías prácticas de laboratorio, como una estrategia de aprendizaje que permita a otros desarrollar el aislamiento, propagación y observación de la capacidad de bioabsorción de *Chlorella vulgaris*, ya que según Alcázar, F. et al (2016) "las guías están diseñadas para que el estudiante pueda familiarizarse con los equipos, reactivos y materiales de uso común en los laboratorios y desarrolle habilidades y destrezas en el manejo de los mismos, asumiendo su labor con un criterio analítico y científico".

## 2. JUSTIFICACIÓN

La contaminación de la cuenca media del Río Tunjuelito en el Parque ambiental Cantarrana es debida a las aguas residuales domésticas, que impactan de manera significativa a los habitantes de la zona y a los organismos que lo habita, además genera afectaciones tanto a nivel de salud como ambiental, ya que disminuye la calidad de agua mediante las distintas sustancias que son vertidas en este, por esta razón es importante buscar alternativas que permitan la descontaminación de esta zona del río, por ello se pretende mediante la microalga *Chlorella vulgaris* reducir la contaminación ya mencionada, ya que según algunos estudios este organismo presenta un 95% de eficiencia de remoción de los compuestos de nitratos y fosfatos.

Por otro lado, las fuentes hídricas son de gran importancia y son de gran valor en todo el mundo, siendo uno de los sustentos de vida más relevantes; entre ellos los ríos, en Bogotá D.C. se encuentra el río Tunjuelo el cual a lo largo de la historia ha sido importante ya que en sus 73 kilómetros de recorrido, es uno de los más grandes que tiene la ciudad y abasteció de agua a los bogotanos siendo el primer acueducto en la ciudad (Osorio J, 2006, pág 12).



Sin embargo, este río se ha contaminado y con el pasar del tiempo no se ha tenido en cuenta la reducción de la carga contaminante, es por ello que se quiere dar su relevancia y aportar a la descontaminación, desde un sector específico el cuál se encuentra ubicado en la cuenca media del Parque Ambiental Cantarrana donde se vierten las aguas residuales domésticas, es así que se busca obtener muestras de agua contaminada de este sector para posteriormente desde el laboratorio observar el potencial de la microalga *Chlorella vulgaris* en la bioabsorción de nitratos y fosfatos que son los principales compuestos de contaminación de las aguas residuales domésticas; para que en un futuro este trabajo sirva como antecedente para investigaciones futuras sobre biorremediación en este río.

Así mismo, se escogió a *Chlorella vulgaris* ya que es un microorganismo con una alta capacidad de adaptabilidad, además de ser nativo de Colombia, por otro lado, esta microalga ha sido usado eficazmente en otros estudios para la descontaminación de agua residuales como lo son las domésticas, industriales y agrícolas; permitiendo intuir que este organismo puede reducir nitratos y fosfatos en muestras de laboratorio de agua de la cuenca media del río Tunjuelito en el Parque Ambiental Cantarrana.

Por último, cabe destacar que este Trabajo de Grado a realizar es de gran importancia en el campo de la biología al desarrollar habilidades de investigación, como son la observación, la descripción, la obtención de datos y la resolución de problemas biológicos; como maestros de esta área del conocimiento podemos y debemos aportar al estudio de procesos biológicos como es la biorremediación; la formación académica en los laboratorios, la búsqueda de información y la construcción de conocimiento. Desde el área de la pedagogía se aporta a la realización de guías prácticas de laboratorio ya que son una estrategia de aprendizaje que motiva al estudiante a tener pautas para el desarrollo de habilidades, destrezas y conocimiento en el ámbito académico.

### **3. MARCO TEÓRICO**

#### **3.1. Cuerpos de agua**

El agua cubre más del 70% de la superficie del planeta Tierra; se encuentra en océanos, lagos, ríos y suelo. Es la fuente y el sustento de la vida, contribuye a regular el clima de todo el planeta. Además posee propiedades únicas que la hacen esencial para la vida. Los cuerpos de agua son entendidos como cualquier extensión que se encuentra en la superficie terrestre (ríos y lagos) o en el subsuelo (acuíferos, ríos subterráneos); tanto en estado líquido, como sólido (glaciares, casquetes polares); tanto naturales como artificiales (embalses) y estas pueden ser tanto de agua salada como dulce (Fernández.C y Alicia, 2012).

### **3.1.1. Río**

Un río es un sistema fluvial que presenta algunas características particulares con el resto de ecosistemas, este como unidad ecológica, no es un sistema cerrado, esto debido a que mantiene intercambios y relaciones con otros ecosistemas que bordean las orillas de su cauce. Un río es una corriente de agua que fluye desde su nacimiento hasta su desembocadura en otro río, lago o en el mar, su nacimiento puede tener distintos orígenes como por ejemplo los manantiales los cuales dan lugar a la formación de arroyos, que cuando confluyen, formando un río, en otras ocasiones pueden originarse por el deshielo de los glaciares (Beltran, S. 2009).

El río está dividido en partes, el cauce es un canal alargado que ha sido moldeado por la acción del agua. Este es el límite físico de un flujo de agua, siendo sus límites laterales las márgenes (o riberas); el lecho fluvial es la parte del fondo de un valle por donde escurren las aguas; El cauce menor es aquel por donde escurre agua todo el año (por ello se lo denomina permanente) y el cauce mayor o también conocido como llanura de inundación), contiene al primero y sólo es invadido por el curso menor debido al desborde durante las crecidas (Beltran, S. 2009).

#### **3.1.1.1. Río Tunjuelo**

El río Tunjuelo “nace en el embalse de Chisacá, localizado en el páramo de Sumapaz en el extremo suroriental de Bogotá, y en la localidad de Bosa desemboca en el río Bogotá, que a su vez es afluente del río Magdalena.” (Alcaldía local de Tunjuelito, 2016). A lo largo de su historia este río ha albergado dos quintas partes de la población de ciudad de Bogotá, teniendo una longitud de 73 km, lo que lo lleva a ser el segundo río más grande de la ciudad después del Bogotá; en 1930 sus aguas fueron la fuente hídrica del primer acueducto que abastecía la ciudad (Osorio, J. 2006).

A su vez, el uso de estas aguas ha traído grandes problemáticas ambientales de contaminación, desde 1960 las causas que lo han provocado son la construcción de canteras, el crecimiento urbano y la industrialización del sector, además de procesos de alta contaminación como la preparación de detergentes y las curtiembres (Alcaldía local de Tunjuelito, 2016).

### **3.1.2. Aguas residuales domésticas**

Las aguas residuales domésticas o también conocidas como aguas negras, son aguas procedentes de las heces y orina humanas, del aseo personal, de la cocina y de la limpieza de la casa, las cuales suelen poseer una gran cantidad de materia orgánica, microorganismos, restos de jabones, detergentes, lejía y grasas (Espigares, M. y Pérez, J. 2015).

Por otro lado, Osorio, M. et al (2021) nos dice que las aguas residuales domésticas son también conocidas con el nombre de aguas servidas, que tienen origen en las actividades de la rutina diaria del ser humano y sus

descargas son mediante sistemas de alcantarillado o de vertimientos directos sobre el ambiente; la composición de las aguas residuales domésticas es variada presentando características fisicoquímicas y biológica altamente alteradas, las cuales en tal estado no son aptas para el consumo humano.

#### **3.1.2.1. nitratos y fosfatos**

Los nitritos y nitratos, son compuestos solubles conformados molecularmente por nitrógeno y oxígeno; en el ambiente, el nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) generalmente se convierte a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ); aunque estos compuestos forman parte del ciclo biogeoquímico del nitrógeno, las actividades humanas aumenta sus niveles tanto en el suelo como en el agua, por lo que llegan a alcanzar altas concentraciones en ríos o lechos profundos; esta contaminación se asocia con actividades de origen industrial, ganadero, urbano, lixiviados, entre otros (Bolaños, J; Cordero, G y Segura, G. 2017).

Por otro lado, el fosfato ( $\text{PO}_4^-$ ) se forma a partir del fosfatos inorgánico que existe como mineral y contribuye directamente en el ciclo de este en el ambiente; también existe en solución como partículas, fragmentos sueltos o en cuerpos de organismos acuáticos. El incremento de este compuesto en el agua produce la muerte de peces y de muchas especies marinas, por la gran cantidad de polifosfatos provenientes de los detergentes de las aguas residuales. Por otra parte, el fosfato es un nutriente importante para el crecimiento de algas, esto quiere decir que al existir una mayor concentración de fosfatos, aumenta el crecimiento de algas, lo que a su vez afecta la cantidad de oxígeno presente en el agua y, por ende, el crecimiento desbordado de materia orgánica viva, que finalmente conduce a una eutrofización (Bolaños, J; Cordero, G y Segura, G. 2017).

### **3.2. Parque Ecológico**

Los parques en las ciudades, son espacios verdes de uso público, donde suele presentarse abundante vegetación e instalaciones para disfrutar de momentos de ocio y descanso, por otra parte, el término "ecológico" se refiere a las interacciones que tienen los seres vivos con el ambiente; por lo anterior, un parque ecológico es un espacio verde que se caracteriza por su especial cuidado de la vegetación, los ecosistemas y las especies que habitan en él. Principalmente estos lugares sirven de protección para los ecosistemas que acoge, además crea conciencia en la población sobre la importancia de preservar el ambiente; también permiten llevar a cabo investigaciones y estudios de carácter científico. Igualmente, aporta beneficios como es el control de las emisiones de carbono, así como en la preservación de las especies vegetales (Sanchez, J. 2022).

#### **3.2.1. Parque Ambiental Cantarrana**

En la localidad de Usme, se encuentra el Parque Ambiental Cantarrana, considerado uno de los pulmones verdes de la ciudad; tiene un recorrido de 76 hectáreas de zonas verdes en las cuales hay espacios de recreación; "Este gran parque, se ha convertido en uno de los puntos estratégicos para el

sistema hídrico de Bogotá, puesto que se encuentra ubicado en la carrera 1A No.100-11 sur, entre los barrios Monteblanco y Brazuelos, en la subcuenca del río Tunjuelo” (Alcaldía local de Usme. 2016).

Este parque abrió sus puertas a Bogotá en el año 2007, al nacer como un proyecto ambiental y ecológico debido al peligro de las desbordadas del río Tunjuelo; por lo cual se construyó una represa que contiene el agua del río cuando hay fuertes lluvias; de igual modo al lado del río hay espacios para la recreación de la comunidad (Usme.com.co. 2018). La presa seca, ubicada en el Parque Ambiental Cantarrana ver Figura 1, consiste en la regulación de las crecientes del río Tunjuelo, lo cual benefició 42 barrios en Bogotá ubicados a lo largo de la cuenca del río Tunjuelo, el cual atraviesa de sureste a suroeste, recorriendo la localidad Sumapaz, Usme, Ciudad Bolívar, Tunjuelito, Bosa y Kennedy, limientando con la vereda Bosatama de Soacha (Acueducto de Bogotá , 2021).

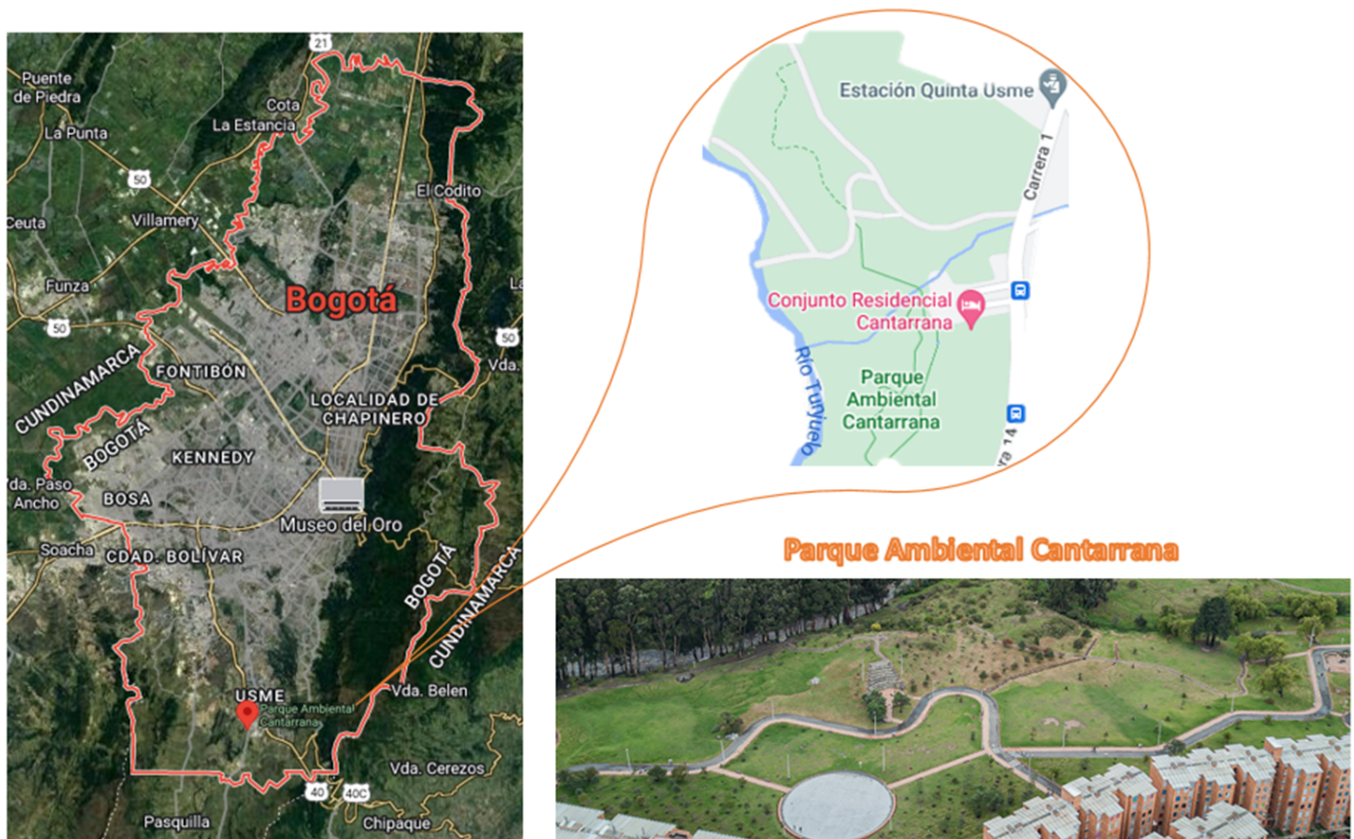


Figura 1. Parque Ambiental Cantarrana, Usme - Bogotá. Tomado de google maps

### 3.3. Biorremediación

De acuerdo a la fundación chilena FCH (2013), se menciona que las tecnologías de remediación se pueden clasificar en varios apartados siendo uno de ellos de acuerdo al lugar de aplicación de la remediación, estando dentro de esta categoría la biorremediación *in situ* y *ex situ*, la cual consiste esta última en la extracción del medio contaminado para su posterior tratamiento, ya sea en el mismo lugar (On Site) o en instalaciones o espacios externos (Off Site). Este tipo de remediación puede ser usado tanto para suelos como para fuentes hídricas. Dentro de la

clasificación de las tecnologías de acuerdo a el tipo de tratamiento aplicado se pueden distinguir los tratamientos biológicos, que están centrados en la degradación, transformación y/o remoción de contaminantes mediante la actividad metabólica natural de algunos organismos, los tratamientos fisicoquímicos, que logran la destrucción, separación y/o contención de contaminantes aprovechando propiedades físicas y/o químicas; entre estos microorganismo se encuentran las, bacterias, hongos y microalgas.

### **3.3.1. Bioabsorción**

La bioabsorción se conoce como la remoción de compuestos contenidos en soluciones acuosas mediante la unión a la biomasa, entre los microorganismos estudiados se encuentran las bacterias, hongos y microalgas; los cuales asimilan y concentran los nutrientes; este proceso de bioacumulación tiene lugar cuando la energía metabólica se emplea para la asimilación de los componentes inorgánicos, y cuando no requiere esta energía se refiere al proceso conocido como bioadsorción, que generalmente requiere de la complejación de los elementos inorgánicos, por ligandos o grupos funcionales, de la pared exterior de la célula, cuando por el contrario, los microorganismos retienen internamente los compuestos por complejización con diversos ligandos citoplasmáticos como los polifosfatos o las proteínas; sin embargo, los microorganismos también pueden ser selectivos para los variados contaminantes (Jimenez, G; Greiss, K; Atorre, R. y Grace, H. 2013).

Por otro lado, según Volesky en Jimenez, G et al (2013), se puede encontrar que las microalgas tienen gran importancia y aplicación en el área de la bioadsorción:

Las algas despiertan un especial interés en la investigación y desarrollo de nuevos materiales biosorbentes, debido no solamente a su alta capacidad de adsorción sino también a que se encuentran presentes en mares y océanos en cantidades abundantes y de fácil acceso (Volesky, 1990). Sin embargo, hay pocas publicaciones sobre biosorción empleando algas en relación a las existentes usando otros biomateriales principalmente bacterias y hongos. (pág. 29)

### **3.4. Microalgas**

Las microalgas son microorganismos unicelulares, fotosintéticos y eucariotas, son altamente eficientes en la fijación de CO<sub>2</sub>, utilizando la energía solar para la producción de biomasa, estos organismos tienen una gran importancia como productores primarios de la cadena trófica, siendo estos los primeros productores de la materia orgánica; su alto número de especies y versatilidad permite que estos sean utilizados en distintos campos industriales. Las algas se encuentran presentes en todos los ambientes con agua, como lagos, mares y ríos, aunque también pueden ser encontrados en ambientes terrestres, lo que las hace ser adaptadas a una gran cantidad de condiciones (Cajamar, 2015).

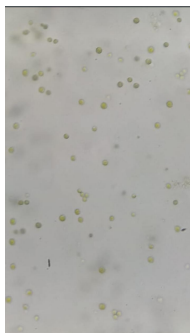
De igual modo, la composición y abundancia de las poblaciones de algas en los cuerpos de agua son influenciadas por las características físico-químicas del agua

que se relacionan con la disponibilidad de nutrientes como es el fósforo y el nitrógeno, los cuales son utilizados por las algas para su crecimiento y funcionamiento; el enriquecimiento de las aguas, se conoce como proceso de eutroficación, esto se debe a las actividades que se realizan en las áreas que rodean los cuerpos de agua, como lo es el aumento en las cargas de materia orgánica, especialmente de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo provenientes de la actividad agrícola o de los drenajes municipales que pueden tener detergentes, que generan la eutroficación. El aumento de nutrientes puede favorecer el crecimiento excesivo de algunas especies de algas, alterando el equilibrio y funcionamiento del ecosistema acuático, cuando hay una alta concentración de biomasa de las algas, éstas al degradarse consumen el oxígeno disuelto en el agua, lo cual puede afectar a los peces, anfibios y otros organismos acuáticos, debido a la disminución del oxígeno (Vázquez, G. 2023).

Por consiguiente las microalgas presentan una capacidad biorremediadora que consiste en la eliminación o biotransformación de contaminantes de un medio líquido o gaseoso. Estos compuestos contaminantes son captados por la biomasa algal y pueden ser recuperados mediante su producción. Dentro de las microalgas encontramos diversas especies como *Chlorella vulgaris* (Hernandez, A. y Labbe, J. 2014).

#### 3.4.1. *Chlorella vulgaris*

Según M.W. Beyerinck, 1890, la microalga *Chlorella vulgaris* se encuentra clasificada taxonómicamente:



**Reino:** Protista  
**División:** Chlorophyta  
**Clase:** Chlorophyceae  
**Orden:** Chlorococcales  
**Familia:** Oocytaceae  
**Género:** *Chlorella*  
**Especie:** *Chlorella vulgaris*

Imagen tomada por Maria F. Ortiz (2022)

*Chlorella vulgaris* es un alga verde unicelular, microscópica con un tamaño de 5 a 10  $\mu\text{m}$  y con una estructura similar a la de las plantas superiores, conteniendo una pared celular, mitocondria y cloroplastos, siendo este último necesario para llevar a cabo la fotosíntesis; por otro lado, presenta reproducción asexual por auto-esporulación que toma alrededor de 24 horas para realizar su división, posee un rápido crecimiento en condiciones autotróficas, heterotróficas y mixotróficas. Esta alga está presente en el planeta Tierra desde el periodo precámbrico y presenta múltiples ventajas como por ejemplo su bajo costo, fácil cultivo, alta velocidad de crecimiento y la habilidad de adaptarse a diferentes ambientes, lo que permite su cultivo en áreas pequeñas. La especie *Chlorella vulgaris* fue descrita en 1890 por el microbiólogo Martinus Willem Beijerinck, quien obtuvo cultivos puros de esta microalga, siendo este el primer cultivo de microalgas eucariotas, a partir de entonces se desarrolló el interés por sus aplicaciones biotecnológicas (Cajamar, 2015).

