

MANTENIMIENTO DE CEPAS Y PRODUCCION MASIVA DE LAS MICROALGAS *Chlorella* sp, EN EL LABORATORIO OMAR BARONA DE LA UNIVERSIDAD DEL PACIFICO.

KAROL YULIED VANEGAS BONILLA



UNIVERSIDAD DEL PACÍFICO  
PROGRAMA DE TECNOLOGÍA EN ACUICULTURA  
BUENAVENTURA, COLOMBIA  
2023

MANTENIMIENTO DE CEPAS Y PRODUCCION MASIVA DE LAS MICROALGAS *Chlorella* sp, EN EL  
LABORATORIO OMAR BARONA DE LA UNIVERSIDAD DEL PACIFICO.

KAROL YULIED VANEGAS BONILLA

Tesina presentada como requisito para optar al título de: Tecnólogo en Acuicultura

Director (a):

Biólogo. GIOVANNI ORLANDO GOMEZ CERON

Codirector (a):

JESUS HERNANDO GAMBOA DCROZ  
BIOLOGO ENFASIS EN ZOOLOGIA

Línea de investigación

Producción de alimento vivo

UNIVERSIDAD DEL PACÍFICO  
PROGRAMA DE TECNOLOGÍA EN ACUICULTURA  
BUENAVENTURA, COLOMBIA

---

2023

## **DEDICATORIA**

Primeramente dedicar este tan anhelado triunfo a Dios que gracias a su misericordia pude llegar hasta aquí, a mis padres en especial a mi madre Yuli Samira Bonilla por no dejarme sola durante este proceso que sin duda alguna fue muy importante para mí el apoyo incondicional que recibí, a mis amigos y familiares ya que muchos de ellos fueron una parte fundamental para que pudiera alcanzar mi meta por darme fuerzas y consejos para que si en algún momento pensé renunciar no llegara hacerlo y seguir luchando por mi objetivo.

---

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente, agradecerle a Dios por darme la fuerza y fortaleza para que este momento tan importante para mí llegara, a mis padres por el apoyo incondicional que recibí, a mis compañeros y familiares que de una u otra manera hicieron parte de mi proceso, a todo el cuerpo directivo del programa y docente en especial a los profesor Giovanni Gómez y Jesús Hernando Gamboa por su entrega, dedicación y paciencia que tuvieron conmigo para que todo esto fuera posible, a la empresa INGENIERÍA AMBIENTAL S.A.S por la oportunidad de realizar mi pasantía con ellos y poder cumplir con mi objetivo al coordinador del laboratorio Carlos Alberto Quiroz porque desde el primer día siempre estuvo dispuesto a brindarme su apoyo y conocimiento el cual fue muy valioso para mí, y todo el resto del personal también fueron muy importantes durante mi tiempo de pasantía. Sin lugar a dudas el apoyo de cada una de las personas que estuvieron en mi proceso fue muy importante para alcanzar mi meta.

---

## RESUMEN

Las micro algas, también llamadas fitoplancton, son algas planctónicas eucarióticas unicelulares pertenecientes a varios grupos taxonómicos. Abajo están citadas las microalgas cultivadas en el laboratorio Omar Barona. En acuicultura, el fitoplancton se usa directamente para alimentar moluscos y larvas de crustáceos e indirectamente para cultivar el zooplancton en el cual se basa la primera alimentación de las larvas de peces. Los beneficios de las micro algas en la cría de larvas de peces no están limitados a su papel original de alimentar zooplancton, lo cual podría ser ahora reemplazado por dietas artificiales y levadura *Saccharomyces cerevisiae* en los pasos finales del cultivo masivo. Está generalmente aceptado ahora que las larvas de pescado se benefician indirectamente de la presencia de especies seleccionadas de fitoplancton en los tanques durante los primeros días de la cría, donde actúan como estímulo inmunológico y como acondicionadores de la calidad del agua, limitando el desarrollo de bacterias y reduciendo la carga de N y P el cultivo de este alga en el laboratorio Omar Barona se realiza en medios de cultivo líquidos por volúmenes en los que buscamos regular las condiciones de cultivo como por ejemplo. Temperatura, pH, intensidad lumínica, velocidad de aireación, adición de CO<sub>2</sub> y concentración de diversos nutrientes.

Palabras clave: *Plantónicas, unicelulares, taxonómico, volúmenes*

---

## ABSTRACT

Microalgae, also called phytoplankton, are unicellular eukaryotic planktonic eukaryotic algae belonging to various taxonomic groups. Below are the microalgae cultivated in the Omar Barona laboratory. In aquaculture, phytoplankton is used directly to feed mollusks and crustacean larvae and indirectly to grow the zooplankton on which the first feeding of fish larvae is based. The benefits of microalgae in fish larval rearing are not limited to their original role of feeding zooplankton, which could now be replaced by artificial diets and *Saccaromyces cerevisiae* yeast in the final steps of mass culture. It is now generally accepted that fish larvae benefit indirectly from the presence of selected phytoplankton species in the tanks during the first days of rearing, where they act as an immune stimulus and as water quality conditioners, limiting bacterial growth and reducing N and P load the culture of this algae in the Omar Barona laboratory is performed in liquid culture media by volumes in which we seek to regulate culture conditions such as. Temperature, pH, light intensity, aeration speed, CO<sub>2</sub> addition and concentration of various nutrients.