De acuerdo a Safil, C., Zebib, O. Merah, P. y Pontarlier citados por Gomez, Tormos, L. Y Ortega, Y. (2022) entre las microalgas dulceacuícolas *Chlorella vulgaris* ha sido una de las especies más estudiadas, con las que se ha obtenido altos rendimientos de metabolitos primarios y secundarios, teniendo una alta capacidad de absorción de nitratos y fosfatos; por otro lado, se ha observado que, debido a su adaptabilidad, puede responder de manera diferente cuando se expone a diferentes factores durante su crecimiento (Ortiz, M.; Romero, M. & Meza, L. 2018).

Así mismo, en el transcurso del tiempo, el uso de las microalgas como *Chlorella vulgaris* bajo condiciones controladas ha sido importante, dando diversas posibilidades económicas, entre ellas su biomasa puede ser usada para aplicaciones como alimento para animales, biofertilizantes en el suelo, alimento de los acuarios o resolver problemas de salud pública, por medio de la purificación biológica de las aguas negras de las ciudades (Kanno y Kazie, 2005 en Jimenez, G. et al, 2013).

### **3.5. Estrategia pedagógica guías prácticas de laboratorio**

Las prácticas de laboratorio son una estrategia didáctica para la enseñanza y aprendizaje de los sujetos, ya que estas posibilitan el desarrollo de algunas habilidades científicas y un aprendizaje de los conceptos asociados con las temáticas que se abordan con los estudiantes. Así mismo, estas prácticas se hacen esenciales ya que motivan el razonamiento del estudiante, dado que en el proceso se realizan observaciones, comparaciones y análisis de resultados. Además, este tipo de prácticas propician el desarrollo de habilidades y actitudes positivas hacia el trabajo de laboratorio y a su vez permiten relacionar con asuntos de la vida diaria y con la tecnología, en donde los estudiantes son expuestos a una situación que comienza con el planteamiento del problema y su solución y se requiere de integrar aspectos cualitativos y cuantitativos (Marín, 2010).

## **4. ANTECEDENTES**

### **4.1. Internacionales**

En el estudio realizado en Lima, Perú por Oscanoa, A; Cervantes, M; Flores, L. y Ruiz, A. (2021) Evaluación del potencial de *Desmodesmus asymmetricus* y *Chlorella vulgaris* para la remoción de nitratos y fosfatos de aguas residuales; tuvo como objetivo evaluar las microalgas *Chlorella vulgaris* y *Desmodesmus asymmetricus*, con el fin de determinar la proporción de microalgas que remueven la mayor concentración de nitrógeno y fosfatos en aguas residuales de una planta de tratamiento; para ello tuvo como metodología un diseño de mezclas de microalgas con el agua residual durante 9 días, con fotoperiodo 12:12 horas, en un invernadero; en sus resultados se pudo observar que las mayores eficiencias de remoción de nitrógeno y fosfatos se obtuvieron con mayor proporción de *Desmodesmus asymmetricus*, entre ellos sobresalió el tratamiento T3 25% *Chlorella vulgaris* y 75% *Desmodesmus asymmetricus* donde se removió el 100% de nitrógeno y 77.1% de

fosfatos, también determinaron que la mezcla óptima de microalgas que logra la mayor remoción, fue la proporción de 6% de *C. vulgaris* y 94% de *D. asymmetricus* en un tiempo de cultivo de 9 días, como última conclusión tuvieron que las microalgas demuestran su capacidad de biorremediación de aguas residuales domésticas. Por lo anterior, este antecedente es relevante ya que muestra el uso de *Chlorella vulgaris* en el tratamiento de aguas residuales y al mezclarla con otra microalga tiene una capacidad de bioadsorción en menos días.

Un estudio realizado en Surat, India por Mondra, N; Jariwala, N. y Robin, C. (2020) Comparative study for Treatment of Domestic Wastewater Using *Chlorella Vulgaris*, tuvo como objetivo el estudio de diferentes concentraciones de microalgas (20%, 25%, 30%, 35%, 40% y 45%), para el tratamiento de aguas residuales domésticas durante 11 horas; para ello se usó la metodología experimental, donde se utilizaron distintos vasos de vidrio con variadas concentraciones de *Chlorella vulgaris* y aguas residuales domésticas sin tratar, analizando algunas propiedades fisicoquímicas del agua como por ejemplo el pH, la conductividad, etc; tuvo como resultado que a pesar del corto tiempo del estudio se observó una eliminación eficiente, por lo que *Chlorella vulgaris* puede ser una opción viable y rentable para el tratamiento del agua. Este antecedente es relevante ya que permite ver la fuerte adaptabilidad de *Chlorella vulgaris* y su rápido crecimiento en poco tiempo, además de la viabilidad para la biorremediación de aguas residuales domésticas, nos aportaría para la investigación una alternativa amigable con el ambiente en lugar del uso de químicos ya que estos traen afectaciones secundarias.

Un trabajo realizado en México por Aragón, L. et al (2017) Tratamiento de aguas residuales domésticas empleando *Chlorella vulgaris* en un biorreactor airlift, tuvo como objetivo el diseño de un sistema de tratamientos de aguas residuales domésticas utilizando cepas de *Chlorella vulgaris* en el biorreactor para remover algunos parámetros que contienen el agua residual (nitrógeno, fosfatos, DQO) para luego analizar factores como el pH y temperatura, para esto se utilizó una metodología experimental, obteniendo como resultado que durante la etapa experimental el pH y las eficiencias de remoción fueron en aumento en función del tiempo de tratamiento, dando una eficiencia de remoción de los distintos componentes presentes en el agua residual por *Chlorella vulgaris* siendo 27.45% para nitratos y 54.22% para fosfatos en un tiempo final de 48 horas. El antecedente es de importancia para el presente trabajo ya que permite dar elementos para la posible experimentación que se utilizará para determinar la efectividad de la *Chlorella vulgaris* para la biorremediación de aguas residuales domésticas.

De acuerdo a un estudio realizado en Hong Kong por Liang, Y. y Wong, M. (2000) Reclamation of Wastewater for Polyculture of Freshwater Fish: Bioassays Using *Chlorella* and *Gambusia*, tuvo como objetivo la recuperación de aguas residuales mediante *Chlorella vulgaris* y *Gambusia* para policultivos de peces de agua dulce; utilizando una metodología experimental, mediante bioensayos con *Chlorella*



*vulgaris* y *Gambusia* para ver su efectividad en la recuperación de aguas residuales; concluyendo que después de 17 días la mayoría de los cultivos alcanzaron la fase estacionaria, además de que las aguas de estanques utilizadas en los bioensayos, contenían elementos esenciales que apoyan el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* y el pez *Gambusia*. Lo anterior es relevante ya que da elementos procedimentales para determinar la efectividad de *Chlorella vulgaris* en la biorremediación de aguas residuales domésticas, además de reafirmar su efectividad a causa de los elementos esenciales que contiene el agua residual para el crecimiento de la *Chlorella vulgaris*.

## 4.2. Nacionales

En el artículo realizado en la Universidad de Antioquia por Rentería, M. y García, D. (2019) Estudios sobre la biorremediación en Colombia; tuvo como objetivo recopilar todos los estudios de biorremediación en Colombia y analizar qué técnicas o aplicaciones son comunes para llevar a cabo este proceso; para su metodología realizaron una búsqueda bibliográfica en diferentes bases de datos como ScienceDirect, Scielo, Redalyc, PubMed, EBESCO y Scopus, seleccionando las publicaciones por palabras clave, tipo de estudio, población, aplicaciones, fecha de publicación e idiomas; en las conclusiones obtuvieron un total de 1.758 resultados de bibliografía de los cuales solo se analizaron 59 artículos, de ellos se identificó que en Colombia se comenzó a publicar estudios relacionados con la biorremediación desde el año 2002 y el interés por el tema incrementa cada año, por otro lado, el análisis concluyó que las bacterias son los microorganismos más utilizados, para este tipo de investigaciones, entre las principales técnicas empleadas son la fitorremediación, la bioestimulación y la bioaumentación, también se encontró que la utilidad de la biorremediación se enfoca en la recuperación de suelos y aguas contaminadas, entre la literatura el 20% trata de aguas contaminadas (12/59), el 6,8% de aguas residuales (4/59) y 3,4% de biorremediación en lixiviados (2/59). Este antecedente es relevante, ya que muestra que la biorremediación está siendo un estudio en auge en Colombia, el cual se ha venido desarrollando gradualmente pero aún así se tiene poca información sobre esta en microalgas y en agua residuales, debido a que los mayores estudios han sido con bacterias en el campo de la biorremediación en Colombia, por lo que este trabajo es un aporte al campo de la bioadsorción con microalgas como *Chlorella vulgaris* en Colombia.

Un trabajo realizado en Bucaramanga por Candela, R. (2016) Las microalgas y el tratamiento de aguas residuales: conceptos y aplicaciones, tuvo como principal objetivo la revisión bibliográfica sobre el uso de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales, además de reseñar los pronunciamientos internacionales y la legislación nacional sobre el tratamiento de aguas residuales que debe hacerse en Colombia, para ello como metodología realizó una búsqueda de publicaciones

académicas recientes, hechas tanto en Colombia como en América Latina, España y Portugal, en bases de datos digitales como Redalyc, Dialnet, SciELO, OpenAccess, entre otras, y en bibliotecas como la Universidad de Educación Abierta y a Distancia y la Luis Ángel Arango, primando investigaciones que se hayan llevado a cabo después del año 2000; finalmente como conclusión se tuvo que la investigación observó un mayor crecimiento de las microalgas cuando hay presencia de efluentes anaerobios, por la mayor concentración de nutrientes, de igual manera, se expuso que las microalgas *Chlorella vulgaris* y *Sphaerocystis* sp tienen mayor tolerancia a los efluentes anaerobios, ya que hay una disminución en el efluente de rastro por la presencia de *Paramecium*; por otro lado, el tratamiento es mucho más eficiente si se realiza sobre cultivos mixtos, con altas temperaturas y con una mayor velocidad de reacción, además se pudo concluir que el uso de las microalgas *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. es efectivo para el tratamiento de aguas residuales provenientes de la industria pesquera, esta última en especial para la remoción de fosfatos, nitrógeno y materia orgánica. Este trabajo nos permite desde el presente proyecto tener un panorama general del uso de las microalgas para la biorremediación, además de ofrecernos indicaciones y algunas recomendaciones que se deben tener a la hora de desarrollar un proyecto de biorremediación enfocado a aguas residuales.

En el estudio realizado por Álvarez, T; Enrique, J y Palencia, E. (2015) Tratamiento de aguas residuales *in vitro* por medio de la microalga *Chlorella* sp. en el municipio de Barrancabermeja, Colombia; tuvo como objetivo determinar la efectividad del cultivo de *Chlorella* sp. como un método de tratamiento *in vitro* para la remoción de aguas residuales; en su metodología se utilizó bioensayos, en distintos medios de agua (agua 100%, residual 75%, agua residual 25%, agua purificada y un último con fertilizante foliar), dando como resultado un crecimiento satisfactorio de la microalga en las distintas aguas, sin embargo, las mayores densidades celulares se obtuvieron en el agua residual; se concluyó que el agua residual es un medio que brindaba las condiciones necesarias para el crecimiento y desarrollo de *Chlorella* sp, además alcanzó un 83,8% y 87,0% de efectividad en remoción de nitratos y fosfatos. De acuerdo a lo anterior es oportuno ya que permite dar un referente de la efectividad del crecimiento de *Chlorella vulgaris* en aguas residuales además de evidenciar su alta capacidad de remoción de nitratos y fosfatos, siendo este una forma de biorremediación, además de mostrar la efectividad en aguas 100% residuales.

El trabajo realizado en la Universidad de Medellín por Aguirre, N. Palacio, J. Correa, I. y Hernández, E. (2007) Ensayos de bioestimulación algal con diferentes relaciones nitrógeno : fosfatos, bajo condiciones de laboratorio; tuvo como objetivo analizar el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*, ante las diferentes concentraciones de nitrógeno y fósforo, a través de ensayos de bioestimulación; en su conclusión obtuvieron que el crecimiento de *Chlorella vulgaris* es dependiente de la relación entre el nitrógeno y el fósforo. Lo anterior, orienta a la realización del

trabajo debido a que informa sobre los parámetros, condiciones y nutrientes que necesita *Chlorella vulgaris* para su crecimiento.

### 4.3 Regionales

En el Trabajo de Grado en la Universidad Jorge Tadeo Lozano realizado en Bogotá D.C: por Rodríguez, Y. (2018) Tunjuelo: el río que se convirtió en cloaca; tuvo como objetivo el abordaje de la contaminación de las cuencas altas, media y baja del río Tunjuelo, el cual buscaba identificar quiénes y con qué contaminan esta fuente hídrica; teniendo una metodología cualitativa descriptiva (etnográfica), empleando entrevistas y caracterizaciones de los contaminantes; obtuvo como conclusión que este río es contaminado, por los fertilizantes agrícolas, la minería, los lixiviados, las curtiembres, las basuras y otros vertientes de la ciudad. Este antecedente brinda un apoyo a la relevancia y pertinencia del proyecto de investigación debido a que da un recorrido etnográfico de los contaminantes que se vierten en el Río Tunjuelo y la poca intervención que se le tiene en su tratamiento, haciendo conveniente la intervención para la disminución de la carga contaminante de la cuenca media en el Parque Ambiental Cantarrana.

En la Universidad Libre, un trabajo realizado por Ortiz, M; Romero, M. y Meza, L. (2018) La biorremediación con microalgas (*Spirulina máxima*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*) como alternativa para tratar la eutrofización de la laguna de Ubaque, Colombia; tuvo como objetivo el tratamiento biológico de la laguna de Ubaque, Cundinamarca por medio de la biorremediación con las algas *Spirulina máxima*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*, el cuál buscaba la disminución de los niveles de nitratos, nitritos y fosfatos que se encuentran en esa fuente hídrica y con ello comprobar la capacidad depuradora de estos microorganismos; para ello este trabajo fue realizado por medio de la metodología del diseño experimental, por el cuál las cepas fueron adaptadas a las condiciones de la laguna para posteriormente cultivarlas y realizar el experimento; en sus conclusiones se determinó que la biorremediación con microalgas en la laguna de Ubaque fue viable, siendo *Chlorella vulgaris* la que dio mayor capacidad de remoción de nitritos, nitratos y fosfatos. Este antecedente es relevante debido a que aporta desde una investigación cercana en el contexto Colombiano, enfocada en la biorremediación con la microalga *Chlorella vulgaris* y una capacidad de remoción de los compuestos en estas aguas contaminadas de nitritos (87.2%), nitratos (88.24%) y fosfatos (90%), por lo que apoya la elección de este organismo para la disminución de carga contaminante en la cuenca media del Río Tunjuelo del Parque Ambiental Cantarrana.

En el Trabajo de Grado de Álvarez, D. y Botache, L. (2020) Biodegradación de plástico con larvas del coleóptero *Tenebrio molitor* como un aporte interdisciplinar a la biotecnología ambiental, realizado en Bogotá D.C. de la Universidad Pedagógica Nacional; tuvo como objetivo analizar el proceso de biodegradación de plástico a

partir de larvas de coleóptero *Tenebrio molitor* como aporte a la biotecnología ambiental mediante una guía práctica - virtual de laboratorio; para ello este trabajo utilizó el enfoque metodológico mixto equivalente de tipo paralelo simultáneo, el cuál se basa en combinar técnicas, métodos, aproximaciones, conceptos o lenguaje cuantitativo y cualitativo en un solo estudio; en sus conclusiones determinó que el ambiente donde se encuentran las larvas es importante pues de este depende su densidad poblacional, también determinó que los dos tipos de plástico, poliestireno y polietileno de baja densidad fueron biodegradados, pero el poliestireno presentó una mayor degradación, por otro lado, en cuanto a la guía práctica dio su importancia a su contenido y estructura la cual es clara y específica, además de ser motivante para los estudiantes. Por lo anterior, se destaca este antecedente en el trabajo debido a que utiliza guías prácticas de laboratorio para relacionar la investigación tanto biológica como pedagógica, además de tratar con organismos en la degradación de compuestos como es en este caso las larvas con el plástico.

En un trabajo de grado realizado por Piraquive, D. (2020) en Bogotá D.C. en la Universidad Pedagógica Nacional, llamado *Análisis del guano del murciélago *Carollia perspicillata* como biofertilizante de bosques perturbados*, presentó como objetivo la identificación del murciélago *Carollia perspicillata* en la Vereda el Castillo – La Palma, Cundinamarca, Colombia, su hábito alimenticio y la identificación de las bacterias nitrificantes y coliformes, además del análisis químico de nitrógeno y la realización de cinco guías prácticas de laboratorio, con el propósito de plantear una posible solución a la desaparición de corredores biológicos y reducción del hábitat; para ello utilizó una metodología, disciplinar con un componente pedagógico didáctico, el cual consistió en la identificación de *Carollia perspicillata* en época lluviosa y época seca, la identificación de su hábito alimenticio y el análisis e identificación del guano de *Carollia perspicillata*; obteniendo como conclusiones la identificación de *Carollia perspicillata*, su tipo de alimentación, además de la observación de mayor cantidad de bacterias nitrificantes y fijadoras de nitrógeno en épocas de lluvia, finalmente diseñó y elaboró cinco guías de laboratorio una en relación a la identificación del murciélago *Carollia perspicillata*, otra sobre crecimiento de *Phaseolus vulgaris* en dos tipos de sustratos, una tercera sobre el aislamiento e identificación de bacterias nitrificantes a partir del guano del murciélago *Carollia perspicillata*, una cuarta guía de aislamiento e identificación de bacterias coliformes fecales a partir del guano del murciélago *Carollia perspicillata*, y finalmente una guía sobre identificación de endoparásitos en el guano de *Carollia perspicillata*. Este antecedente se considera relevante ya que a partir de él se puede tener como referencia para el diseño y desarrollo de guías de laboratorio como estrategia didáctica.

## 5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A lo largo de la historia los ríos han sido la fuente de recursos hídricos para muchas ciudades, sin embargo, se les ha tratado como vertederos de residuos tanto sólidos como líquidos, estas aguas contaminadas ya sean industriales, agrícolas, lixiviados, domésticas, entre otras, que se vierten en el río, afectan a los organismos dentro de él y al mismo ecosistema que lo rodea; en el Parque Ambiental Cantarrana pasa el río Tunjuelo o como algunos autores lo llaman el río que se convirtió en cloaca, este río tiene un recorrido donde en todos sus transectos es afectado empezando en lo más alto con los fertilizantes químicos que por escurrimientos del suelo llega al río, luego están las aguas residuales domésticas donde paran en el cauce del río y más abajo el agua de las curtiembres; todo esto implica un gran impacto ambiental en el río Tunjuelo.

Entre los vertidos de aguas contaminadas que ocasionan daños al río Tunjuelo se encuentra uno en el Parque Ambiental Cantarrana, ubicado en la localidad de Usme, Bogotá D.C., debido a que los apartamentos que cuentan con un sistema de alcantarillado atraviesan el parque y dan a la cuenca media del río Tunjuelito, por lo que, todas las aguas residuales domésticas de los apartamentos son vertidas sin ningún tipo de tratamiento; cabe aclarar que estas aguas residuales domésticas, negras o jabonosas tienen un alto contenido de nitrógeno y fosfatos, entre otros componentes que disminuyen la calidad del agua del río Tunjuelo.

Por lo anterior, la biorremediación mediante el uso de *Chlorella vulgaris* puede resultar como alternativa a la bioabsorción de compuestos contaminantes como lo son los nitratos y fosfatos, ya que de acuerdo a la revisiones bibliográficas, estos compuestos son los que se encuentran en las aguas residuales domésticas siendo pertinentes para el desarrollo de la microalga, por ello se escogió a *Chlorella vulgaris* que podrá ser utilizada en bioensayos de laboratorio.

Por lo anterior, se plantea la siguiente pregunta problema:

¿Cuál es la capacidad de bioabsorción de nitratos y fosfatos de *Chlorella vulgaris* en aguas residuales domésticas del Parque Ambiental Cantarrana - Bogotá, para el diseño y desarrollo de Guías Prácticas de Laboratorio?

## 6. OBJETIVOS

### General

Determinar la capacidad de bioabsorción de nitratos y fosfatos con *Chlorella vulgaris* de las aguas residuales domésticas de la cuenca media del Río Tunjuelito del Parque Ambiental Cantarrana.

## Específicos

- ★ Caracterizar la calidad del agua de la cuenca media del Río Tunjuelito, con base en parámetros como nitrito, nitratos y fosfatos.
- ★ Determinar el potencial de bioabsorción de *Chlorella vulgaris* de los contaminantes nitratos y fosfatos.
- ★ Elaborar Guías Prácticas de Laboratorio sobre la bioabsorción de *Chlorella vulgaris* de contaminantes.

## 7. METODOLOGÍA

### 7.1 Paradigma y Enfoque

El presente trabajo tuvo en cuenta el referente positivista, ya que se caracteriza por ser racional, objetivo, se basa en lo observable, manipulable y verificable. En el paradigma positivista se encuentran, la formulación de hipótesis, su verificación y la predicción a partir de las mismas, la experimentación, el empleo de métodos cuantitativos y de técnicas estadísticas para el procesamiento de la información (Martinez, V. 2013). Además de tomar el conocimiento y concebir las prácticas empíricas como uno de los medios para entender el mundo mediante el pensamiento hipotético-deductivo (Ricoy, 2006).

Se tomó en cuenta el enfoque mixto para abarcar aspectos socio ambientales, el manejo de elementos cuantitativos y cualitativos posibilitando abarcar desde una perspectiva más amplia el problema, donde el investigador es el actor principal; por ello se tuvo en cuenta dos enfoques para el estudio, entre ellos se encuentra el modelo mixto que según Haumi, A. (2013) combinan la perspectiva cuantitativa (cuanti) y cualitativa (cuali) en un mismo estudio, con el objetivo de darle profundidad al análisis, por lo que hace que este tipo de enfoque tenga un mejor análisis de la información al implementar tanto los datos numéricos como las interpretaciones, de igual modo, todos los datos cuantitativos se basan en juicios cualitativos y cualquier dato cualitativo puede describirse y manipularse matemáticamente. Por otra parte, la interpretación de los datos es siempre cualitativa, así se tengan datos numéricos o estadísticos, y lo cualitativo no existe en esencia, en la medida en que la información recolectada igualmente debe ser categorizada de alguna manera para su interpretación (Páramo, P. y Otálvaro. G. 2006, p.4).

Por lo anterior, este enfoque fue importante debido a que desde la perspectiva cuantitativa soporta el análisis de resultados numéricos calculando la capacidad de bioabsorción de nitratos y fosfatos de *Chlorella vulgaris* en agua del río Tunjuelo y por otro lado, desde lo cualitativo ayuda en la realización de juicios como

valoraciones por medio de la observación, interpretación, comparación y deducción de los resultados para la resolución del problema, siendo este la contaminación del río Tunjuelo en el Parque Ambiental Cantarrana.

También se tuvo en cuenta, la investigación experimental, ya que según Alonso, A. et al (2010), este tipo de método está caracterizado por la manipulación de una o más variables de estudio, para controlar el aumento o disminución de esas variables y su observación, además esta consta de cinco fases: fase de planteamiento del problema, fase de la formulación de hipótesis, fase de realización de un diseño adecuado a la hipótesis, fase de toma y análisis de datos y por último la fase de conclusiones. En este proyecto se enfocó la parte experimental al observar la capacidad de bioabsorción de la *Chlorella vulgaris*, con agua de la cuenca media del río Tunjuelo del Parque Ambiental Cantarrana.

## **7.2 Área de estudio**

Para reconocer el área de estudio, se realizó un trabajo de campo en el Parque Ambiental Cantarrana, donde se tomó evidencia fotográfica, también se midió la temperatura, se identificó algunos organismos de la fauna y flora local, así como la medición de algunos parámetros fisicoquímicos del río Tunjuelo que pasa por el Parque, de igual manera se hizo observaciones de las instalaciones. Por otro lado, se realizó una revisión documental virtual en la cual indique algunas características del lugar como son las coordenadas, las hectáreas que abarca, las divisiones con las que está diseñado este espacio, la humedad, altitud, entre otros.

## **7.3 Recolección de las muestras**

Se recolectaron 3 muestras de agua de volúmenes de 1 L del río Tunjuelo ubicado en el Parque Ambiental Cantarrana, para la obtención de microalgas y posteriormente hacer las diluciones para aislar a *Chlorella vulgaris*; de igual modo con estas muestras se trabajó la cuantificación de nitritos, nitratos y fosfatos del río Tunjuelo y se realizó bioensayos de bioadsorción con *Chlorella vulgaris*.

Se realizó un muestreo aleatorio simple de suelo tomando 10 g de suelo en diferentes partes cerca al río Tunjuelo del Parque y se homogeneizó hasta obtener 100 g y se colocó en una bolsa negra para ser procesadas en el laboratorio de biotecnología, para poder realizar el aislamiento primario de microalgas.

## **7.4 Aislamiento de la microalga *Chlorella vulgaris***

### Aislamiento Primario a partir de muestras de agua

- 1) Se prepara el medio de cultivo bristol en líquido de composición g/L: 25 g NaNO<sub>3</sub>, 17.5 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2.5 g CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O, 7.5 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2.5 g NaCl, 7.5 g MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 3.1 g KOH, 5 g EDTA, 0.15 g FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 0.001 g NaMoO<sub>4</sub>, 0.0002 g CoCl<sub>2</sub>

6H<sub>2</sub>O, 0.001 g ZnSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 0.0002 g CuSO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O, en un erlenmeyer de 250 mL con 90 mL de este medio.

- 2) Se toman 10 mL de la muestra de 1 L obtenida del parque y se diluye con 90 mL de agua destilada esteril en un erlenmeyer de 250 mL, para luego realizar siembra mediante diluciones ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ) en erlenmeyers con medio de cultivo bristol en líquido. Este proceso se desarrolla por duplicado.

#### Aislamiento primario a partir de muestras de suelo

- 1) Se prepara el medio de cultivo bristol en líquido de composición g/L: 25 g NaNO<sub>3</sub>, 17.5 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2.5 g CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O, 7.5 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2.5 g NaCl, 7.5 g MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 3.1 g KOH, 5 g EDTA, 0.15 g FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 0.001 g NaMoO<sub>4</sub>, 0.0002 g CoCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O, 0.001 g ZnSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 0.0002 g CuSO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O, en un erlenmeyer de 250 mL con 90 mL de este medio.
- 2) Se toman 10 g de la muestra de 100 g de suelo obtenida del parque y se diluye con 90 mL de agua destilada esteril en un erlenmeyer de 250 mL, para luego realizar siembra mediante diluciones ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ) en erlenmeyers con medio de cultivo bristol en líquido. Este proceso se desarrolla por duplicado.

#### Aislamiento secundario

Para el aislamiento secundario una vez identificada *Chlorella vulgaris* se realizó una siembra en los medios de cultivo líquido de Bristol, para obtener un monocultivo de esta microalga.

### **7.5 Identificación la microalga *Chlorella vulgaris***

A partir de los aislamientos secundarios, se tomaron muestras para la realización de observaciones de la microalga en láminas con laminillas, en un aumento de 40x en el microscopio óptico; se toma un registro fotográfico y se procede a la identificación de la microalga *Chlorella vulgaris*, mediante caracterización morfológica por claves taxonómicas.

#### Clave morfológica 1

##### ALGAS VERDES

Células de color verde intenso, rodeadas de pared celular o no: ALGAS VERDES (y Euglena)

1. Organismos de vida aislada, no unidos en agrupaciones celulares.

1.2. Células inmóviles o con movimiento muy lento no producido por flagelos.

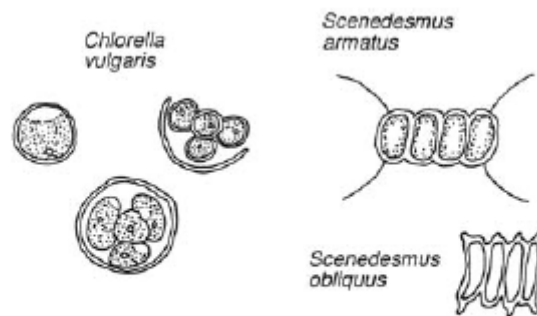
1.2.1. Células esféricas, con una marcada diferencia de tamaño Chlorococcum.

Bolivar, F. y Sanchez, P. (2017)



## Clave morfológica 2

1. Chlorellales: algas coloniales unicelulares o no filamentosas; células vegetativas inmóviles (Lee, R. 2008; pág. 191).
2. Chlorellales: en este orden están las algas que no tienen movilidad, talo vegetativo donde el talo comprende una sola célula o un cenobio compuesto de un número definido de células dispuestas de una manera específica. La reproducción asexual ocurre por zoosporas o aplanosporas que son comúnmente autosporas. Estas auto esporas son probablemente no más que células hijas del talo progenitor. La reproducción sexual puede ser isógama, anisógama, mous u oógamos. El orden es exclusivamente agua dulce (Lee, R. 2008; pág. 212).
3. Las células de *Chlorella* son esféricas con forma de copa. cloroplasto (Fig. 5.83). El único método de reproducción es por células hijas que se asemejan a las células madre. *Chlorella* a menudo forma intracelular simbiosis con invertebrados acuáticos y protozoos (como el paramecio) (Lee, R. 2008; pág. 213).



**Fig. 5.83** Drawing of *Chlorella vulgaris* (with autospores), *Scenedesmus armatus*, and *S. obliquus*.

Tomado de Lee, R. 2008

### **7.6 Cultivo celulares líquidos de *Chlorella vulgaris***

Una vez realizado el aislamiento secundario de la microalga, se dejó en crecimiento durante 7 días en un erlenmeyer de 250 mL con 100 mL de medio Bristol - líquido en condiciones de luz artificial blanca y temperatura ambiental, se realizó por triplicado.

### **7.7 Bioensayos**

Para la realización de los bioensayos, se contó con las muestras de agua contaminada, aguas residuales de origen doméstico del río Tunjuelo del Parque Ambiental Cantarrana, así como los cultivos celulares de *Chlorella vulgaris*. El experimento consta de 2 bioensayos, de los cuales uno es de control y el otro es el bioensayo de bioabsorción con las muestras de agua, el bioensayo de control cuenta con una réplica y los de absorción con cinco réplicas. A los 8 bioensayos se

les medirá los parámetros químicos de nitritos, nitratos y fosfatos, durante dos semanas, además se cuantifica el número de microalgas mediante la cámara de Neubauer. De igual modo, estos bioensayos se mantuvieron en condiciones de laboratorio óptimas con luz y temperatura ambiental. Por último, se elaboraron tablas, gráficas y análisis estadístico de los datos obtenidos.

1) Bioensayo de Control

En un erlenmeyer de 50 mL, se añade 50 mL de agua contaminada del río Tunjuelo.

2) Bioensayo de Absorción

En un erlenmeyer de 50 mL, se añade 45 mL de agua contaminada del río Tunjuelo, posteriormente se hace la medición de nitritos, nitratos y fosfatos con el kit Merck Hanna Instruments; para luego agregar 5 mL de cultivo de *Chlorella vulgaris*.

### 7.10. Diseño y elaboración de Guías Prácticas de Laboratorio

Se realizaron cuatro Guías Prácticas de Laboratorio, las cuales tenían en su interior una introducción que especifica el tema a tratar, así como los objetivos a alcanzar, los materiales que se deben tener para la realización del laboratorio y el paso a paso del procedimiento a seguir, el cual tiene un esquema gráfico para su mayor comprensión; por último se emplea un pequeño cuestionario para corroborar lo aprendido y reforzar algunos conceptos de la guía.

- ★ Preparación del Medio Bristol.
- ★ Recolección y aislamiento de la Microalga *Chlorella vulgaris*.
- ★ Identificación de la microalga *Chlorella vulgaris*.
- ★ Bioensayos de absorción de nitratos y fosfatos con *Chlorella vulgaris*.

### 7.11. Validación

Se socializó el trabajo realizado durante los dos semestres a los estudiantes de sistemas microbianos de tercer semestre; en el cuál se explicó la metodología que se tuvo para la bioabsorción de nitratos y fosfatos con la microalga *Chlorella vulgaris*; de tal modo se diseñaron cuatro guías prácticas de laboratorio; la primera explica la preparación del medio Bristol; en la segunda se dan las indicaciones para la recolección y aislamiento de la microalga *Chlorella vulgaris*; la tercera es para la identificación de la microalga *Chlorella vulgaris*; por último la cuarta guía contiene el procedimiento para los bioensayos de adsorción de nitratos y fosfatos con *Chlorella vulgaris*.

Por otro lado, teniendo en cuenta los tiempos y las implicaciones que conlleva la realización de toda las guías prácticas de laboratorio diseñadas, solo se probó la guía práctica de laboratorio número tres la cuál se titula identificación de la

microalga *Chlorella vulgaris*; teniendo en cuenta todo lo anterior se elaboraron unas preguntas para implementar a los estudiantes en consideración de lo que piensan sobre la eficiencia y desarrollo de habilidades de laboratorio que presenta estas guías para ellos.

## 8. RESULTADOS

### 8.1. Área de estudio

El Parque Ambiental Cantarrana, ver Figura 2, se encuentra ubicado en la localidad quinta de Usme situada en el sur de Bogotá, entre los barrios Monteblanco y Brazuelos, en las coordenadas N 4°30'12,829", W 74°07'24,245". Fue fundado en el año 2007 mediante el Artículo 76 del Decreto 619 del 2000, como consecuencia de una serie de medidas de gestión de riesgo por desbordamiento del Río Tunjuelo, abarcando una extensión de 100 hectáreas, el uso del parque está destinado a la reforestación, la recreación pasiva y la presa seca (Guzman, I. 2020).

Por otro lado, su ronda hidráulica fue dividida en tres zonas; la primera zona de manejo y preservación ambiental (ZMPA), está conformada para el espacio público, zonas verdes destinadas a actividades pedagógicas, recreativas y culturales, cuenta con ciclorrutas, pista de patinaje, teatrino, miradores ambientales, senderos ecológicos, caminos de piedra, área administrativa, biblioteca ambiental, ludoteca, sala de internet, auditorio y el vivero Pachamama; la zona de ronda es la zona inundable o de amortiguación de las crecientes del río Tunjuelo y la tercera zona es la de acceso restringido, la cuál es la presa seca, el rebosadero, bocatoma y el muro de contención de 70 metros de altura (Acueducto de Bogotá, 2021).



Figura 2. Parque Ambiental Cantarrana, Usme - Bogotá. Tomado de Acueducto de Bogotá

Su altitud oscila entre 2600 y 3000 msnm, hace parte de la formación Tunjuelo y un valle tectónico limitado por la falla del río Tunjuelo (Occidente), la falla de Bogotá y

la falla de Piedra La Bala (Oriente); se caracteriza por sus grandes cantos rodados, gravilla, arena, gravas, limo y arcilla, debido a que antes era fuente de explotación de canteras; la precipitación oscila entre 900 mm a 1000 mm, por ello se considera una zona moderadamente húmeda y la temperatura oscilar entre 12°C a 15°C (IDEAM, 2002).

Por otro lado, el Parque Ambiental Cantarrana ver, Figura 3 presenta una flora de matorrales subxerofítico andino y bosque alto andino, también cuenta con cactus, suculentas y especies pertenecientes a la familia Eicaceae y Melastomataceae; en cuanto a la diversidad faunística, se destaca artrópodos, reptiles como lagartos, anfibios y aves como la Gruiformes, Ciconiformes, Anseriformes, Falconiformes, entre otras; se reporta 13 especies de reptiles, 38 especies de anfibios, 268 especies de aves, 7 especies de mamíferos (López, Y. y Pianda D. 2019).



Figura 3. Parque Ambiental Cantarrana, vista aérea. Usme - Bogotá. Tomado de Acueducto de Bogotá

## 8.2. Recolección de las muestras

En primer momento se tomó una muestra de 1 L de agua del río Tunjuelo, para los aislamientos primarios de microalgas, para ello se recolectaron tanto muestras de agua como de suelo siendo esta última metida en una bolsa negra; ambas muestras fueron conservadas en nevera hasta su utilización ver Figura 4.

Posteriormente, se recolectaron dos muestras de agua de la cuenca media del Río Tunjuelito, en el Parque Ambiental Cantarrana este procedimiento se realizó con 'dos botellas plásticas y los elementos de bioseguridad necesarios (ver figura 5), se dejaron en nevera a 4 °C con el fin de conservar las muestras y poder medir los niveles de nitritos, nitratos y fosfatos.



**Figura 4.** Recolección de muestra de agua para aislamiento primario de microalgas. Usme - Bogotá. Tomado por García, V. (2022)



**Figura 5.** Recolección de muestra de agua de la cuenca media del Río Tunjuelito para la realización de los bioensayos. Usme - Bogotá. Tomado por García, S. (2023)

Por otro lado, durante la recolección de muestras se realizó un reconocimiento del Parque Ambiental Cantarrana y se midió la temperatura del lugar, dando 28,9 °C ver Figura 6 y 7.



**Figura 6.** Medición de temperatura del Parque Ambiental Cantarrana. Usme - Bogotá. Tomado por García, S. (2023)



**Figura 7.** Cuenca media del Río Tunjuelito, lugar en donde se tomaron todas las muestras. Usme - Bogotá. Tomado por García, S. (2023)

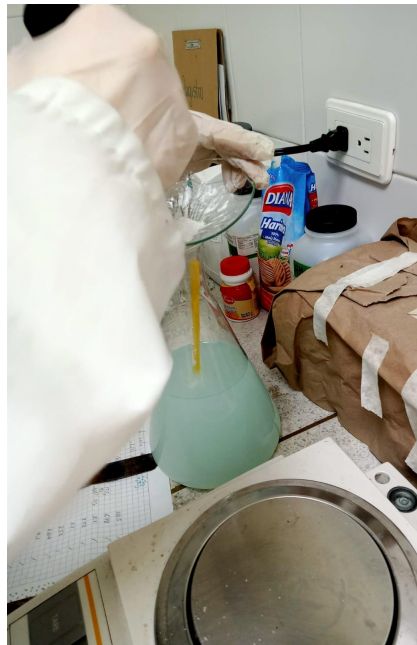
### **8.3. Aislamiento de la microalga *Chlorella vulgaris***

#### **Preparación medio de cultivo Bristol.**

Para la realización de los aislamientos se preparó 720 mL de medio bristol, el cuál se dividió en los 8 erlenmeyers de 250 mL.

Las sales son pesadas por medio de una balanza de laboratorio y posteriormente agregadas al agua esterilizada en el erlenmeyer, ver figura 8.

Terminado el proceso se procede a colocar el medio bristol en el autoclave para su esterilización.



**Figura 8.** Preparación de medio Bristol. Laboratorio Biología. Tomado por Ortiz, M. (2022)

### Aislamiento primario a partir de muestras de agua

Después de haber realizado las diluciones seriadas ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ) de la muestra de agua, se observaba el crecimiento de la microalga cada 7 días, ver figura 9.

Después de un tiempo al no ver cambios a simple vista, se tomaron muestras para analizar en el microscopio dando como resultado:

Dilución  $10^{-1}$ , Mayor concentración de *Chlorella vulgaris*  
Dilución  $10^{-2}$ , Mediana concentración de *Chlorella vulgaris*  
Dilución  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$  Menor concentración de *Chlorella vulgaris*

Posteriormente a los 3 meses, los cultivos presentan una menor cantidad de microalga.

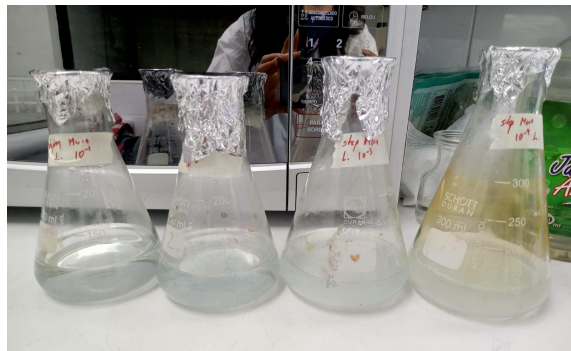


Figura 9. Aislamiento primario a partir de muestras de agua. Laboratorio Biología. Tomado por García. S. (2022)

### Aislamiento primario a partir de muestras de suelo

Después de haber realizado las diluciones seriadas ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ) de la muestra de suelo, se observaba el crecimiento de la microalga cada 7 días, ver figura 10.