Key words: *planktonic, unicellular, taxonomical, volumes*

---

## CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	1
1. FORMULACIÓN O PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	2
2. OBJETIVOS.....	3
2.1 OBJETIVO GENERAL .....	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	3
3. MARCO TEÓRICO.....	4
3.1 GENERALIDADES DE LAS MICROALGAS .....	4
3.2. EL CULTIVO DE MICROALGAS. ....	4
3.4 FACTORES LIMITANTES DE LA PRODUCCION DE MICROALGAS.....	5
3.4 MEDIOS DE CULTIVO. ....	8
3.5 GENERALIDADES DE LA MICROALGA <i>CHLORELLA</i> SP .....	9
4 METODOLOGÍA.....	11
4.1 INSTALACIONES Y EQUIPOS.....	11
4.2 PRODUCCION DE MICROALGAS.....	13
4. RESULTADOS .....	15
4.1 PRODUCCIÓN DE MICROALGAS EN EL LABORATORIO OMAR BARONA DE LA UNIVERSIDAD DEL PACIFICO. ....	15
4.2 PASOS para la produccion de microalgas en el laboratorio.....	15
4.3 ESQUEMA DE LA DINÁMICA DEL CULTIVO DE MICROALGAS .....	17
4.4 MONITOREO a los recipientes de cultivo .....	21
4.5 CANTIDADES DE MICROALGAS <i>Chlorella sp</i> , PRODUCIDAS EN EL PERIODO DE PASANTÍA.....	21
4.6 PRODUCCIÓN MASIVA DE MICRO ALGAS .....	23
5 DISCUSIÓN.....	27
6 CONCLUSIONES.....	28
BIBLIOGRAFÍA .....	29
7 ANEXOS.....	30

---

## Lista de Tablas

Tabla 1 Requerimientos de nutrición principales de los cultivos de microalgas.....	8
Tabla 2 Manejo del mantenimiento de cepas de micro alga Chlorella, para el mes de marzo del 2023 .....	22
Tabla 3 Manejo del mantenimiento de cepas de micro alga Chlorella, para el mes de abril del 2023 .....	22
Tabla 4 Manejo del mantenimiento de cepas de micro alga Chlorella, para el mes de mayo del 2023.....	23
Tabla 5 Producción de micro alga Chlorella en el laboratorio en el mes de marzo, para la alimentación de rotíferos, copépodos y pulgas de agua en cantidades que permita utilizar en una eventualidad de realizar una reproducción de peces posterior larvicultura. ....	24
Tabla 6 Producción de micro algas en el laboratorio en el mes de abril, para la alimentación de rotíferos, copépodos y pulgas de agua en cantidades que permita utilizar en una eventualidad de realizar una reproducción de peces posterior larvicultura. ....	25
Tabla 7 . Producción de micro algas en el laboratorio en el mes de mayo para la alimentación de rotíferos, copépodos y pulgas de agua en cantidades que permita utilizar en una eventualidad de realizar una reproducción de peces posterior larvicultura .....	26



---

## Lista de Figuras

Figura 1 Chlorella sp.....	9
Figura 2 Localización del CIAPHVP .....	11
Figura 3 Laboratorio Omar Barona de la Universidad del Pacifico.....	12
Figura 4 Lavado y desinfección de vidriería .....	16
Figura 5 Esterilización de vidriería .....	16
Figura 6 Esterilización del agua de mar y vidriería .....	17
Figura 7 Cepas de las microalgas de estudio en cajas de Petri y tubos de ensayo .....	19
Figura 8 producción de inóculos intermedios. ....	20

---

## INTRODUCCIÓN

A nivel mundial la acuicultura es el cultivo controlado o semi-controladas de organismos acuáticos manejado con fines comerciales, cuyo motivo principal es satisfacer la demanda de alimentos generada por la población. Esto conlleva a incrementar la producción acuícola, llevando a cabo la productividad masiva de fitoplancton que se usa directamente para alimentar moluscos, larvas de crustáceos y peces e indirectamente siendo de vital importancia para el cultivo de zooplancton como cladóceros, copépodos y rotíferos, dado que en este se basa la primera alimentación de los primeros días de las larvas de peces tanto de agua marina como de agua dulce, donde actúan como estímulo inmunológico y como acondicionadores de la calidad del agua.

Son llamadas microalgas a una gran cantidad de especies que constituyen el fitoplancton que abarca desde organismos autótrofos hasta microflagelados y microciliados auxotrofos. Estas tienen una función importante en la naturaleza; representan la productividad primaria en ambientes acuáticos, su desaparición significaría la ausencia de la primera fuente de alimento y energía para los animales acuáticos. Además, aportan el oxígeno durante el día y sus contenidos nutritivos de alta calidad e incluso como aditivos para la alimentación de organismos asociados a ellas.

*Chlorella sorokiniana* es una microalga con alto potencial biotecnológico por su capacidad de sintetizar ácidos grasos de interés industrial, rápido crecimiento y capacidad de adaptación a diferentes fuentes de nutrientes tanto en regímenes autotróficos como mixotróficos e inclusive heterotróficos. (Ortiz Moreno, Cortés Castillo, Sánchez Villarraga, Padilla, & Otero Paternina, 2012)

Por todo lo anterior, es importante documentar los procesos que se realizan en el mantenimiento de las cepas puras y producción masiva de las microalgas en el laboratorio Omar Barona, evaluando el sostenimiento en el laboratorio de las diferentes cepas que cuenta el laboratorio y las cantidades producidas en el tiempo que son utilizadas para la alimentación de los diferentes organismo zoo plantónicos (copépodos, cladóceros), utilizados en la alimentación de las larvas de peces cultivadas, como también en el manejo de la calidad del agua (larvicultura en agua verde), en los procesos de la cría de las diferentes larvas de peces reproducidos en el laboratorio Omar Barona.

---

## 1. FORMULACIÓN O PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La incidencia de la salinidad, pH y productividad en un cultivo de *Chlorella vulgaris* en un fotobiorreactor de placa plana, la evaluación de las incidencias se hizo teniendo en cuenta tres criterios de selección, pero antes de llegar a los tres criterios se hizo una fase de selección de condiciones teniendo en cuenta cuatro concentraciones de salinidad y cuatro rangos pH obtenidos en estudios anteriores, al tener en cuenta las curvas de crecimiento, la productividad volumétrica y el análisis estadístico se seleccionan las dos mejores condiciones de salinidad y nivel de pH y son llevadas al fotobiorreactor en donde se selecciona la mejor condición para determinar el perfil de ácidos grasos y encontrar la debida aplicación. (Rubio Fernandez & Hernandez, 2017)

La acuicultura es el cultivo controlado o semicontrolado de organismos acuáticos para fines comerciales, cuyo motivo principal es satisfacer la demanda de alimentos generada por la población, por esta razón, las microalgas tienen un valor muy importante, ya que, la producción acuícola, en su mayoría cubre de sobrevivencia en las larvas de peces en cultivo.

Las microalgas se emplean como alimento teniendo en cuenta la calidad nutricional, puesto que representan la base de la cadena alimenticia en al menos en una etapa de desarrollo de los organismos cultivados, ya sea directamente en moluscos, larvas de crustáceos y peces o bien en organismos intermediarios, como rotíferos, copépodos o artemia. Por lo tanto, es importante que las microalgas no sean tóxicas, posean una pared que sea fácilmente digerible y a su vez tengan un tamaño adecuado al momento de la ingesta según la especie a alimentar, por esto se realiza cultivos de los tipos de microalgas preferidas de mayor valor alimenticio que satisfagan las necesidades nutricionales de los organismos de cultivo.

---

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GENERAL

Realizar la producción masiva de micro algas, para ser usados como alimento a los organismos zoo plantónicos (Rotíferos, Copépodos, Artemia) y como agua verde en la larvicultura de peces de agua dulce en del laboratorio Omar Barona del Centro de Investigación en Acuicultura y Pesca Henry Von Prahel de la Universidad del Pacífico.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Mantener las condiciones óptimas del hábitat, para el crecimiento de cepas de microalgas, valorando condiciones de diseño y de operación como lo son: temperatura, presión, flujos, agitación, tiempo de residencia, luminosidad y cantidad de nutrientes, en laboratorio.
- Realizar el cultivo intermedio de microalgas en condiciones de laboratorio que permita una adecuada producción para la continuación de las producciones a gran escala en el laboratorio.
- Realizar la producción masiva de micros algas que garanticen un suministro permanente, y confiable para la alimentación de cladóceros, copépodos y agua verde en la larvicultura de peces

---

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 GENERALIDADES DE LAS MICROALGAS

El fitoplancton constituido por microalgas representa el punto de partida de una cadena alimenticia planctónica de la cual constituye el escalón de producción primaria: los filtradores planctónicos (larvas de moluscos, rotíferos, copépodos, artemia) o los filtradores bénticos (moluscos), constituyen el primer nivel de consumo (herbívoros); las larvas de algunos peces marinos o de crustáceos que consumen rotíferos y artemia son carnívoros, representando un segundo nivel de consumo. (BERNABÉ, G. 2017)

las microalgas poseen una capacidad ficorremediadora 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 cosecha. Esta capacidad resulta en un sistema de cultivo con 2 propósitos: eliminación de contaminantes y producción de biomasa con fines comerciales. Ambos objetivos dependen del sistema de cultivo, la o las especies cultivadas y los factores ambientales. La utilización de medios contaminados en el cultivo impacta directamente en los costos de producción. (Hernández Pérez & Labbé, 2014)

#### 3.2. EL CULTIVO DE MICROALGAS.

los cultivos pueden ser monoalgales o plurialgales, generalmente una sola especie es incapaz de satisfacer todos los requerimientos nutritivos de la especie a alimentar y por ello se utilizan mezclas de diferentes especies algales, siendo a la vez esta una solución más económica y reproducible.

- Posibilidad de obtención d abundante biomasa que implica elevadas tasas de división celular y facilidad de alcanzar y mantener elevadas densidades de cultivo.
- Cualidades nutritivas constantes y repetitivas, siempre que las condiciones de cultivo sean las mismas. Han de soportar variaciones ambientales durante el crecimiento y las características adecuadas se buscan haciendo un estudio sistemático de la naturaleza (diferentes especies o variedades geográfica) o bien mediante inducción y selección de los mutantes apropiados.
- Ausencia de emisión de metabolitos tóxicos y que puedan crecer en ausencia de bacterias y/o otros parásitos para su posterior utilización.
- Pared celular fina, propicia a una fácil digestibilidad

- 
- Obtención sencilla y a bajo precio, que no precise de sistemas sofisticados ni de nutrientes caros y en exceso.
  - Dimensión de las células.