Después de un tiempo al no ver cambios a simple vista, se tomaron muestras para analizar en el microscopio dando como resultado:

Dilución  $10^{-4}$ , Mayor concentración de *Chlorella vulgaris*  
Dilución  $10^{-2}$ , Mediana concentración de *Chlorella vulgaris*  
Dilución  $10^{-3}$ , No se encuentra *Chlorella vulgaris*

Posteriormente a los 3 meses, los cultivos presentan una menor cantidad de la microalga.



Figura 10. Aislamiento primario a partir de muestras de suelo. Laboratorio Biología. Tomado por García. S. (2022)

### Aislamiento secundario

Después de conocer los erlenmeyers con mayor concentración de *Chlorella vulgaris*, se tomaron muestras de ellos y se realizó la siembra en los tubos de ensayos con medio Bristol líquido, obteniendo un monocultivo de esta microalga ver Figura 11.

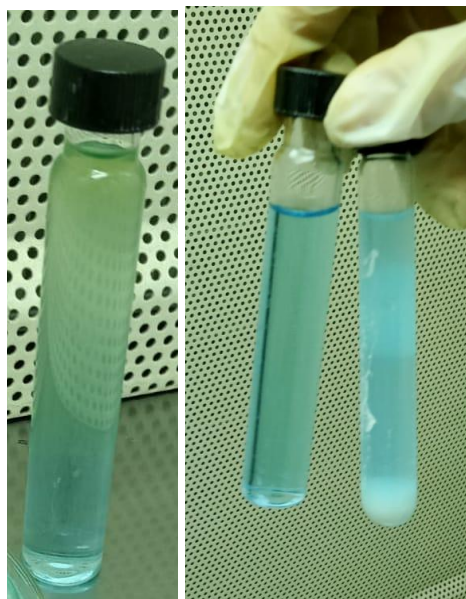


Figura 11. Aislamiento secundario de *Chlorella vulgaris* en medio Bristol líquido.

### **8.4. Identificación la microalga *Chlorella vulgaris***

Al tomar la muestra de los aislamientos, se pudo observar la microalga en un aumento de 40x en el microscopio; identificando a *Chlorella vulgaris* mediante su caracterización morfológica por las claves taxonómicas.

Se puede observar en el microscopio que esta microalga es solitaria y no forma colonia, es una célula de color verde intenso rodeada de una pared celular, su morfología es completamente esférica y no presenta movilidad, ver Figura 12.



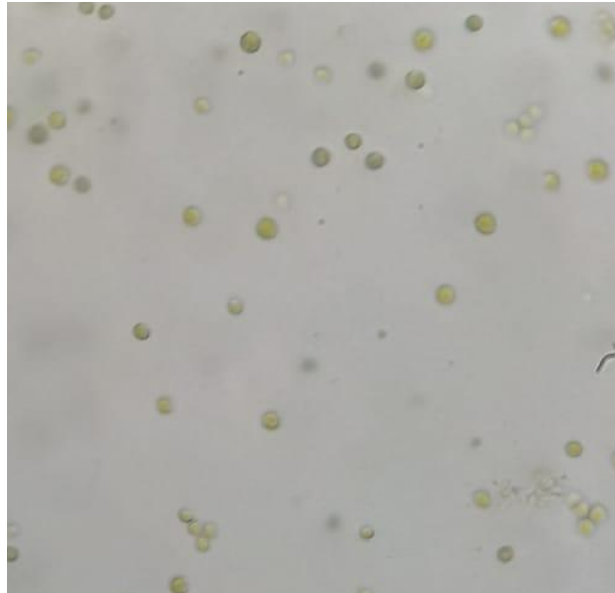


Figura 12. *Chlorella vulgaris*. Observación al microscopio en 40x. Tomado por Ortiz, M. (2022)

### 8.5. Cultivo celulares líquidos de *Chlorella vulgaris*

Posteriormente se pasó el aislamiento secundario a los erlenmeyers, dejándolos crecer a una frecuencia de luz de 12 horas y agitación manual una vez al día; al cabo de una semana ya se veía el crecimiento de la microalga en medio Bristol líquido ver Figura 13.

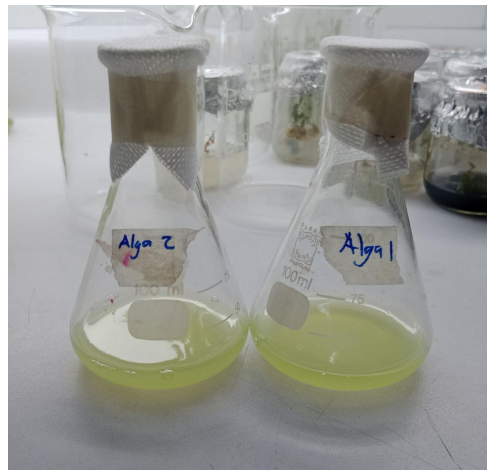


Figura 13. Cultivo celular líquido de *Chlorella vulgaris*.

### 8.6. Bioensayos

#### Preparación

Para la preparación del material utilizado en los bioensayos se llevaron seis erlenmeyers de 50 mL y dos pipetas esterilizadas mediante autoclave, una vez el material estaba esterilizado se procedió a realizar los bioensayos en la cámara de

flujo laminar, siendo el primer bioensayo el de control, en donde se colocaron 50 mL de la muestra de agua de la cuenca media del Río Tunjuelo, ver Figura 14.



Figura 14. Muestra de agua de la cuenca media del Río Tunjuelo

Posteriormente se tomaron seis erlenmeyers y se les colocó a cada uno 45 mL de muestra de agua de la cuenca media del Río Tunjuelo, luego se le agregó a cada erlenmeyers 5 mL de la muestra de *Chlorella vulgaris*, se taparon con gasa y se marcaron debidamente, ver Figura 15.



Figura 15. Procedimiento de los bioensayos, en donde se agregaron 45 mL de muestra de agua del Río Tunjuelo y 5 mL de *Chlorella Vulgaris* en los erlenmeyers.

### Primera medición de nitritos, nitratos y fosfatos.

Una vez el material de los bioensayos estaba preparado se procedió a medir de la muestra de control los nitritos, nitratos y fosfatos con el kit merck, ver Figura 16. Dando como resultado, 0 mg/L de nitritos, 44.3 mg/l de nitratos y 5 mg/L de fosfatos, ver Tabla 1.

**Tabla 1. Muestra control del agua del Río Tunjuelo ~ Parque Ambiental Cantarrana**

Muestras	Nitritos	Nitratos	Fosfatos
Control	0 mg/L	44.3 mg/L	5 mg/L

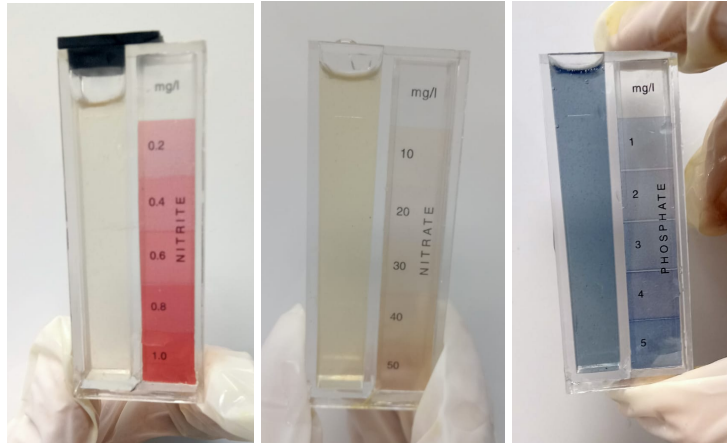


Figura 16. Muestra control de nitritos, nitratos y fosfatos.

Segunda medición de nitritos, nitratos y fosfatos.

A los 15 días se realizó la medición de nitritos, nitratos y fosfatos en 4 de los 8 bioensayos, debido a la cantidad de material disponible; ver Figura 17.

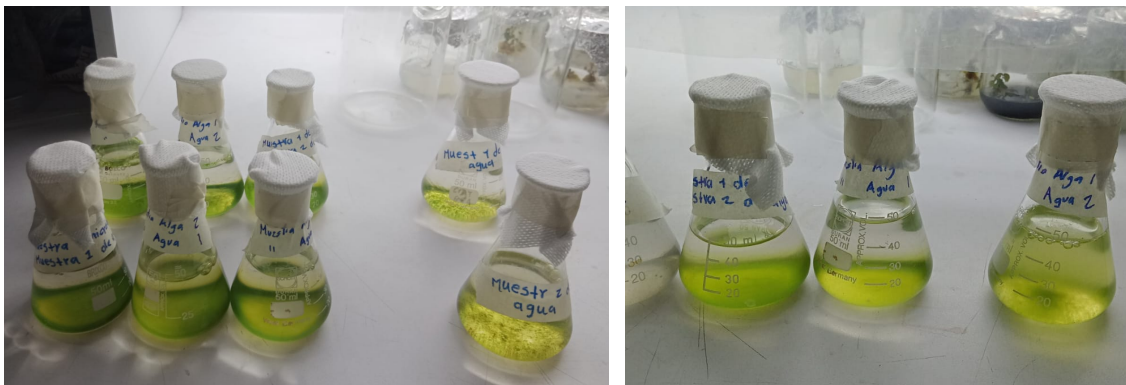


Figura 17. Total de bioensayos con sus réplicas / Bioensayos a los cuales se les hizo la medición.

Al medir la muestra control del río Tunjuelo, del Parque Ambiental Cantarrana los nitritos, nitratos y fosfatos con el kit merck, dio como resultado, 0 mg/L de nitritos, 44.3 mg/l de nitratos y 5 mg/L de fosfatos, ver Figura 20.

Al medir los bioensayos de absorción de nitritos, nitratos y fosfatos con el kit merck, ver Figura 21, 22 y 23 se realizó por triplicado y se promedió, los resultados se ven en la Tabla 2 y Figura 18 y 19.

Tabla 2. Resultados de la bioabsorción de *Chlorella vulgaris* de nitritos, nitratos y fosfatos.

Muestras	Nitritos	Nitratos	Fosfatos
Control	0 mg/L	44.3 mg/L	5 mg/L
Bioensayo promedio* - n=3	2.19 mg/L	0 mg/L	1.66 mg/L



Figura 18. Resultados de la bioabsorción de *Chlorella vulgaris* de nitritos, nitratos y fosfatos.

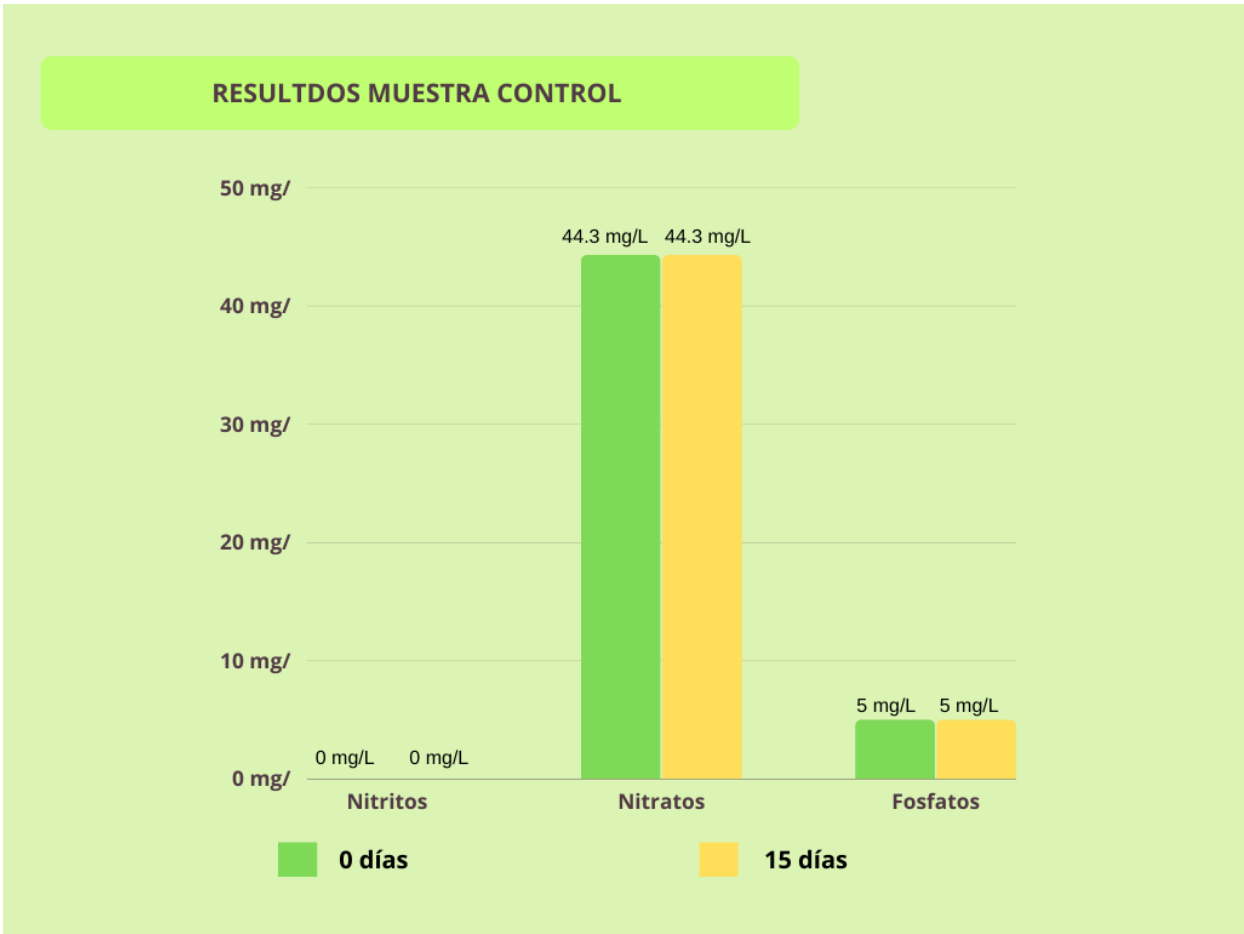


Figura 19. Resultados de la muestra control del agua del Río Tunjuelo a los 0 días y a los 15 días después.

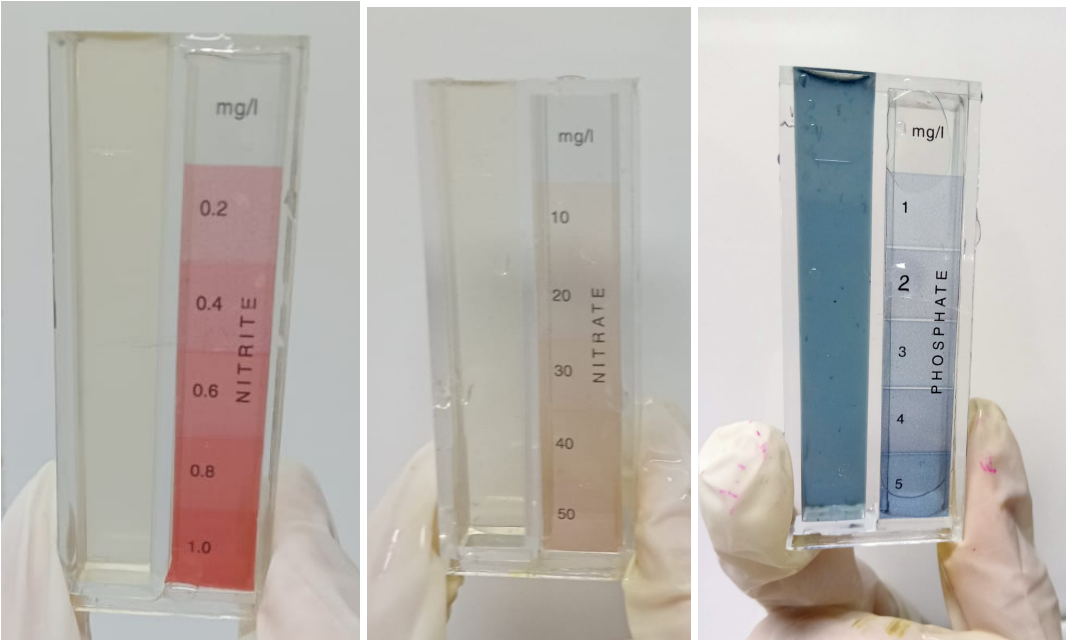


Figura 20. Muestra control de nitritos, nitratos y fosfatos.

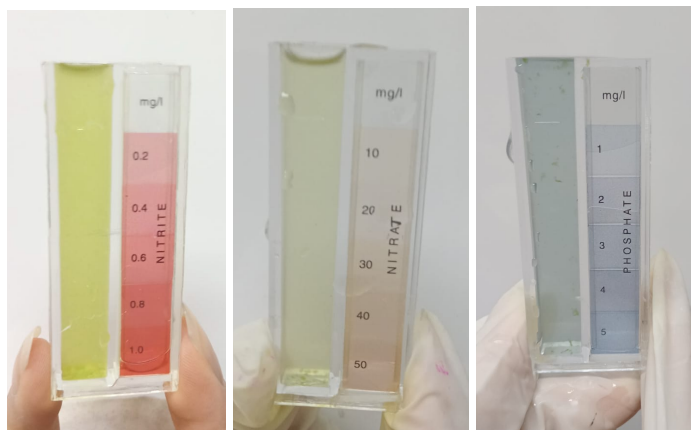


Figura 21. Bioensayo de absorción, medición de nitritos, nitratos y fosfatos.

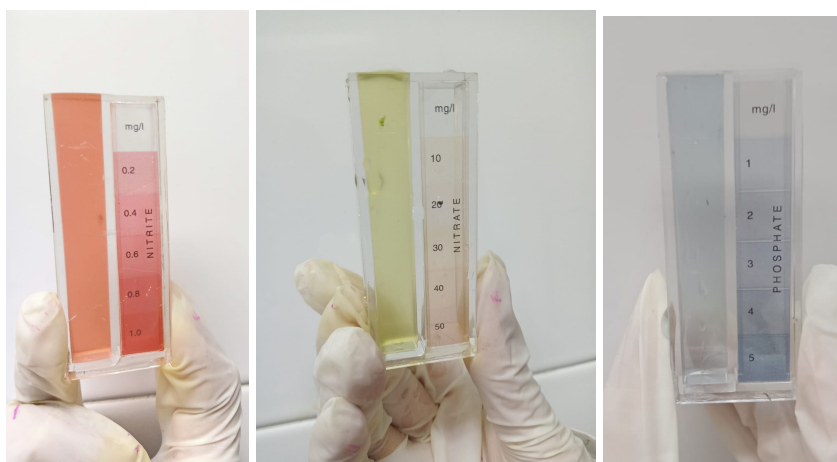


Figura 22. Réplica 1, medición de nitritos, nitratos y fosfatos.

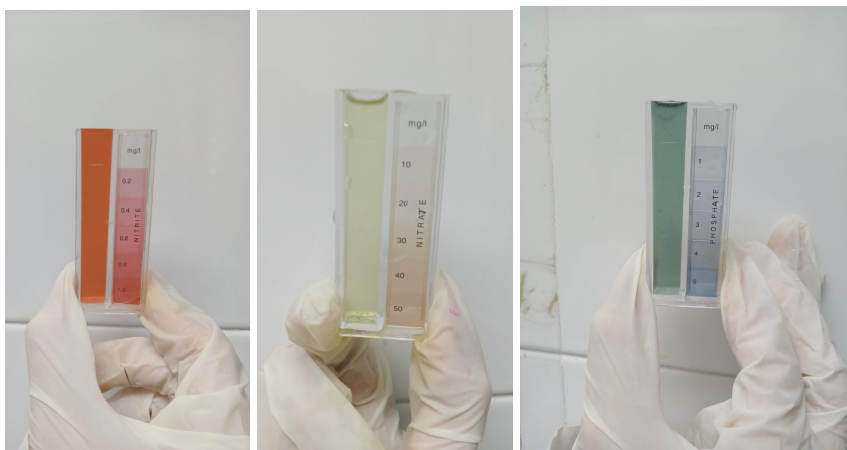


Figura 23. Réplica 2, medición de nitritos, nitratos y fosfatos.