### 3.4 FACTORES LIMITANTES DE LA PRODUCCION DE MICROALGAS

Condiciones de laboratorio para cultivo de microalgas: El crecimiento microalga se rige por la ley del mínimo es decir el factor limitante del crecimiento es aquel que está presente en cantidades más próximas al mínimo crítico necesario para la microalga. Es importante conocer las condiciones óptimas

Factores físicos: Los principales factores físicos a tener en cuenta en el cultivo de algas, son de la siguiente manera:

- Luz: La condición óptima para el crecimiento del fitoplancton dependerá de la intensidad de luz, de la duración y de la longitud de onda a las cuales las células algales están expuestas. Para esto, salas con luminosidad controlada pueden ser utilizadas para el crecimiento de los cultivos y en la ausencia de luz los cultivos deben ser colocados junto a las ventanas.

Estos mismos autores agregan que para la preservación de las algas, lo ideal es una fluorescencia entre 530 y 1.000 lux para crecimiento lento no habiendo necesidad de replicar por un periodo de tres meses a un año, dependiendo de la especie. De esta manera, la luz blanca fluorescente es la más utilizada en estos casos, puesto que la luz incandescente o solar directa puede causar problemas a los cultivos debido al calor que liberan.

Es así que esta misma autora recomienda que el fotoperiodo sea de 12 horas de oscuridad y 12 horas de luz o 8 horas de oscuridad y 16 horas de luz, dependiendo de las líneas de cultivo y el fotoperiodo al cual estuvieron previamente aclimatadas. De acuerdo con el tipo de cultivo deseado, puede ser empleado las siguientes intensidades luminosas:

- Cultivo Stock 1.000 lux
- Trabajos de fisiología 3.500 lux
- Cultivos en larga escala (10L) 5.200 lux
- Temperatura. Es uno de los factores que más afecta la tasa metabólica de los organismos. los óptimos de temperatura para el crecimiento de muchos de los organismos del fitoplancton, marinos y de agua dulce, están dentro del límite de 18 a 25°C, aunque las formas de aguas frías tienen generalmente óptimas menores.

Cuando se pretende transferir el inoculo algal de la sala de cultivo para un cultivo en larga escala, se recomienda que la transferencia sea realizada en horas de la mañana, con el fin de evitar el estrés que podría ser causado por los cambios de temperatura, por lo tanto, la temperatura

---

constante es deseable para realizar un cultivo y puede ser obtenida por la instalación de aire acondicionado, el cual mantienen una temperatura aproximadamente constante, con variaciones de más o menos 1 °C.

- Aireación: Se debe utilizar aireación directa con aire comprimido para volúmenes mayores que un litro, siendo que, para volúmenes menores, los intercambios gaseosos entre el tamaño de la tapa y la superficie del cultivo son suficientes. En Erlenmeyer de 1,0 L el volumen ideal del cultivo es de aproximadamente 400 mL, con un máximo de 500 mL.

- 

Factores químicos. Los factores químicos a tener en cuenta son:

- Salinidad. La tolerancia a la salinidad es bastante amplia entre 12-40‰, con un óptimo hacia 20‰, dependiendo la respuesta a sus variaciones de la concentración relativa del alga
- 
- pH. Con el desarrollo de un cultivo de algas el pH aporta al crecimiento del cultivo (fotosíntesis) se llegan a valores superiores a 9,0 y esto repercute en el crecimiento del cultivo mismo.
- CO<sub>2</sub>. Para los cultivos muy densos, el gas carbónico aportado por el aire burbujeado no es suficiente, siendo conveniente añadir u aporte de gas carbónico (por ejemplo 1% del volumen de aire). Sin embargo, según la edad del cultivo, el reglaje del aporte de gas carbónico es a veces delicado y se corre el riesgo de producir metabolitos tóxicos en cultivo que ocasionen daños mayes al cultivo algar.
- 
- Oxígeno. Las variaciones de la concentración de oxígeno no son mayores cerca de la superficie que en el fondo debido a la sombra que las capas superiores hace sobre las inferiores. En un estanque el oxígeno puede ser mayormente producido en las capas de aguas inferiores si las densidades fitoplanctónicas son bajas.

Los cultivos en stock no deben ser aireados o agitados, sin embargo, deben ser mantenidos vivos. Obteniéndose así, un crecimiento moderado, evitándose la replicación constante. Para cultivos de gran escala, la aireación directa del medio es indispensable, puesto que la corriente de aire enriquece al medio con CO<sub>2</sub>, sin embargo, el aire contiene solo 0,03% de carbono. Así las células son mantenidas en suspensión, el suministro de carbono inorgánico es asegurado y el pH, estabilizado. La agitación producida por un flujo gaseoso permite la manutención de las células en suspensión, asegurando condiciones idénticas de crecimiento para todas.

Requerimientos Nutricionales: La mayoría de grupos de algas son fotoautótrofos, lo que quiere decir que su metabolismo depende del aparato fotosintético, usando la luz solar como recurso de energía y el CO<sub>2</sub> como recurso de carbono para la producción de carbohidratos Entre los más importantes requerimientos nutritivos para el cultivo de microalgas son:

---

Las microalgas necesitan de CO<sub>2</sub>, minerales (N, P, S, K, Mg), trazas de metales (Fe, CO, Cu, Zn) y vitaminas, pero algunas utilizan el nitrógeno atmosférico y otras no necesitan vitaminas.

Podemos distinguir dos grupos de elementos minerales:

- Macronutrientes, que se usan directamente o indirectamente para fabricar los compuestos orgánicos de las células y son H, C, O N, P, S, K, Mg.
- 
- Micronutrientes, que actúan como catalizadores o reguladores y que dependerán de la especie, Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, V, B, Cl, Co, Ca, Si, Na.