★ En el estudio realizado en Lima, Perú por Oscanoa, A; Cervantes, M; Flores, L. y Ruiz, A. (2021) Evaluación del potencial de *Desmodesmus asymmetricus* y *Chlorella vulgaris* para la remoción de nitratos y fosfatos de aguas residuales; se pudo observa que las mayores eficiencias de remoción de nitrógeno y fosfatos se obtuvieron con mayor proporción de *Demodesmus asymmetricus*, entre ellos sobresalió el tratamiento T3 25% *Chlorella vulgaris* y 75% *Demodesmus asymmetricus* donde se removi6 el 100% de nitr6geno y

77.1% de fosfatos, también determinaron que la mezcla óptima de microalgas que logra la mayor remoción, fue la proporción de 6% de *C. vulgaris* y 94% de *D. asymmetricus* en un tiempo de cultivo de 9 días; para el caso del presente estudio se pudo comprobar que *Chlorella vulgaris* en 15 días obtuvo una remoción del 100% de nitratos y 66.8% de fosfatos, comprobando que esta microalga en cultivo puro, puede remover los compuestos químicos de las aguas residuales domésticas.

- ★ En el trabajo realizado en México por Aragón, L. et al (2017) Tratamiento de aguas residuales domésticas empleando *Chlorella vulgaris* en un biorreactor airlift, tuvo como resultado la remoción en aumentó en función al tiempo de tratamiento, dando una eficiencia de remoción de los distintos componentes presentes en el agua residual por *Chlorella vulgaris* siendo 27.45% para nitratos y 54.22% para fosfato en un tiempo final de 48 horas; se puede observar que a mayor tiempo, se obtiene una mayor bioabsorción de nitratos y fosfatos, es por ello que en nuestro trabajo al transcurrir 15 días se obtuvo una remoción del 100% de nitratos y 66.8% de fosfatos.
  
- ★ En el estudio realizado por Álvarez, T; Enrique, J y Palencia, E. (2015) Tratamiento de aguas residuales *in vitro* por medio de la microalga *Chlorella sp.* en el municipio de Barrancabermeja, Colombia, se concluyó que el agua residual es un medio que brindaba las condiciones necesarias para el crecimiento y desarrollo de *Chlorella sp.*, además alcanzó un 83,8% y 87,0% de efectividad en remoción de nitratos y fosfatos. Con relación al presente trabajo se puede confirmar que las aguas residuales son un medio adecuado para el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* y de igual modo tiene la capacidad de quitar el 100% de nitratos y 66.8% de fosfatos.
  
- ★ En la Universidad de Medellín se realizó el trabajo Ensayos de bioestimulación algal con diferentes relaciones nitrógeno : fósforo, bajo condiciones de laboratorio por Aguirre, N. Palacio, J. Correa, I. y Hernández, E. (2007), obtuvieron que el crecimiento de *Chlorella vulgaris* es dependiente de la relación entre el nitrógeno y el fosfato. En cuanto a nuestro trabajo, al observar los bioensayos en la cámara de Neubauer, se evidencia que se mantuvo casi igual el número de microalgas de  $15 \times 10^6$  células / mL a  $12 \times 10^6$  células / mL, cuando se encuentra en las aguas residuales domésticas donde hay presencia de nitratos y fosfatos.
  
- ★ En la Universidad Libre de Colombia, un trabajo realizado por Ortiz, M; Romero, M. y Meza, L. (2018) La biorremediación con microalgas (*Spirulina máxima*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*) como alternativa para tratar la eutrofización de la laguna de Ubaque, Colombia, concluyeron que la biorremediación con *Chlorella vulgaris* fue la más efectiva, con una capacidad

de remoción de los compuestos de nitritos (87.2%), nitratos (88.24%) y fosfatos (90%) en las aguas contaminadas de la laguna de Ubaque; sin embargo, en el presente trabajo se observó que al inicio no existía una cantidad de nitritos en la muestra de agua doméstica del tramo escogido del Río Tunjuelo, pero cuando se llevaron a cabo los bioensayos con la *Chlorella vulgaris*, se observó una producción de 2.19 mg/L de nitritos en 15 días, en cambio se verificó que los nitratos y fosfatos se removieron con un porcentaje de 100% y 66.8%, siendo proporcional al antecedente.

- ★ Se puede observar el cambio de nitratos a nitritos, en los bioensayos realizados, esto se debe al ciclo del nitrógeno, ya que los nitritos se sintetizan durante la biodegradación de nitratos, nitrógeno amoniacal u otros compuestos orgánicos nitrogenados (Molina, E. et al, 2003).

#### Cuantificación del número de microalgas mediante la cámara de Neubauer.

Primero se realizó el conteo de *Chlorella vulgaris* en el Medio Bristol, ver Figura 24 el cual dio el número de microalgas iniciales; posteriormente a los 15 días de haber realizado los bioensayos se volvió a cuantificar el número de microalgas, ver Figura 25, este procedimiento se realizó por triplicado por lo cual se promedió y se organizó ver Tabla 3.

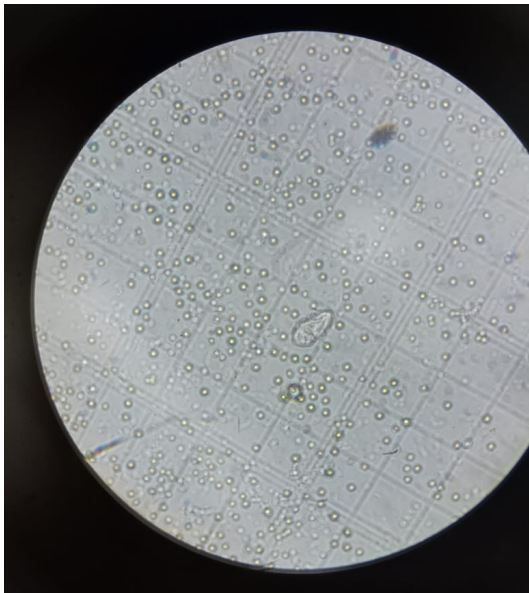


Figura 24. Conteo celular de *Chlorella vulgaris* Control

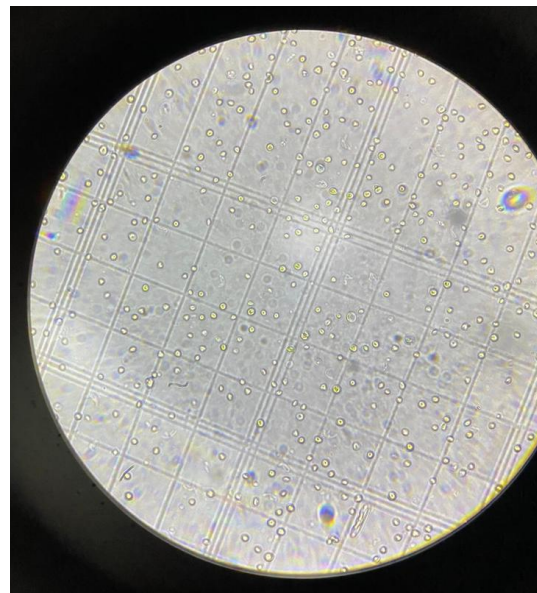


Figura 25. Conteo celular de *Chlorella vulgaris* Bioensayo



Tabla 3. Conteo celular de *Chlorella vulgaris*

Bioensayos	Número de <i>Chlorella vulgaris</i>
Control promedio* - n=3	$15 \times 10^6$ células / mL
A los 15 días promedio* - n=3	$12 \times 10^6$ células / mL

- ★ Se puede analizar que el número de *Chlorella vulgaris* en el medio Bristol  $15 \times 10^6$  células/mL al bioensayo  $12 \times 10^6$  células/mL, tuvo una baja disminución de microalgas.
- ★ La disminución de células de *Chlorella vulgaris* en el Bioensayo, puede deberse a que en los 15 días había absorbido por completo los nitratos y el 66.8% de los fosfatos, por lo tanto, sus nutrientes estaban siendo agotados llevando a la disminución de su crecimiento de la microalga. Según Hernandez, A y Labbe, J (2014) El nitrógeno es el nutriente más importante para las microalgas, se incorpora como nitrato ( $\text{NO}_3$ ) convirtiéndose en un factor limitante del crecimiento, reduciendo la producción de microalgas. Igualmente, el fosfato es fundamental en muchos procesos celulares y su deficiencia en el medio de cultivo es una de las mayores limitaciones del crecimiento.

### 8.7. Diseño y Elaboración de Guías Prácticas de Laboratorio

Cada una de las cuatro guías práctica de laboratorio contiene una introducción en donde se abordan conceptos y elementos relevantes que permiten dar a la guía práctica de laboratorio bases para el posterior procedimiento, luego a esto se presentan tres objetivos que se pretenden alcanzar con la guía así como los materiales que se requieren para realización de la práctica, adicional a esto encontramos el procedimiento detallado a realizar y un diagrama que permite dar una explicación visual más clara del proceso y finalmente encontramos un cuestionario en donde se presentan preguntas de tipo procedimental y conceptual, permitiendo de esta manera dar cuenta de lo aprendido en la guía práctica de laboratorio. Se realizaron cuatro guías prácticas de laboratorio, ver anexo 1, las cuales llevan por nombre:

- ★ Guía práctica de laboratorio I: Preparación del Medio Bristol.  
La cual está enfocada en como se debe realizar la preparación del Medio Bristol, así como la explicación de que es un medio, para qué sirve y sus compuestos; a su vez, explica los requerimientos nutricionales que tienen las microalgas para su crecimiento. Por último se espera lograr los objetivos que se plantean en la guía práctica de laboratorio al terminar su abordaje.

# Preparación del Medio Bristol

Stephany García y María Ortiz

## Introducción

### Los medios de cultivo de microalgas

Son una dilución acuosa que contiene los nutrientes inorgánicos que necesitan las microalgas para su crecimiento. El suministro de medio de cultivo y las concentraciones de los nutrientes deben estar relacionados con la producción de biomasa de manera que se tenga la cantidad suficiente para que nunca se genere una limitación que lleve a la disminución en la productividad de biomasa o incluso alguna disfunción del cultivo como la fotoinhibición.

### Principales nutrientes necesarios para el cultivo de un alga son:

- **Agua:** Es un nutriente que suministra electrones ( $H^-$ ) necesarios para la reducción del  $CO_2$ , además funciona como transporte.
- **Carbono:** normalmente suministrado aparte como  $CO_2$ .
- **Oxígeno:** suministrado tanto por el  $H_2O$  como por el  $CO_2$ .
- **Nitrógeno:** este es muy importante ya que forma parte de las proteínas y nucleótidos de la biomasa. Suministrado como  $NO_3^-$  o  $NH_4^+$ .
- **Fósforo:** suministrado como fosfato, forma parte de importantes intermedios metabólicos, lípidos, enzimas y multitud de especies bioquímicas.

Por otro lado, es importante tener en cuenta que existe una gran cantidad de otros nutrientes que se requieren para la especie. Según la cantidad en la que se necesiten se suelen clasificar como macronutrientes o micronutrientes.

**Macronutrientes:** Estas son sales como el cloruro de sodio y magnesio, sulfatos y sales de calcio. Pueden aparecer en concentraciones de hasta 30 g/L cuando se trata de especies marinas y hasta de 100 g/L en microalgas halófilas. Estos macronutrientes no se consumen en la generación de biomasa o se incorporan en muy pequeña medida. Su objetivo principal es mantener la presión osmótica y el equilibrio de electrolitos.

**Micronutrientes:** Son elementos que actúan como cofactores de enzimas y aparecen en muy pequeñas cantidades. Si se ponen en exceso pueden tener una función de toxicidad, como es el caso del cobre, que es un conocido alguicida.

## Objetivos

- ★ Realizar la preparación del medio de cultivo bristol.
- ★ Adquirir habilidades en la elaboración de medios de cultivo.
- ★ Fortalecer actividades en cuanto al manejo de instrumentos y reactivos de laboratorio.

Figura 26. Portada de la primera guía práctica de laboratorio.

## ★ Guía práctica de laboratorio II: Recolección y aislamiento de la Microalga *Chlorella vulgaris*.

En esta guía se encuentra la importancia y cuidado que se debe tener al realizar la recolección de muestras tanto de agua como de suelo, para conservar lo máximo posible las propiedades de estas muestras; de igual modo, se aclara lo que es un cultivo mixto y un cultivo puro, por lo que también se da el concepto y procedimiento de las diluciones para el aislamiento de los microorganismos; así mismo la guía cuenta con una breve introducción sobre medios de cultivos los materiales que se emplean para la preparación de los mismos y los tipos de cultivos que pueden haber para el desarrollo de microalgas como son el enriquecimiento del agua de mar natural hasta el uso de medios de cultivos enriquecidos.

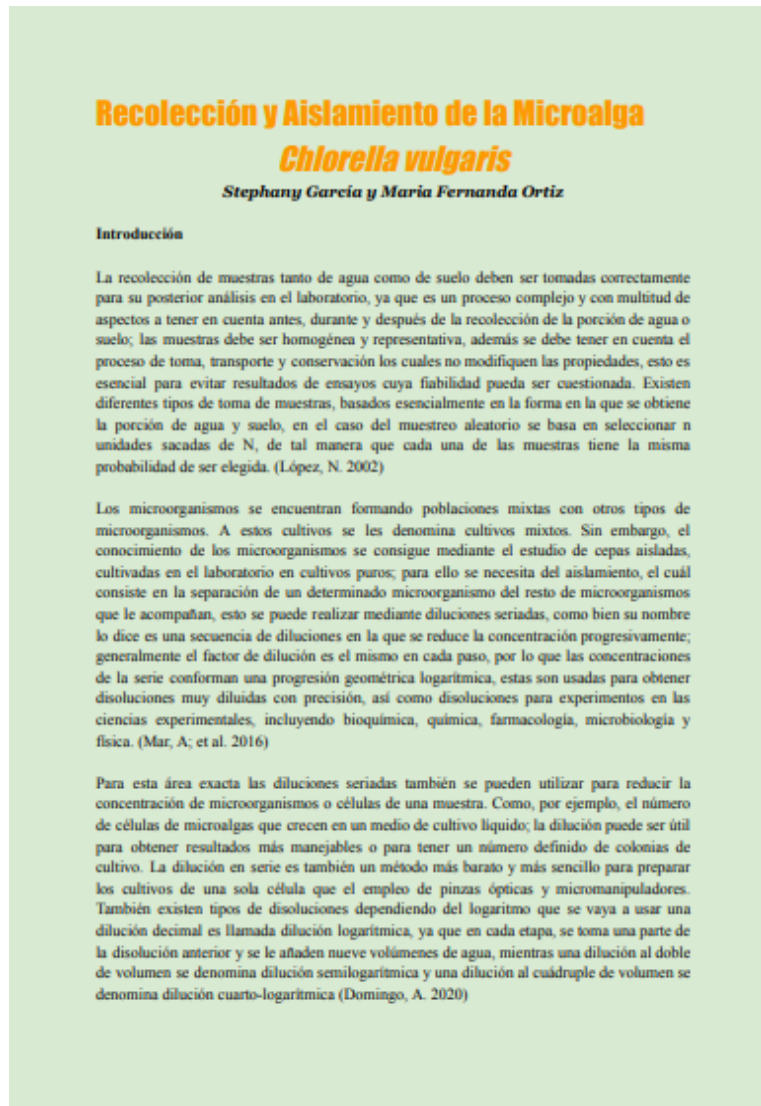


Figura 27. Portada de la segunda guía práctica de laboratorio

★ Guía práctica de laboratorio III: Identificación de la microalga *Chlorella vulgaris*.

Para esta tercera guía se habla de las dos formas en las cuales se puede realizar la identificación de *Chlorella vulgaris*, siendo una de ellas la identificación molecular y la otra forma mediante identificación morfológica, la primera forma mencionada es más precisa en la identificación ya que se utilizan secuencias de genoma ribosomal 18S de ADN, para la segunda forma de identificación se utilizan claves morfológicas, en las cuales se tienen en cuenta aspectos morfológicos como el color, movilidad, forma, entre otros; adicional la guía menciona las características de *Chlorella vulgaris* y su taxonomía.



Figura 28. Portada de la tercera guía práctica de laboratorio.

★ Guía práctica de laboratorio IV: Bioensayos de absorción de nitratos y fosfatos con *Chlorella vulgaris*.

En la última guía práctica de laboratorio se menciona que los bioensayos son una herramienta útil que permite determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales, por otro lado se habla de los elementos a identificar antes de realizar los bioensayos los cuales son: la sustancia que será evaluada, el sustrato que será utilizado, el organismo en el que se probará y finalmente qué tipo de respuesta podría ser detectada.

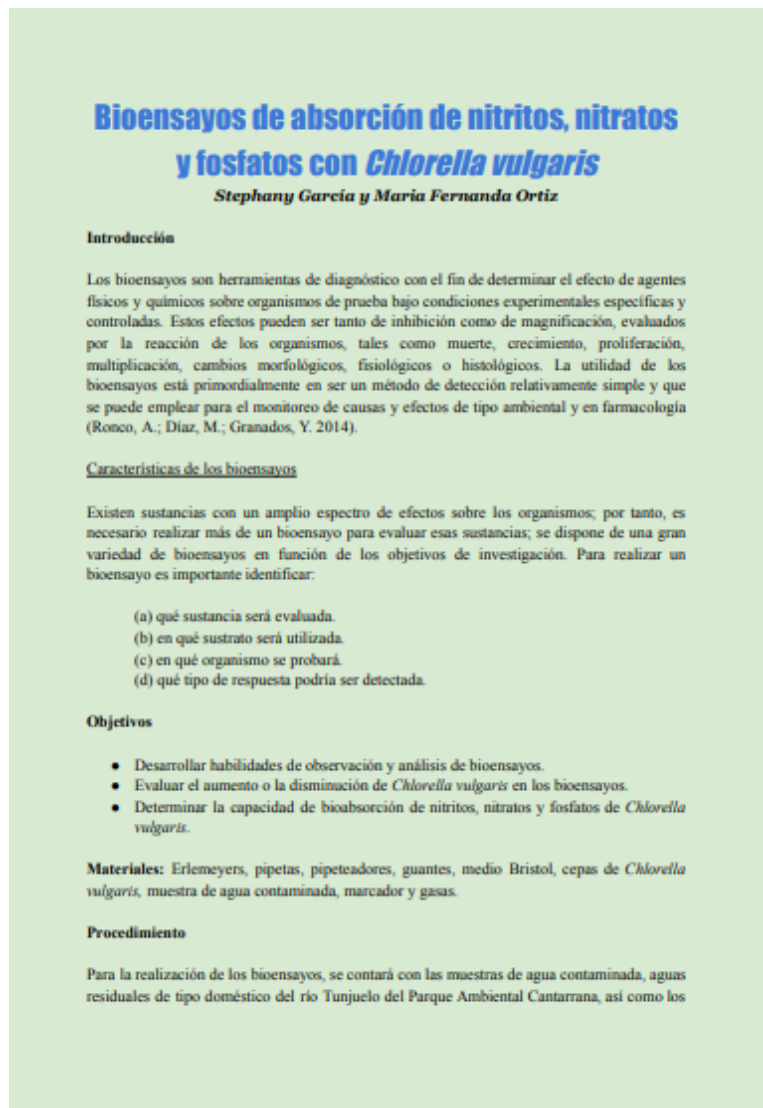


Figura 29. Portada de la cuarta guía práctica de laboratorio.

## 8.8. Validación Guías Prácticas de Laboratorio

Con los estudiantes de tercer semestre de grupo 1 de sistemas microbianos de la Universidad Pedagógica Nacional, se dio a conocer las guías prácticas que surgieron a partir del Trabajo de Grado; posterior a esto se les solicitó a los estudiantes que realizarán una encuesta con siete preguntas y una respuesta abierta a sus opiniones que permitieran dar elementos importantes a la validación de las guías prácticas de laboratorio, con ello se realizó la guía práctica de laboratorio III: Identificación de la microalga *Chlorella vulgaris* y la encuesta respectiva ver anexo 2, la cual fue de manera virtual mediante la plataforma Teams ver Figura 30.

### Validación Guías Prácticas de Laboratorio

Mediante este cuestionario se pretende validar las guías prácticas de laboratorio que fueron diseñadas en el Trabajo de Grado "Bioabsorción de nitritos, nitratos y fosfatos con *Chlorella vulgaris* a partir de aguas residuales domésticas del Parque Ambiental Cantarrana - Bogotá"; la cuál pretende analizar distintos aspectos como lo son el uso y claridad del vocabulario, la utilidad para la realización de bioensayos con *Chlorella vulgaris*, la claridad de los diagramas presentes en las guías prácticas de laboratorio, entre otros aspectos relevantes.