Por macronutrientes se consideran la fuente de nitratos fosfatos y en el caso de las diatomeas la adición de silicatos, con respecto a los micronutrientes son aquellos que se suministran en poca cantidad trazas en comparación con los anteriores mencionados, pero no por ello menos importantes, se sabe que en soluciones alcalinas algunos metales se precipitan agentes quelantes tales como el EDTA (ácido etilen diamino tetracético) que se utiliza para mantener con vida por más tiempo el alga

En el laboratorio se utilizan los macro y micronutrientes existen otras sustancias que son requeridas por las microalgas para obtener mejor crecimiento. La mayoría de las microalgas son auxotróficas esto es que no son capaces de sintetizar todas las vitaminas necesarias y tienen que asimilarlas del medio. La tiamina (B1) la cianocobalamina (B12) y la biotina (B6) son consideradas esenciales para la mayoría de las microalgas, de hecho, se ha estimado que cerca del 70 % de todas las microalgas planctónicas requieren de cianocobalamina B12, para proporcionar estos nutrientes se debe seleccionar el medio de cultivo que se va a utilizar.

Las fuentes de nitrógeno inorgánico son las sales de amonio o nitratos, algunas, algunas especies pueden utilizar el nitrógeno orgánico en forma de ácido úrico, urea y aminoácidos.

Además del control de los parámetros antes mencionados es necesario considerar que para el establecimiento de un sistema de producción de alimento vivo es importante el dominio de las técnicas de aislamiento, purificación y mantenimiento de cepas, así como el conocimiento de la fisiología, ciclo de vida, bioquímica, etc., de las especies para determinar su factibilidad de cultivo y sobre todo su contenido nutricional para poder llevarse a niveles masivos de producción para fines acuicultura les (FAO 2017)

Dentro de los requerimientos químicos necesarios para un buen crecimiento de las microalgas en cultivo se encuentran entre otras cosas el balance entre los macronutrientes específicos y los micronutrientes, un desbalance en la proporción suministrada de estos nutrientes invariablemente se manifiesta ya sea como un descenso en el crecimiento o hasta la detención de este. (FAO 2017)



**Tabla 1 Requerimientos de nutrición principales de los cultivos de microalgas**

	Requerimientos	Compuestos químicos	Valores
Físicos	Luz		2000 – 4000 lux
	Temperatura		15 – 22°C
Químicos	Salinidad		0 - 37‰
	pH		7 – 9
Nutritivos	C	CO <sub>2</sub> , CO <sub>3</sub> <sup>=</sup>	g/100ml
	O, H	O <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O	g/100ml
	N	N <sub>2</sub> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	g/100ml
	P	PO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	g/100ml
	S	SO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	g/100ml
	Na, K, Ca, Mg	Sales	g/100ml
	Fe, Zn, Mn, B, Br, Si	Sales	mg/100ml
	Cu, Co, Cl, I, Sr, Rb, Al, etc.	Sales	mg/100ml
	Vitaminas	B <sub>12</sub> , tiamina, biotina	mg/100ml

COLL, Julio. Acuicultura marina: marina animal. Madrid, España: Mundi prensa, 1991. p. 336

### 3.4 MEDIOS DE CULTIVO.

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. (FAO 2017)

Los medios artificiales se usan principalmente para fines experimentales, ya que como se ha mencionado, brinda resultados constantes, aunque existen algunas especies que no crecen en medios artificiales por factores desconocidos que afectan su crecimiento.

Para la producción de microalgas a nivel comercial se usa el agua de mar enriquecida con fertilizantes agrícolas (Urea, Fosfato triple, Nitrato de Amonio, etc.) (FAO 2017).

Los medios de cultivo para el crecimiento de las algas generalmente son preparados a partir de soluciones stock previamente mezcladas. La adición de esas soluciones son medidas y agregadas a un volumen dado de agua. En algunos casos los componentes indicados son pesados y agregados directamente al volumen de agua, quedando así preparado el medio. Los procedimientos incorrectos pueden causar precipitaciones, especialmente nitratos y fosfatos. Las soluciones stock pueden prepararse y almacenarse en frío por largo tiempo, para lo cual se recomienda el uso de recipientes con tapa de vidrio. Todas estas soluciones deben prepararse con agua destilada.

Las principales formulaciones de los medios de cultivo, tanto de mantenimiento de cepas como de producción masiva (minerales, enriquecidos y orgánicos) se pueden ver en el Anexo A.

---

los medios de cultivo se pueden describir como:

- Indefinidos. Medios de cultivo compuestos a partir de agua dulce, enriquecidos con sustancias orgánicas e inorgánicas no determinadas, como por ejemplo extracto de suelo.
- 
- Semidefinidos. Semejantes al anterior, entretanto, la composición de las sustancias inorgánicas es conocida.
- Definidos. Medios preparados a partir de agua destilada, a la cual son adicionados los nutrientes, de acuerdo con los diferentes medios.