**\*Obligatorio**

Nombre completo \*

Tu respuesta

¿Los diagramas explicativos de las guías proporcionan suficientes indicaciones del procedimiento? \*

Sí

No

¿Las guías permiten poner en práctica el desarrollo de habilidades y destrezas en el laboratorio? \*

Sí

No

Figura 30. Encuesta realizada al grupo 1 de sistemas microbianos

Los 16 estudiantes del grupo 1 de sistemas microbianos que contestaron la encuesta, como resultado de la primera pregunta del cuestionario se obtuvo que el 100% indicaron afirmativamente que los diagramas presentes en las guías proporcionaba las indicación suficientes de los procedimientos a realizar, ver Figura 31.



Figura 31. Resultados de la primera pregunta del cuestionario de validación de las guías prácticas de laboratorio.

Para la segunda pregunta se obtuvo que el 100% de los estudiantes consideran que las guías prácticas de laboratorio, permiten el desarrollo de habilidades y destrezas, ver Figura 32

¿Las guías permiten poner en práctica el desarrollo de habilidades y destrezas en el laboratorio?

16 respuestas

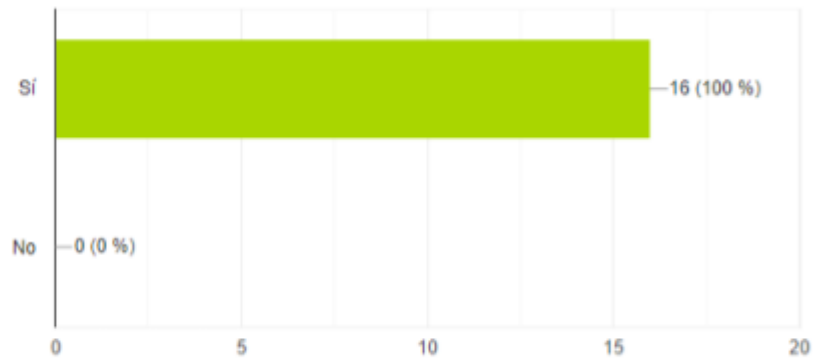


Figura 32. Resultados de la segunda pregunta del cuestionario de validación de las guías prácticas de laboratorio.

Para la tercera pregunta el 100% de los estudiantes afirmaron que los objetivos plasmados en las guías prácticas de laboratorio eran coherentes con el resto del desarrollo de las guías, ver Figura 33.

¿Los objetivos de las guías prácticas de laboratorio son coherentes con la información y procedimientos plasmados en las guías?

16 respuestas

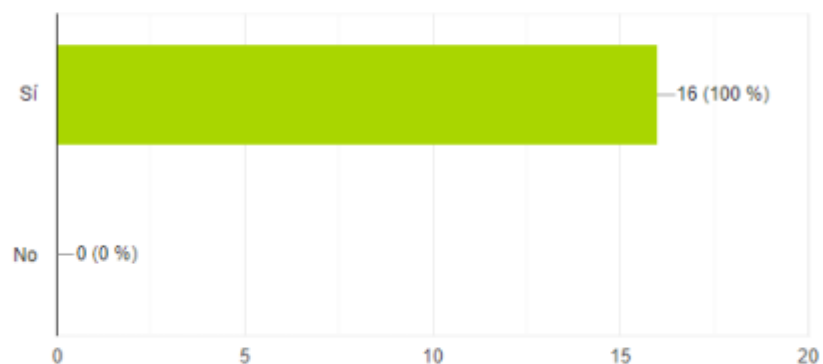


Figura 33. Resultados de la tercera pregunta del cuestionario de validación de las guías prácticas de laboratorio.

Para la cuarta pregunta del cuestionario, el 100% de los estudiantes indicaron que el diseño de las guías era entendible y adecuado, ver Figura 34.

¿El diseño de la guía práctica de laboratorio es adecuado y entendible?

16 respuestas

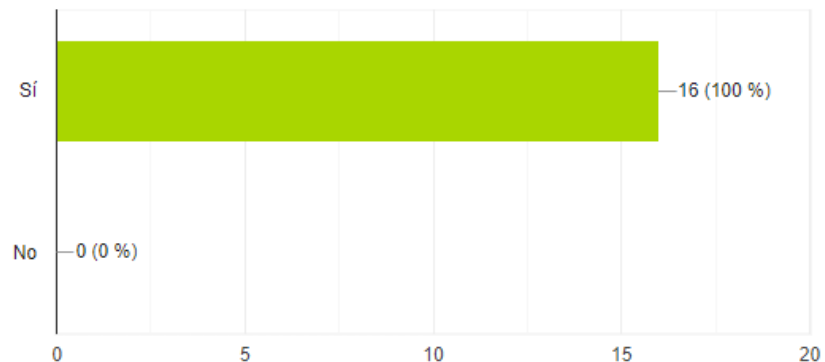


Figura 34. Resultados de la Cuarta pregunta del cuestionario de validación de las guías prácticas de laboratorio.

Como resultado a la quinta pregunta el 93,8% de los estudiantes indicaron afirmativamente que el vocabulario utilizado en las guías era fácil y sencillo de entender, sin embargo el 6,3% de los estudiantes indicaron que el vocabulario no era fácil ni sencillo de entender, ver Figura 35.

¿El vocabulario que se utilizó en las guías prácticas de laboratorio es fácil y sencillo de entender?

16 respuestas

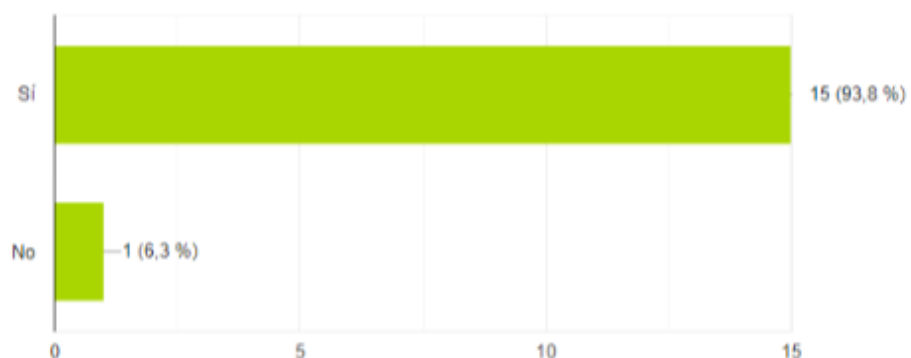


Figura 35. Resultados de la quinta pregunta del cuestionario de validación de las guías prácticas de laboratorio.

Para la sexta pregunta se tuvo como resultado que 93,8% de los estudiantes ven las guías prácticas de laboratorio útiles como un proceso de enseñanza y aprendizaje, sin embargo el 6,3% indicó que no lo consideraba útil para procesos de enseñanza y aprendizaje, ver Figura 36.



¿Considera útil las guías prácticas de laboratorio para procesos de enseñanza y aprendizaje?

16 respuestas

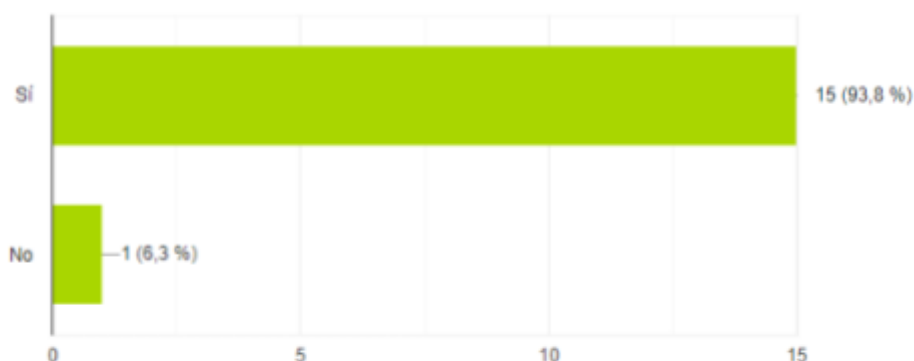


Figura 36. Resultados de la sexta pregunta del cuestionario de validación de las guías prácticas de laboratorio.

En la séptima pregunta el 100% de los estudiantes indicaron de manera afirmativa que las guías prácticas de laboratorio del presente trabajo permiten realizar bioensayos con microalgas, ver Figura 37.

Usted considera que estas guías prácticas de laboratorio le permiten realizar bioensayos con microalgas.

16 respuestas

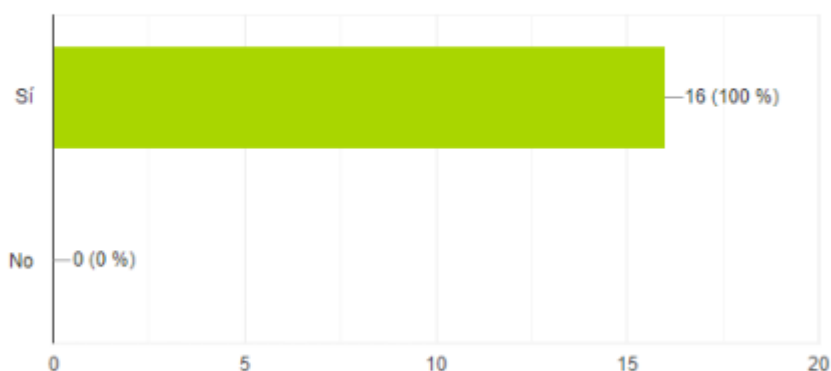


Figura 37. Resultados de la séptima pregunta del cuestionario de validación de las guías prácticas de laboratorio.

Finalmente en el apartado de sugerencias y recomendaciones se tuvo algunos comentarios que indican que las guías eran entendibles, otros que mencionaron que para entender las guías se necesitan algunos conocimientos previos, ver Figura 38.

¡felicitaciones! Es entendible y conciso.

Muy buen trabajo , muy interesante el como en un medio contaminado el alga puede ayudar a descontaminar este ambiente.

Ninguna, todo es bastante claro, ojalá el tiempo alcance para realizar por lo menos una de las prácticas, se ve muy interesante:)

Figura 38. Algunas sugerencias y recomendaciones de los estudiantes de grupo 1 de sistemas microbianos

Por otro lado, se implementó la guía práctica de laboratorio III: Identificación de la microalga *Chlorella vulgaris* la cuál los estudiantes de tercer semestre de grupo 1 de sistemas microbianos, se mostraron interesados por realizar el laboratorio y se obtuvieron habilidades y destrezas en los montajes, así como en las observación del microscopio, además quedaron con el interés de desarrollar las demás guías prácticas de laboratorio para las cuales no hubo el tiempo suficiente, ver Figura 39 y 40.



Figura 39. Estudiantes observando a *Chlorella vulgaris*.



Figura 40 . Estudiantes realizando la guía práctica de laboratorio III: Identificación de la microalga *Chlorella vulgaris*.

## 9. CONCLUSIONES

- ★ En los bioensayos realizados la microalga *Chlorella vulgaris*, ejerce una actividad de bioabsorción de contaminantes de las aguas residuales domésticas como son los nitratos en un 100% y fosfatos en un 66,8%.
- ★ Se observó que en los bioensayos se produjo 2,19 mg/L de nitritos, debido a que los nitratos se degradan a nitritos, lo cual se relaciona con el Ciclo del Nitrógeno.
- ★ Después de 15 días *Chlorella vulgaris* en los bioensayos tuvo un crecimiento estable.
- ★ La elaboración de guías prácticas de laboratorio fortalece a los futuros Licenciados en Biología, debido a que genera una práctica de organización del conocimiento científico en un recurso didáctico, el cual facilita y familiariza estos temas de bioensayos para la comprensión.
- ★ Las guías prácticas de laboratorio generan un interés tanto para el maestro que las elabora, al diseñar un recurso que sirva para llevar a las aulas, así como para los estudiantes los cuales aprenden desde lo teórico y práctico.
- ★ El diseño de la guía práctica de laboratorio fue bien recibido por los estudiantes, dando estos cuenta que el recurso es adecuado para la enseñanza y aprendizaje en los laboratorios.

## 10. RECOMENDACIONES

- ★ A las personas interesadas en hacer este tipo de trabajo les sugerimos tener el cultivo base de la microalga, ya que obtener el cultivo es bastante complejo al crear un medio de cultivo y condiciones donde pueda crecer *Chlorella vulgaris*.
- ★ Al realizar el cultivo, mantenerlo en un ambiente con buena iluminación y constante movimiento para que haya una mayor proliferación de la microalga.
- ★ Si van a usar el medio Bristol, se sugiere que el medio de cultivo para la microalga se debe tomar el sobrenadante y no la parte inferior donde se encuentran concentradas las sales.
- ★ Se sugiere realizar la validación de las guías práctica de laboratorio con profesores del área de biología y realizar la comparación respectiva con la validación realizada con los estudiantes.

## REFERENCIAS

- Acueducto de Bogotá (2021) Parque Ecológico Cantarrana. Disponible en: [https://www.acueducto.com.co/wps/portal/EAB2/gestores-ambientales/gestion-ambiental/parque\\_ecologico\\_cantarrana/](https://www.acueducto.com.co/wps/portal/EAB2/gestores-ambientales/gestion-ambiental/parque_ecologico_cantarrana/)
- Alcaldía local de Tunjuelito (s.f). Reseña del río Tunjuelo. Disponible en: <http://www.tunjuelito.gov.co/milocalidad/resena-rio-tunjuelo>
- Alcázar, F; Fuentes, D; Gallardo, F; Herrera, M; Linares, C; Villarreal, V; Zambrano, S y Alejandra, M. (2016) Manual de Prácticas de Laboratorio de Química Inorgánica. Disponible en: <https://repositorio.cuc.edu.co/handle/11323/1117>
- Alcaldía local de Usme (2016) Parque Cantarrana de Usme. Disponible en: <http://www.usme.gov.co/milocalidad/parque-cantarrana-usme>
- Alonso, A. ; Garcia, L. ; Leon, I. ; Garcia, G. ; Gil, B. ; Ríos, L. (2010). Métodos de investigación de enfoque experimental. Disponible en: <https://www.postgradoune.edu.pe/pdf/documentos-academicos/ciencias-de-la-educacion/10.pdf>
- Aguirre, N. Palacio, J. Correa, I. y Hernández, E. (2007) Ensayos de bioestimulación algal con diferentes relaciones nitrógeno: fósforo, bajo condiciones de laboratorio. Revista Ingenierías Universidad de Medellín. 2007, Vol. 6 Issue 11, p11-21. 11p. 3 Charts, 3 Graphs. Disponible en: <https://revistas.udem.edu.co/index.php/ingenierias/article/view/69>
- Aragón, L.; Rodríguez, J.; Ríos, L.; Garza, Y.; Rodríguez, G.; Martínez, S. (2017). Tratamiento de aguas residuales domésticas empleando *Chlorella vulgaris* en un biorreactor airlift. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/333928843\\_Domestic\\_wastewater\\_treatment\\_using\\_Chlorella\\_vulgaris\\_in\\_an\\_airlift\\_bioreactor](https://www.researchgate.net/publication/333928843_Domestic_wastewater_treatment_using_Chlorella_vulgaris_in_an_airlift_bioreactor)
- Alvarez, D. y Botache, L. (2020) Biodegradación de plástico con larvas del coleóptero *tenebrio molitor* como un aporte interdisciplinar a la biotecnología ambiental. Disponible en: [http://repository.pedagogica.edu.co/bitstream/handle/20.500.12209/12205/Biodegradacion\\_de\\_Plastico\\_con\\_Larvas\\_Tm%20%282%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repository.pedagogica.edu.co/bitstream/handle/20.500.12209/12205/Biodegradacion_de_Plastico_con_Larvas_Tm%20%282%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Álvarez, T; Enrique, J. y Palencia, E. (2015). Tratamiento de aguas residuales in vitro por medio de la microalga *Chlorella* sp en el municipio de Barrancabermeja, Colombia. Disponible en: [https://revistas.unipaz.edu.co/index.php/revcitecsa/article/view/94/pdf\\_31](https://revistas.unipaz.edu.co/index.php/revcitecsa/article/view/94/pdf_31)
- Beltran, S. 2009. Los ríos y sus partes. Disponible en: <https://eduteka.icesi.edu.co/proyectos.php/2/3547>
- Bolaños, J; Cordero, G y Segura, G. (2017) Determinación de nitritos, nitratos,

sulfatos y fosfatos en agua potable como indicadores de contaminación ocasionada por el hombre, en dos cantones de Alajuela (Costa Rica). Disponible en:  
<https://www.scielo.sa.cr/pdf/tem/v30n4/0379-3982-tem-30-04-15.pdf>

Bolivar, F. y Sanchez, P. (2017) Claves de identificación de microalgas frecuentes en monumentos. Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/publication/317616783\\_Claves\\_de\\_identificacion\\_de\\_microalgas\\_frecuentes\\_en\\_monumentos](https://www.researchgate.net/publication/317616783_Claves_de_identificacion_de_microalgas_frecuentes_en_monumentos)

Cajamar (2015). ¿Qué son las microalgas? Disponible en:  
<https://www.cajamar.es/storage/documents/microalgas-1444391623-ca345.pdf>

Candela, R. (2016). Las microalgas y el tratamiento de aguas residuales: conceptos y aplicaciones. Disponible en:  
<https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/12170/91541023.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Espigares, M. y Perez, J. (2015) Aguas residuales composición. Disponible en:  
<https://www.studocu.com/co/document/universidad-de-cordoba-colombia/procesos-unitarios/aguas-residuales-composicion-libro/7477631>

Fernández C. y Alicia. (2012). El agua: un recurso esencial. Química Viva. Disponible en:  
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86325090002>

Fundación chilena FCH (2013). Manual de tecnologías de remediación de sitios contaminados. Disponible en:  
[https://fch.cl/wp-content/uploads/2019/10/manual-de-tecnologias-de-remediacion-de-sitios-contaminados\\_baja-1.pdf](https://fch.cl/wp-content/uploads/2019/10/manual-de-tecnologias-de-remediacion-de-sitios-contaminados_baja-1.pdf)

Garzón, Rodríguez y Hernández. (2017) Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0124-71072017000200309&lng=es&nrm=iss&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0124-71072017000200309&lng=es&nrm=iss&tlng=es)

Gomez, Tormos, L. y Ortega, Y. (2022) Cultivo y aplicaciones de Chlorella vulgaris: principales tendencias y potencialidades en la agricultura. Disponible en:  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2224-61852022000100070](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852022000100070)

Guzman, I. (2020) Aproximación al reconocimiento de los servicios ecosistémicos del parque ecológico cantarrana como estrategia didáctica para el fortalecimiento del prae-colegio ied usminia (localidad de usme). Disponible en:  
<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/79108/1030542857.2020.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Haumi, A. (2013) Un acercamiento a los métodos mixtos de investigación en educación médica. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-50572013000400006](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-50572013000400006)

Hernández, A. y Labbé, I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. Revista de biología marina y oceanografía, 49(2), 157-173. Disponible en:  
<https://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>

IDEAM. (2002). Estudio de la Caracterización Climática de Bogotá y la cuenca Alta del Río Tunjuelo. Disponible en:  
<http://www.ideam.gov.co/documents/21021/21135/CARACTERIZACION+CLIMATICA+B OGOTA.pdf/d7e42ed8-a6ef-4a62-b38f-f36f58db29aa>

Jimenez, G; Greiss, K; Atorre, R. y Grace, H. (2013) Remocion de arsenico de efluentes industriales, mediante bioabsorcion con chlorella vulgaris a escala de laboratorio. Disponible en:  
<http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/3801/42.0090.IB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Lee, R. (2008) Phycology. Cambridge University Press.