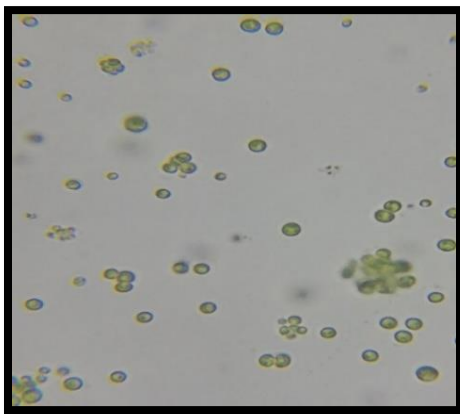
### 3.5 GENERALIDADES DE LA MICROALGA *CHLORELLA* SP

Genero *Chlorella* sp: El género *Chlorella* es cosmopolita y por tanto se adapta a diversas condiciones ambientales y nutricionales pudiendo ser encontrada en el fitoplancton de estanques y lagos, colonizando el suelo o como simbiote en protozoos ciliados.

La *Chlorella* sp., es un alga verde de forma elipsoidal, la cual crece en forma de células simples. Pertenecce a la división Chlorophyta y a la clase de las Chlorophyceae. Se ha cultivado de forma intensiva con fines de alimentación y obtención de metabolitos.

Se trata de un alga esférica, unicelular, eucariota y que presenta clorofila a y b. Vive en medios marinos, en el agua dulce e incluso en suelos encharcados.

**Figura 1** *Chlorella* sp.



Fuente: Vanegas Karol 2023

El mismo autor resalta que la clasificación taxonómica para el género *Chlorella* es la siguiente:

**Reino:** Plantae  
**Filo:** Chlorophyta  
**Clase:** Trebouxiophyceae  
**Orden:** Chlorellales

---

**Familia:** Chlorellaceae

**Género:** Chlorella

La reproducción se da por autosporas liberadas a través del rompimiento de la pared celular de la madre. La célula hija puede permanecer unida a los restos de la pared celular de la madre y forman colonias con recubrimiento mucilaginoso

## 4 METODOLOGÍA

El presente trabajo de pasantía se realizó en el laboratorio Omar Barona, se encuentra dentro de las instalaciones del Centro de Investigación en Acuicultura y Pesca Henry Von Prah! de la Universidad del Pacífico (C.I.P.A), localizado en el departamento del Valle del Cauca, municipio de Buenaventura, corregimiento de Sabaletas, a un lado del rio Anchicayá, instalado en un laboratorio remodelado y ampliado en su infraestructura, dotado de los materiales y equipos necesarios por la empresa de energía EPSA para el desarrollo de un programa de cría de especies ícticas nativas en cautiverio, dicho laboratorio se encuentra a 20 km del casco urbano de la ciudad de Buenaventura en las coordenadas geográficas 3°44'38.8" Norte y 76° 58' 05" Oeste, teniendo acceso por vía terrestre, con una temperatura en promedio de 26 °C.

**Figura 2 Localización del CIAPHVP**



*Fuente: Vanegas Karol 2023*

### 4.1 INSTALACIONES Y EQUIPOS

Laboratorios: Cuenta con un área total de 140,60 m<sup>2</sup>, en infraestructura física de producción e investigación distribuidas de la siguiente forma:

- 6,36 m<sup>2</sup> Sala de cultivos e inóculos menores.
- 8,88 m<sup>2</sup> sala de cultivos intermedios.
- 2,2 m<sup>2</sup> sala de esterilización de vidriería.
- 123,16 m<sup>2</sup> laboratorios, oficinas y habitaciones.

La investigación se realizó en los laboratorios de microalgas de mantenimiento de cepas e inóculos menores y cultivos intermedios.

**Figura 3 Laboratorio Omar Barona de la Universidad del Pacifico**



*Fuente: Vanegas Karol 2023*

Materiales: Portaobjetos, cubreobjetos, pipetas Pasteur, cajas de Petri, tubos de ensayo de 10 ml, pinzas, pipetas aforadas de 2 - 10 ml, pitillos, autoclave, olla a presión de 6 litros, olla esmaltada de 10 litros, beakers, Erlenmeyer de 250 ml, 500 ml y 3 litros, mechero de alcohol, cilindros en acrílico de 90 litros, piedras difusoras, probetas, termómetros, estufa de energía, lámparas fluorescentes, manguera de aire de 1", plomos, escobas, cepillos, pañuelos absorbentes, papel aluminio, poncheras plásticas, baldes de 12 litros, tubería de conducción de aire de 1" y 2"

Insumos: Hipoclorito de calcio, hiposulfito de sodio, F/2 de Guillard®, Bristol®, Kent marine pro-culture®.

Equipos:

Balanza analítica, 0,001 a 310 g, marca OHAUS (pioneer).

- Microscopio (Van Guard).
- Electrobombas sumergibles de 2 HP
- Cámara Neubauer
- YSI, profesional series Pro 20 (*Bright-Line® Hemacytometer*).
- pHmetro, combo by Hanna (wáter proof).
- Estufa
- Nevera HACEB
- Computador HP stream 360
- Blower de 2 HP
- Aire acondicionado

---

## 4.2 PRODUCCION DE MICROALGAS

Preparación de materiales y equipos. Todos los utensilios utilizados en los cultivos de algas deben ser cuidadosamente lavados y enjuagados buscando la mejor la asepsia en este.

La vidriería para cultivo y utensilios tales como pipetas y beaker que se utilizan deben ser resistentes al calor de la esterilización. Usualmente se utilizan marcas tales como PYRES, SCHOTT DURAN o cualquier otra vidriería que pueda ser esterilizada en calor y presión de una autoclave.

Preparación del medio de cultivo. En la producción a gran escala de plancton, el agua es el medio de todos los vasos de cultivo. Con este objetivo en mente, el agua se trata para eliminar los sólidos en suspensión, contaminantes y organismos y para mejorar sus parámetros originales de modo que se ajusten a los estándares de calidad establecidos para el adecuado crecimiento de microalgas.

Enriquecimiento del medio de cultivo. El crecimiento exponencial de las poblaciones de microalgas se regula mediante cuatro parámetros principales: luz, pH, turbulencia y nutrientes. Mientras los tres primeros pueden ajustarse fácilmente, los nutrientes específicos deben ser añadidos al medio de cultivo en cantidades apropiadas.

Los principales nutrientes requeridos son nitrógeno (N) y fósforo (P), seguidos de minerales y vitaminas.

Cultivo por lotes de microalgas. El cultivo masivo de fitoplancton comienza desde las cepas puras de especies seleccionadas y continúa aumentando la escala desde volúmenes pequeños (0.01 L), hasta grandes volúmenes en bolsas de PE o tanques (2.000 L o más).

Conservación de cepas. El cultivo de cepas puras de las especies de microalgas seleccionadas es el punto de comienzo de los procesos de producción masiva. La calidad de la cepa, es por tanto esencial para cualquier proceso de producción satisfactorio.

Aumento de escala de cultivos. Como se indica arriba el aumento de escala de la producción de microalgas empieza en pequeños recipientes (0.01 ml) y continua a través de varios pasos hasta la producción masiva en bolsas o tanques. Cada paso supone un aumento en el volumen de cultivo: cuando está maduro (esto es, en la fase log), la población de algas de un volumen más pequeño se divide para replicar el mismo vaso e inocular vasos mayores.

Producción de inóculos menores. El cultivo se realiza por inóculos sucesivos a partir de inóculos menores de micro algas desde tubos de ensayo de 20 ml a Erlenmeyer de 200 ml, después al cabo de unos días se trasladan a Erlenmeyer de 500 ml, después este inóculo servirá para abastecer varios Erlenmeyer de 500 ml que posteriormente servirán para abastecer a Erlenmeyer de 3 litros.

Diariamente se efectuarán controles sistemáticos, especialmente de pH.

---

Producción de cultivo de algas en volumen intermedios (tanques de cilindros de acrílicos). Para la producción en cilindros, se necesita un lugar más amplio que el área de cepas debido a que los volúmenes de cultivo manejados en esta área son de mayor capacidad utilizando 90 L, Para los volúmenes de 90 L se utilizan recipientes cilíndricos en acrílico transparente que permitan el buen paso de la luz

Producción de cultivo de algas en tanques de masivos. Este sitio se maneja completamente al exterior, se utiliza como techo de cubierta transparente para proteger los tanques de cultivo y dejar pasar la luz solar. Se pueden utilizar tanques en fibra de vidrio rectangulares con no más de 0.7 m de altura con color blanco de pintura epoxica. El volumen de cultivo puede variar desde los 2 m<sup>3</sup>. Hasta los 12 m<sup>3</sup>.

Monitoreo a los recipientes de cultivo. Diariamente se realizarán controles de los cultivos, preferiblemente en todos los tanques, tanto de productividad (densidad celular o densidad óptica) y las observaciones al microscopio de los cultivos, que se registrarán en el control diario de los cultivos, determinando ciertos factores como pH, oxígeno disuelto, contaminación y concentración

---

## 4. RESULTADOS

### 4.1 PRODUCCIÓN DE MICROALGAS EN EL LABORATORIO OMAR BARONA DE LA UNIVERSIDAD DEL PACIFICO.

Para el mes de marzo, abril y mayo del 2023, en el laboratorio Omar Barona de la Universidad del Pacífico, donde se realizó la pasantía en el acompañamiento en la investigación para determinar los protocolos de reproducción de algunas especies de peces nativos que se viene ejecutando dentro del Convenio No **226-2013 EPSA /UNIPACIFICO**

y que permite desarrollar el proyecto *“Cría de especies ícticas en cautiverio en las instalaciones del Centro de Investigación y Producción Acuícola Henry Von Prael de la Universidad del Pacífico”* financiado por la Empresa de Energía del Pacífico-EPISA y ejecutado por GAIA ingeniería Ambiental S.A.S, mediante el contrato No EP-CO-169-2016.

El proyecto está orientado a la producción de juveniles de peces que finalmente servirán para realizar un programa de repoblamiento en el río Anchicaya y para la obtención de los juveniles de peces dependen en gran medida de la alimentación larval.

El acompañamiento en las actividades para el desarrollo de las investigaciones estuvo orientado en la producción de microalgas.

La producción de algas en el laboratorio Omar Barona está basadas en el cultivo de lotes mono específicos, donde se aumenta la escala de los cultivos de algas en contenedores cada vez mayores hasta que son cosechadas. Se está utilizando este método por considerarlo más fiable que los métodos de cultivo continuo o semi-continuo, debido al riesgo más limitado de fracaso en los cultivos, una fácil estandarización de los procedimientos de cultivo y una inversión reducida, si se compara con los otros métodos.

### 4.2 PASOS PARA LA PRODUCCION DE MICROALGAS EN EL LABORATORIO

Preparación de materiales y equipos. Todos los utensilios utilizados en los cultivos de algas deben ser cuidadosamente lavados y enjuagados buscando la mejor la asepsia en este, por esta razón el procedimiento es el siguiente.