Liang, Y. y Wong, M. (2000). Reclamation of Wastewater for Polyculture of Freshwater Fish: Bioassays Using Chlorella and Gambusia. Disponible en:  
<https://pwebebsco.pedagogicaproxy.elogim.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=4&sid=8a1e53bf-3ef0-4ad4-8cf1-0c059f1b55fd%40redis>

López, Y. y Pianda D. (2019) Entomofauna epiedáfica en áreas de restauración ecológica del parque ecológico cantarrana (Bogotá DC). Disponible en:  
<https://repository.udistrital.edu.co/bitstream/handle/11349/13081/PiandaRodriguezDianaPaola2018.pdf?sequence=4&isAllowed=y>

Molina, E. Hernández, L. Gómez, M. Cañizares, M. (2003) Determinación de nitratos y nitritos en agua. Comparación de costos entre un método de flujo continuo y un método estándar. Disponible en:  
[https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0583-76932003000100014#:~:text=Los%20niveles%20de%20nitratos%20y,los%20niveles%20de%20estos%20aumenten](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0583-76932003000100014#:~:text=Los%20niveles%20de%20nitratos%20y,los%20niveles%20de%20estos%20aumenten)

Mondra, N; Jariwala, N. y Robin, C. (2020). Comparative study for Treatment of Domestic Wastewater Using Chlorella Vulgaris. Disponible en:  
<https://assets.researchsquare.com/files/rs-25555/v1/322dd029-cfee-4592-9839-d028a45c0432.pdf?c=1631834187>

Marín, M. (2010). El trabajo experimental en la enseñanza de la química en contexto de resolución de problemas. Disponible en:  
<https://bibliotecadigital.univalle.edu.co/xmlui/bitstream/handle/10893/7553/3.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Martinez, V. (2013) Paradigmas de investigación manual multimedia para el desarrollo de trabajos de investigación. Una visión desde la epistemología dialéctico crítica. Disponible en:  
<https://biblioteca.udgvirtual.udg.mx/jspui/handle/123456789/3790>

Ortiz, M; Romero, M. y Meza, L. (2018). La biorremediación con microalgas (Spirulina máxima, Spirulina platensis y Chlorella vulgaris) como alternativa para tratar la eutrofización de la laguna de Ubaque, Colombia. Disponible en:

<http://www.scielo.org.co/pdf/ridi/v9n1/2389-9417-ridi-9-01-163>

Oscanoa, A; Cervantes, M; Flores, L. y Ruiz, A. (2021). Evaluación del potencial de Desmodesmus asymmetricus y Chlorella vulgaris para la remoción de nitratos y fosfatos de aguas residuales. Revista Peruana de Biología, 28(1), e18082. Disponible en:

<https://dx.doi.org/10.15381/rpb.v28i1.18082>

Osorio, M; Carrillo, W; Negrete, J; Loor, X y Riera, E. (2021) La calidad de las aguas residuales domésticas. Disponible en:

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7926905>

Osorio, J. (2006) El río tunjuelo en la historia de Bogotá, 1900-1990. Disponible en:

[https://oab.ambientebogota.gov.co/?post\\_type=dml\\_download&p=4099](https://oab.ambientebogota.gov.co/?post_type=dml_download&p=4099)

Páramo, P. y Otálvaro. G. (2006). Investigación alternativa: una distinción entre posturas epistemológicas y no entre métodos. Cinta de Moebio. Disponible en:

[https://www.researchgate.net/publication/250917399\\_Investigacion\\_alternativa](https://www.researchgate.net/publication/250917399_Investigacion_alternativa)

Piraquive, D. (2020) Análisis del guano del murciélago Carollia perspicillata como biofertilizante de bosques perturbados. Disponible en:

<http://repository.pedagogica.edu.co/bitstream/handle/20.500.12209/11822/TE-24022.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Rentería, M. y García, D. (2019) Estudios sobre la biorremediación en Colombia. Disponible en: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/hm/article/view/339845/20802199>

Ricoy, C. (2006). Contribución sobre los paradigmas de investigación. Educação, 31 (1). Universidad Federal de Santa María. Santa María. Rs. Brasil. doi. Disponible en:

<http://dx.doi.org/10.5902/19846444>

Rodriguez, Y. (2018) Tunjuelo: el río que se convirtió en cloaca. Disponible en:

<https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/bitstream/handle/20.500.12010/8297/Trabajo%20de%20grado.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Sanchez, J. (2022) Qué es un parque ecológico. Disponible en:

<https://www.ecologiaverde.com/que-es-un-parque-ecologico-1212.html>

Usme.com.co. (2018) Parque ecológico cantarrana. Disponible en:

<https://www.usme.com.co/item/parque-ecologico-cantarrana/>

Vázquez, G. (2023) Las algas y su importancia como indicadores ecológicas en lagos volcánicos tropicales. Disponible en:

<https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/ct-menu-item-27/17-ciencia-hoy/1257-las-algas-y-su-importancia-como-indicadoras-ecologicas-en-lagos-volcanicos-tropicales>



# Preparación del Medio Bristol

*Stephany García y Maria Ortiz*

## Introducción

### Los medios de cultivo de microalgas

Son una dilución acuosa que contiene los nutrientes inorgánicos que necesitan las microalgas para su crecimiento. El suministro de medio de cultivo y las concentraciones de los nutrientes deben estar relacionados con la producción de biomasa de manera que se tenga la cantidad suficiente para que nunca se genere una limitación que lleve a la disminución en la productividad de biomasa o incluso alguna disfunción del cultivo como la fotoinhibición.

### Principales nutrientes necesarios para el cultivo de un alga son:

- **Agua:** Es un nutriente que suministra electrones ( $H\cdot$ ) necesarios para la reducción del  $CO_2$ , además funciona como transporte.
- **Carbono:** normalmente suministrado aparte como  $CO_2$ .
- **Oxígeno:** suministrado tanto por el  $H_2O$  como por el  $CO_2$ .
- **Nitrógeno:** este es muy importante ya que forma parte de las proteínas y nucleótidos de la biomasa. Suministrado como  $NO_3^-$  o  $NH_4^+$ .
- **Fósforo:** suministrado como fosfato, forma parte de importantes intermedios metabólicos, lípidos, enzimas y multitud de especies bioquímicas.

Por otro lado, es importante tener en cuenta que existe una gran cantidad de otros nutrientes que se requieren para la especie. Según la cantidad en la que se necesiten se suelen clasificar como macronutrientes o micronutrientes.

**Macronutrientes:** Estas son sales como el cloruro de sodio y magnesio, sulfatos y sales de calcio. Pueden aparecer en concentraciones de hasta 30 g/L cuando se trata de especies marinas y hasta de 100 g/L en microalgas halófilas. Estos macronutrientes no se consumen en la generación de biomasa o se incorporan en muy pequeña medida. Su objetivo principal es mantener la presión osmótica y el equilibrio de electrolitos.

**Micronutrientes:** Son elementos que actúan como cofactores de enzimas y aparecen en muy pequeñas cantidades. Si se ponen en exceso pueden tener una función de toxicidad, como es el caso del cobre, que es un conocido alguicida.

## Objetivos

- ★ Realizar la preparación del medio de cultivo bristol.
- ★ Adquirir habilidades en la elaboración de medios de cultivo.
- ★ Fortalecer actividades en cuanto al manejo de instrumentos y reactivos de laboratorio.

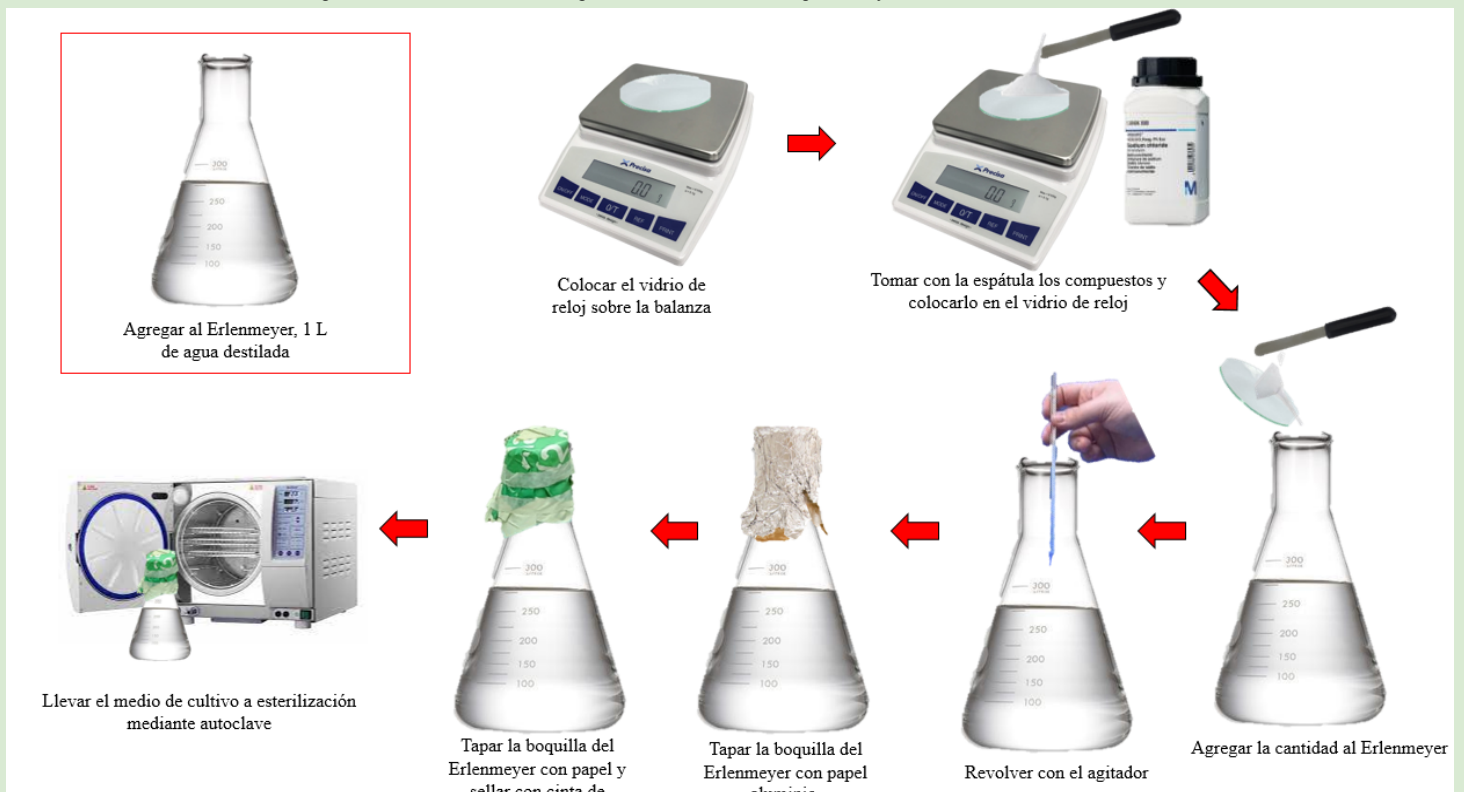
**Materiales:** Un erlenmeyer 1 L, balanzas de laboratorio, vidrio de reloj, espátula, agitador, cinta de enmascarar, papel periodico, papel aluminio, guantes, tapabocas y bata.

**Compuestos:** composición g/L 25 g  $\text{NaNO}_3$ , 17.5 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2.5 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 7.5 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 2.5 g  $\text{NaCl}$ , 7.5 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 3.1 g  $\text{KOH}$ , 5 g EDTA, 0.15 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.001 g  $\text{NaMoO}_4$ , 0.0002 g  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0.001 g  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.0002 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

### Procedimiento

1. Utilizar los implementos de bioseguridad (guantes, tapabocas y bata)
2. Agregar al erlenmeyer de un 1 L, 1 L de agua destilada.
3. En la balanza del laboratorio, colocar el vidrio de reloj.
4. Tomar con la espátula el compuesto y colocarlo en el vidrio de reloj sobre la balanza.
5. Cuando tenga la medida exacta agregar la cantidad al erlenmeyer.
6. Revolver con el agitador.
7. Hacer el punto 5 y 6 con todos los compuestos.
8. Terminado de agregar todos los compuestos, tapar la boquilla del erlenmeyer con papel aluminio.
9. Volver a tapar la boquilla del erlenmeyer con papel.
10. Sellar con cinta de enmascarar alrededor de la envoltura.
11. Llevar el medio de cultivo a esterilización mediante autoclave a temperatura de 121 °C, 15 psi, 15 minutos.

Nota: Convertir la composición del medio Bristol, dependiendo de la cantidad que se vaya a necesitar.



## Cuestionario

- ☺ ¿Cuál es el procedimiento para esterilizar el medio de cultivo Bristol?
- ☺ ¿Cuáles son los macronutrientes y cuál es su función?
- ☺ ¿Cuáles son los micronutrientes y cuál es su función?
- ☺ ¿Cuáles son las diferencias entre los macronutrientes y micronutrientes?
- ☺ ¿Qué es y para qué sirve un medio de cultivo de microalgas?
- ☺ ¿Por qué el nitrógeno es un nutriente importante para el medio de cultivo de una microalga?
- ☺ ¿Qué pasa si se excede la cantidad de micronutrientes?
- ☺ Responda verdadero o falso a la siguiente afirmación:  
El suministro de medio de cultivo y las concentraciones de los nutrientes deben estar relacionados con la producción de biomasa.

# Recolección y Aislamiento de la Microalga *Chlorella vulgaris*

*Stephany García y Maria Fernanda Ortiz*

## Introducción

La recolección de muestras tanto de agua como de suelo deben ser tomadas correctamente para su posterior análisis en el laboratorio, ya que es un proceso complejo y con multitud de aspectos a tener en cuenta antes, durante y después de la recolección de la porción de agua o suelo; las muestras debe ser homogénea y representativa, además se debe tener en cuenta el proceso de toma, transporte y conservación los cuales no modifiquen las propiedades, esto es esencial para evitar resultados de ensayos cuya fiabilidad pueda ser cuestionada. Existen diferentes tipos de toma de muestras, basados esencialmente en la forma en la que se obtiene la porción de agua y suelo, en el caso del muestreo aleatorio se basa en seleccionar n unidades sacadas de N, de tal manera que cada una de las muestras tiene la misma probabilidad de ser elegida. (López, N. 2002)

Los microorganismos se encuentran formando poblaciones mixtas con otros tipos de microorganismos. A estos cultivos se les denomina cultivos mixtos. Sin embargo, el conocimiento de los microorganismos se consigue mediante el estudio de cepas aisladas, cultivadas en el laboratorio en cultivos puros; para ello se necesita del aislamiento, el cuál consiste en la separación de un determinado microorganismo del resto de microorganismos que le acompañan, esto se puede realizar mediante diluciones seriadas, como bien su nombre lo dice es una secuencia de diluciones en la que se reduce la concentración progresivamente; generalmente el factor de dilución es el mismo en cada paso, por lo que las concentraciones de la serie conforman una progresión geométrica logarítmica, estas son usadas para obtener disoluciones muy diluidas con precisión, así como disoluciones para experimentos en las ciencias experimentales, incluyendo bioquímica, química, farmacología, microbiología y física. (Mar, A; et al. 2016)

Para esta área exacta las diluciones seriadas también se pueden utilizar para reducir la concentración de microorganismos o células de una muestra. Como, por ejemplo, el número de células de microalgas que crecen en un medio de cultivo líquido; la dilución puede ser útil para obtener resultados más manejables o para tener un número definido de colonias de cultivo. La dilución en serie es también un método más barato y más sencillo para preparar los cultivos de una sola célula que el empleo de pinzas ópticas y micromanipuladores. También existen tipos de disoluciones dependiendo del logaritmo que se vaya a usar una dilución decimal es llamada dilución logarítmica, ya que en cada etapa, se toma una parte de la disolución anterior y se le añaden nueve volúmenes de agua, mientras una dilución al doble de volumen se denomina dilución semilogarítmica y una dilución al cuádruple de volumen se denomina dilución cuarto-logarítmica (Domingo, A. 2020)

## Medios de Cultivo

Muchos factores contribuyen para el desarrollo óptimo de los cultivos de microalgas, algunos de éstos afectan las características del crecimiento.

Los recipientes de cultivo más comúnmente usados son de materiales no tóxicos como las cajas de petri, matraces erlenmeyer, matraces ferenback, carboys o garrafas, etc., adecuados para cultivos de laboratorio. En cultivos masivos la aireación es un factor muy importante para la homogeneización de los nutrientes y para evitar la sedimentación de las microalgas. Otro factor importante es la penetración de la luz en el cultivo (Torretera, L. s.f).

Se han desarrollado diferentes medios para el cultivo de microalgas que van desde las fórmulas para enriquecer el agua de mar natural, hasta el uso de medios artificiales que permitan resultados constantes en contraste con los resultados tan variables que brinda el uso del agua de mar natural que entre otros factores depende del lugar donde se colecta ésta, y el tiempo de almacenamiento de la misma. (Torretera, L. s.f)

Los medios artificiales se usan usualmente para fines experimentales, ya que como se ha mencionado, brinda resultados constantes, aunque existen algunas especies que no crecen en medios artificiales por factores desconocidos que afectan su crecimiento (Torretera, L. s.f)

El fitoplancton se desarrolla y multiplica en relación de las condiciones fisicoquímicas del medio; en términos generales son los macronutrientes o factores limitantes del crecimiento el carbono, nitrógeno, fósforo, silicio, magnesio, potasio y calcio, que se requieren en cantidades relativamente grandes, mientras que los llamados micronutrientes hierro, manganeso, cobre, zinc, sodio, molibdeno, cloro y cobalto, se necesitan en menores cantidades. (Torretera, L. s.f)

Existen otros medios que incluyen en su composición sustancias orgánicas (vitaminas, aminoácidos) necesarios para aquellas especies de microalgas Auxótrofas, es decir que no sintetizan por medio de la fotosíntesis este tipo de compuestos y resultan factores que pueden limitar su crecimiento. (Torretera, L. s.f)

## **Objetivos**

- ★ Recolectar, envasar y transportar con la debida precaución las muestras de agua y suelo del parque seleccionado.
- ★ Realizar aislamiento primario de microalgas de la muestra de suelo y agua.
- ★ Desarrollar habilidades en la toma de recolección y aislamiento de muestras.

## RECOLECCIÓN

**Materiales:** Bolsa negra, guantes, tapabocas, botella de 1L y espátula.

### Recolección muestra de agua.

1. Utilizar los implementos de bioseguridad (guantes y tapabocas)
2. En la orilla del río, tomar con la botella de 1L la muestra de agua.
3. No cerrar la botella de agua, por completo.

### Recolección muestra de suelo.

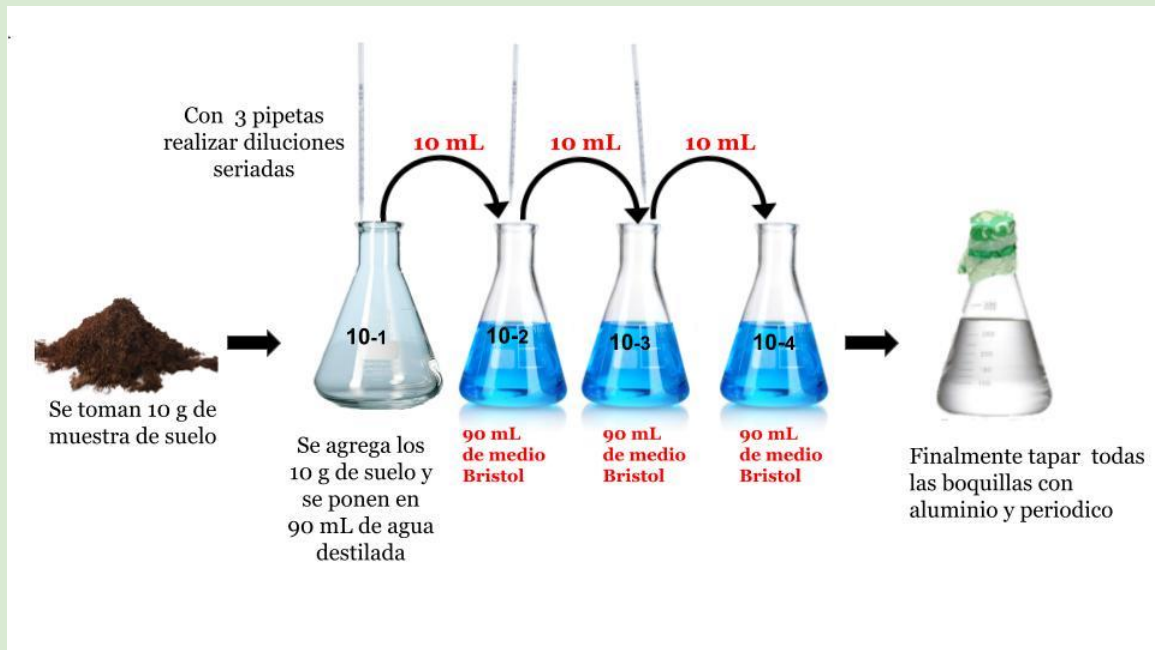
1. Utilizar los implementos de bioseguridad (guantes y tapabocas)
2. Cerca a la orilla del río, tomar con una espátula 10g de suelo y colocarlo en la bolsa negra.
3. Repetir el punto 2 en diferentes áreas hasta obtener 100 g.
4. Homogeneizar la muestra de 100 g en la bolsa.

## AISLAMIENTO

**Materiales:** 8 erlenmeyers, 90 mL de cultivo Bristol para cada erlenmeyer, 8 pipetas de 10 mL, 1 pipeteador de 10 mL, 100 mL de agua destilada, 10 g de suelo, 1 L de agua de algún río o quebrada, bata de laboratorio, guantes, marcador y cinta de enmascarar.

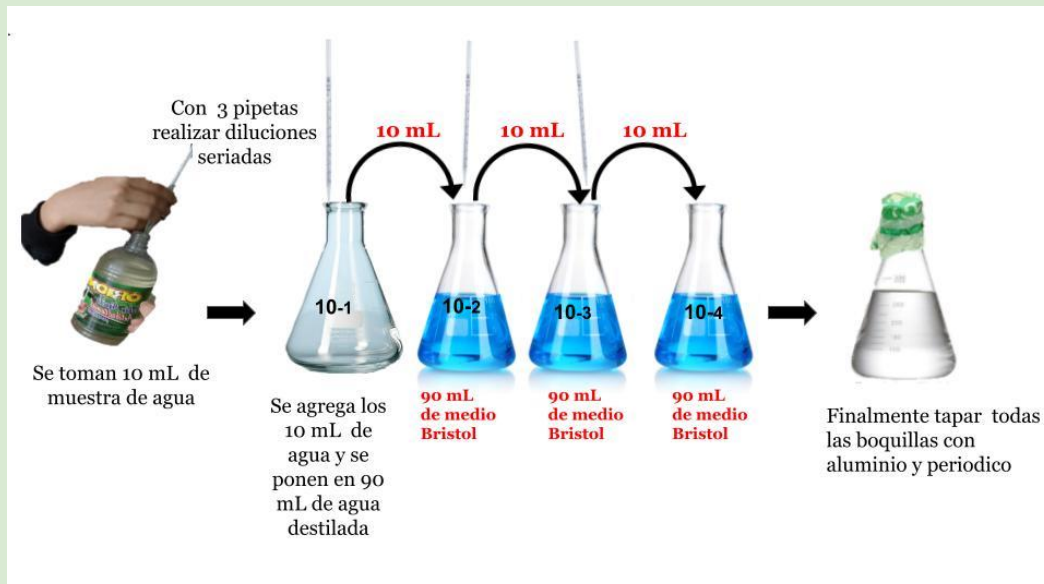
### Aislamiento primario con suelo

1. Pesar 10 g de la muestra de suelo obtenida.
2. Agregar en 90 mL de agua destilada los 10g de suelo y revolver hasta obtener una mezcla homogénea. Esta será la dilución  $10^{-1}$
3. Preparar 3 medios de cultivo Bristol.
4. Con una pipeta tomar 10 mL de la mezcla homogénea (agua destilada y muestra de suelo) y agregar a uno de los medios Bristol y hacer la dilución seriadas  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , posteriormente se marcará debidamente el erlenmeyer con el nombre de la persona, fecha y dilución.
5. Con papel aluminio tapar la boquilla de los erlenmeyers en las cuatro diluciones, para luego ponerlos bajo luz controlada.
6. Revisar los medios de cultivo cada semana y tomar nota del progreso.



### Aislamiento primario con Agua

1. Tomar 10 mL de la muestra de agua.
2. Agregar los 10 mL de la muestra de agua en 90 mL de medio bristol y hacer las diluciones seriadas  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , posteriormente se marcará debidamente el erlenmeyer con el nombre de la persona, fecha y dilución.
3. Con papel aluminio tapar las boquillas de los erlenmeyers de las cuatro diluciones.
4. Revisar los medios de cultivo cada semana y tomar nota del progreso.



## Cuestionario

- ☉ ¿Por qué se debe tener cuidado al tomar, transportar y conservar la muestra?
- ☉ ¿Cuál es la diferencia entre un cultivo mixto y un cultivo puro?
- ☉ ¿Cómo se obtiene un cultivo puro, a partir de un cultivo mixto de microalgas?
- ☉ Realice un esquema del paso a paso para coleccionar una muestra de suelo para aislamiento de microalgas.
- ☉ ¿Qué es un cultivo líquido de microalgas?
- ☉ Realice un dibujo explicando el proceso de aislamiento primario de muestras de agua.
- ☉ ¿En qué consisten las diluciones seriadas?
- ☉ ¿En qué consiste y para qué sirve un aislamiento?
- ☉ A la hora de la recolección de muestra líquida, ¿por qué es importante no cerrar del todo la tapa de la botella plástica?
- ☉ ¿Para que se deben revisar los medios de cultivo cada semana?

## Referencias

Domingo, A. (2020) Diluciones seriadas. Disponible en:

<https://cuadernolab.web.uah.es/web/tecnicas/diluciones-seriadas/>

Higiene ambiental. (2020) Criterios para la toma de muestras de agua de consumo.

Disponible en:

<https://higieneambiental.com/aire-agua-y-legionella/criterios-para-la-toma-de-muestras-de-agua-de-consumo>

López, N. 2002. Estadística. Disponible en: [www.juntadeandalucia.es](http://www.juntadeandalucia.es)

Mar, A; Blandón, L; Ceballos, V; Mejía, M. y Buriticá, H (2016) Aislamiento de Microorganismos en diferentes ambientes (Suelo, Agua y Aire). Disponible en: <https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/17596/2.%20Aislamiento%20de%20microorganismos.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Torrentera, L. (s.f). II. Cultivo De Microalgas. Disponible en: <https://www.fao.org/3/ab473s/AB473S02.htm>



# Identificación de la Microalga

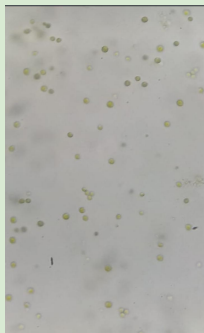
## *Chlorella vulgaris*

**Stephany García y Maria Ortiz**

### Introducción

La identificación de microalgas se puede realizar de dos tipos, mediante identificación morfológica o identificación molecular, para el primer procedimiento se lleva a cabo mediante claves morfológicas taxonómicas de las cepas a analizar, las cuales se puede tener en cuenta su forma, color, diámetro, movilidad, pared celular y estado de desarrollo, para el segundo procedimiento la identificación molecular de microalgas se utiliza secuencias de ADN que pueden proporcionar medios para identificar de forma consistente y rápida. Recientemente se han desarrollado identificaciones de cepas de microalgas utilizando varios marcadores moleculares, entre ellos se encuentra los genes de la subunidad mayor de la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (rbcL), el espaciador interno transcrito 2 (ITS-2) y el gen del ARNr 18S. (Gómez, O. et al. 2018)

Según M.W. Beyerinck, 1890, la microalga *Chlorella vulgaris* se encuentra clasificada taxonómicamente:



Reino: *Protista*  
División: *Chlorophyta*  
Clase: *Chlorophyceae*  
Orden: *Chlorococcales*  
Familia: *Oocytaceae*  
Género: *Chlorella*  
Especie: *Chlorella vulgaris*

*Fotografía tomada por Ortiz, M. (2022)*

*Chlorella vulgaris* es un alga verde unicelular, microscópica con un tamaño de 5 a 10  $\mu\text{m}$  y con una estructura similar a la de las plantas superiores, conteniendo una pared celular conformada por glucano y glucosamina, mitocondria y cloroplastos, siendo este último necesario para llevar a cabo la fotosíntesis; por otro lado, presenta reproducción asexual por auto-esporulación que toma alrededor de 24 horas para realizar su división, posee un rápido crecimiento en condiciones autotróficas, heterotróficas y mixotróficas. Esta alga está presente en el planeta Tierra desde el periodo precámbrico y presenta múltiples ventajas como por ejemplo su bajo costo, fácil cultivo, alta velocidad de crecimiento y la habilidad de adaptarse a diferentes ambientes, lo que permite su cultivo en áreas pequeñas. La especie *Chlorella vulgaris* fue descrita en 1890 por el microbiólogo Martinus Willem Beijerinck, quien obtuvo cultivos puros de esta microalga, siendo este el primer cultivo de microalgas eucariotas, a partir de entonces se desarrolló el interés por sus aplicaciones biotecnológicas. (Cajamar, 2015)

## Objetivos

- ★ Aprender a manejar claves para la identificación de microalgas.
- ★ Desarrollar habilidades de identificación de microalgas específicas como es *Chlorella vulgaris*.
- ★ Fortalecer las actividades de laboratorio, como es la utilización del microscopio para identificar microorganismos.

**Materiales:** Microscopio, guantes, pipeta pasteur, lámina, laminilla, claves de microalgas, esmalte transparente.

## Procedimiento

1. Tomar la muestra con la pipeta pasteur.
2. Agregar en la lámina y cubrir con una laminilla.
3. Colocar la muestra sobre la platina del microscopio.
4. Ajusta el objetivo del microscopio en el aumento de 40x.
5. Tomar registro fotográfico.
6. Identificar la microalga *Chlorella vulgaris*, mediante caracterización morfológica por claves taxonómicas.
7. Agrega esmalte transparente en los bordes de la laminilla que se encuentra sobre la lámina con la muestra de la microalga identificada. (muestra para conservar)



Tomar la muestra con la pipeta pasteur.



Agregar en la lámina y cubrir con una laminilla.



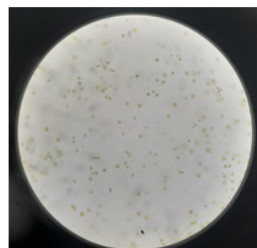
Colocar la muestra sobre la platina del microscopio



Ajusta el objetivo del microscopio en el aumento 40x.



Agrega esmalte transparente en los bordes de la laminilla



Tomar registro fotográfico.



Identificar la microalga *Chlorella vulgaris*, por claves morfológica taxonómicas.

## Clave morfológica 1

### ALGAS VERDES

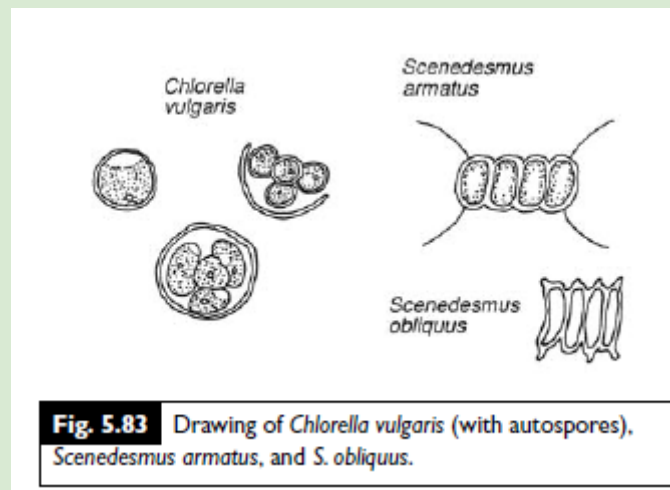
Células de color verde intenso, rodeadas de pared celular o no: ALGAS VERDES (y *Euglena*)

1. Organismos de vida aislada, no unidos en agrupaciones celulares.
- 1.2. Células inmóviles o con movimiento muy lento no producido por flagelos.
- 1.2.1. Células esféricas, con una marcada diferencia de tamaño ***Chlorococcum***.

Bolivar, F. y Sanchez, P. (2017)

## Clave morfológica 2

1. *Chlorellales*: algas coloniales unicelulares o no filamentosas; células vegetativas inmóviles. (Lee, R. 2008; pág. 191)
2. *Chlorellales*: en este orden están las algas que no tienen movilidad, talo vegetativo donde el talo comprende una sola célula o un cenobio compuesto de un número definido de células dispuestas de una manera específica. La reproducción asexual ocurre por zoosporas o aplanosporas que son comúnmente autosporas. Estas auto esporas son probablemente no más que células hijas del talo progenitor. La reproducción sexual puede ser isógama, anisógama, mous u oógamos. El orden es exclusivamente agua dulce. (Lee, R. 2008; pág. 212)
3. Las células de *Chlorella* son esféricas con forma de copa. cloroplasto (Fig. 5.83). El único método de reproducción es por células hijas que se asemejan a las células madre. *Chlorella* a menudo forma intracelular simbiosis con invertebrados acuáticos y protozoos (como el paramecio). (Lee, R. 2008; pág. 213)



**Fig. 5.83** Drawing of *Chlorella vulgaris* (with autosporas), *Scenedesmus armatus*, and *S. obliquus*.

Tomado de Lee, R. 2008

## Cuestionario

- ☉ ¿Cuáles son las metodologías para la identificación de microalgas?
- ☉ Describa las características de la microalga *Chlorella vulgaris*
- ☉ Dibuje la microalga observada en el microscopio, describa sus partes.
- ☉ ¿Cuál es el movimiento de *Chlorella vulgaris*?

## Referencia

Bolivar, F. y Sanchez, P. (2017) Claves de identificación de microalgas frecuentes en monumentos. Disponible en:

[https://www.researchgate.net/publication/317616783\\_Claves\\_de\\_identificacion\\_de\\_microalgas\\_frecuentes\\_en\\_monumentos](https://www.researchgate.net/publication/317616783_Claves_de_identificacion_de_microalgas_frecuentes_en_monumentos)

Cajamar (2015). ¿Qué son las microalgas? Disponible en:

<https://www.cajamar.es/storage/documents/microalgas-1444391623-ca345.pdf>

Gomez, O; Guerrero, Maritza; Meneses, Karla y Nunez, Kattia. (2018) Identificación de una Colección de Microalgas Aisladas de Costa Rica Mediante Secuenciación de Adnr18s. Acta Biol.Colomb. [Online]. Vol.23, N.2, Pp.199-204. Issn 0120-548x. Disponible en:

<https://doi.org/10.15446/abc.v23n2.68088>.

Lee, R. (2008) Phycology. Cambridge University Press.

# Bioensayos de absorción de nitratos y fosfatos con *Chlorella vulgaris*

*Stephany García y Maria Fernanda Ortiz*

## Introducción

Los bioensayos son herramientas de diagnóstico con el fin de determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas. Estos efectos pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de los organismos, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos. La utilidad de los bioensayos está primordialmente en ser un método de detección relativamente simple y que se puede emplear para el monitoreo de causas y efectos de tipo ambiental y en farmacología (Ronco, A.; Díaz, M.; Granados, Y. 2014).

## Características de los bioensayos

Existen sustancias con un amplio espectro de efectos sobre los organismos; por tanto, es necesario realizar más de un bioensayo para evaluar esas sustancias; se dispone de una gran variedad de bioensayos en función de los objetivos de investigación. Para realizar un bioensayo es importante identificar:

- (a) qué sustancia será evaluada.
- (b) en qué sustrato será utilizada.
- (c) en qué organismo se probará.
- (d) qué tipo de respuesta podría ser detectada.

## Objetivos

- Desarrollar habilidades de observación y análisis de bioensayos.
- Evaluar el aumento o la disminución de *Chlorella vulgaris* en los bioensayos.
- Determinar la capacidad de bioabsorción de nitratos y fosfatos de *Chlorella vulgaris*.

**Materiales:** Erlemeyers, pipetas, pipeteadores, guantes, medio Bristol, cepas de *Chlorella vulgaris*, muestra de agua contaminada, marcador y gasas.

## Procedimiento

Para la realización de los bioensayos, se contará con las muestras de agua contaminada, aguas residuales de tipo doméstico del río Tunjuelo del Parque Ambiental Cantarrana, así como los cultivos celulares de *Chlorella vulgaris*. El experimento consta de 2 bioensayos, de los cuales

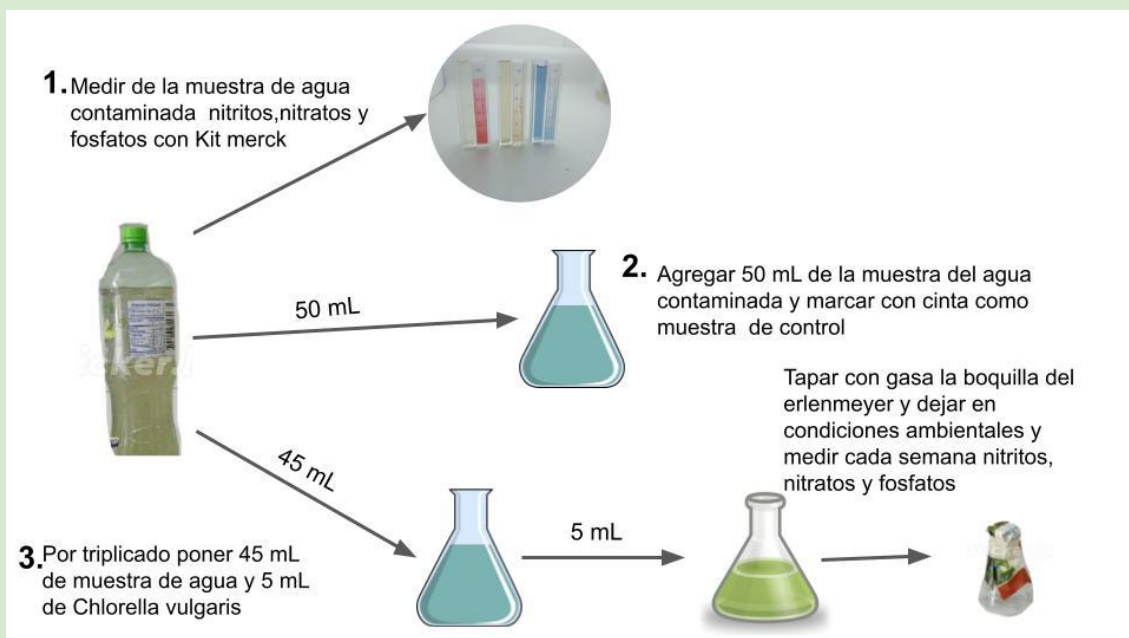
uno es de control y el otro es el bioensayo de bioabsorción con las muestras de agua contaminadas, el bioensayo de control cuenta con una réplica y los de absorción con cuatro réplicas. A todos los bioensayos se les medirá los parámetros químicos de nitritos, nitratos y fosfatos, cada semana. De igual modo, estos bioensayos se mantendrán en condiciones de laboratorio óptimas con luz y temperatura ambiental.

### Bioensayo de Control

1. En un erlenmeyer de 50 mL, añadir 50 mL de agua contaminada del río Tunjuelo.
2. Medir los nitritos, nitratos y fosfatos de la muestra de control con el Kit merck Hanna instruments.
3. Anotar y tomar evidencia fotográfica de los resultados obtenidos en el paso anterior, cada semana.

### Bioensayo de Adsorción

1. En 6 erlenmeyers de 50 mL, se añade 45 mL de agua contaminada del río Tunjuelo.
2. Posteriormente agregar 5 mL de cultivo de *Chlorella vulgaris*.
3. Tapar con gasa y cinta la boquilla del erlenmeyer.
4. Marcar debidamente cada erlenmeyer.
5. Realizar cada semana la medición de nitritos, nitratos y fosfatos, con el Kit merck Hanna instruments.
6. Tomar nota de los resultados y evidencia fotográfica, cada semana.



### **Cuestionario**

- ☉ ¿Cuáles son los cuatro elementos a identificar para la realización de un bioensayo?

- ☉ ¿En qué consiste un bioensayo?
- ☉ ¿Por qué cree que es importante llevar un registro cada semana tanto escrito, como fotográfico de los niveles de nitritos, nitratos y fosfatos de los bioensayos con *Chlorella vulgaris*?
- ☉ ¿Cuál es la utilidad de los bioensayos?
- ☉ ¿Por qué son necesarias las réplicas?

## **Bibliografía**

Ávila, R.; Pedro G.; Pech. G.; Sandoval, C.; Torres, F. (2019). Bioensayos in vitro de relevancia en las ciencias biológicas y agropecuarias. Disponible en: <https://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/BAC/article/download/2968/1305>

Correa, F (2006). Manual De Laboratorio De Bioensayos. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/328492843\\_MANUAL\\_DE\\_LABORATORIO\\_DE\\_BIOENSAYOS](https://www.researchgate.net/publication/328492843_MANUAL_DE_LABORATORIO_DE_BIOENSAYOS)

Ronco, A.; Díaz, M.; Granados, Y. (2014). Conceptos Generales. Disponible en: [https://www.entrierios.gov.ar/ambiente/userfiles/files/archivos/Libro%20Aguas\(1\).pdf](https://www.entrierios.gov.ar/ambiente/userfiles/files/archivos/Libro%20Aguas(1).pdf)