Todos los utensilios utilizados para la producción de algas (Balde, Botellones, frascos, tubos de ensayos, mangueras, piedras aireadoras, pipetas, etc.), son lavados en una solución de hipoclorito de sodio al 150 ppm por un tiempo de 20 minutos y luego enjuagada vigorosamente en agua clorada y neutralizada con hiposulfito de sodio (1 ml. de hipoclorito de sodio y 1 ml de hiposulfito de sodio).



**Figura 4 Lavado y desinfección de vidriería**



*Fuente: Vanegas Karol 2023*

Los tubos de ensayos, los frascos de repique hasta 500 ml, pipetas, son esterilizados en autoclave.

La vidriería para cultivo y utensilios tales como pipetas y beaker que se utilizan deben ser resistentes al calor de la esterilización. Usualmente se utilizan marcas tales como PYRES, SCHOTT DURAN o cualquier otra vidriería que pueda ser esterilizada en calor y presión de una autoclave.

**Figura 5 Esterilización de vidriería**



Fuente:

*Vanegas Karol 2023*

Preparación del medio de cultivo. En la producción a gran escala de plancton, el agua es el medio de todos los vasos de cultivo. El uso de otros medios tales como agar están limitado a la conservación de cepas puras de algas. Idealmente el agua debe estar libre de patógenos y contaminantes. Con este objetivo en mente, el agua se trata para eliminar los sólidos en

---

suspensión, contaminantes y organismos y para mejorar sus parámetros originales de modo que se ajusten a los estándares de calidad establecidos para el adecuado crecimiento de microalgas.

**Figura 6 Esterilización del agua y vidriería**



*Fuente: Vanegas Karol 2023*

Enriquecimiento del medio de cultivo. El crecimiento exponencial de las poblaciones de microalgas se regula mediante cuatro parámetros principales: luz, pH, turbulencia y nutrientes.

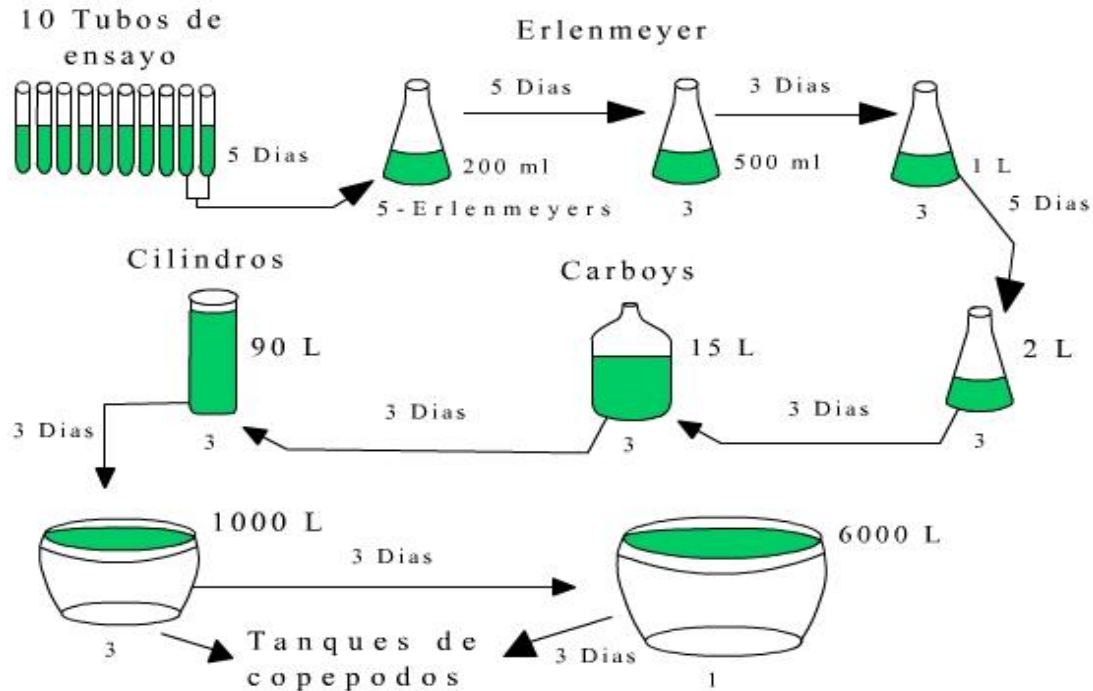
Mientras los tres primeros pueden ajustarse fácilmente, los nutrientes específicos deben ser añadidos al medio de cultivo en cantidades apropiadas.

Los principales nutrientes requeridos son nitrógeno (N) y fósforo (P), seguidos de minerales y vitaminas.

En la preparación de las disoluciones enriquecidas deben mantenerse condiciones asépticas. La disolución de vitaminas no puede esterilizarse porque el calor desactivaría las vitaminas.

Cultivo por lotes de microalgas. El cultivo masivo de fitoplancton comienza desde las cepas puras de especies seleccionadas y continúa aumentando la escala desde volúmenes pequeños (0.01 L), hasta grandes volúmenes en bolsas de PE o tanques (2.000 L o más).

#### 4.3 ESQUEMA DE LA DINÁMICA DEL CULTIVO DE MICROALGAS



Conservación de cepas. El cultivo de cepas puras de las especies de microalgas seleccionadas es el punto de comienzo de los procesos de producción masiva. La calidad de la cepa es por tanto esencial para cualquier proceso de producción satisfactorio.

Una buena selección de cepas puras de diferentes algas debe guardarse siempre en una instalación especial del laboratorio. Esta práctica también permite la selección de las cepas más adecuadas bajo condiciones locales y en un momento dado

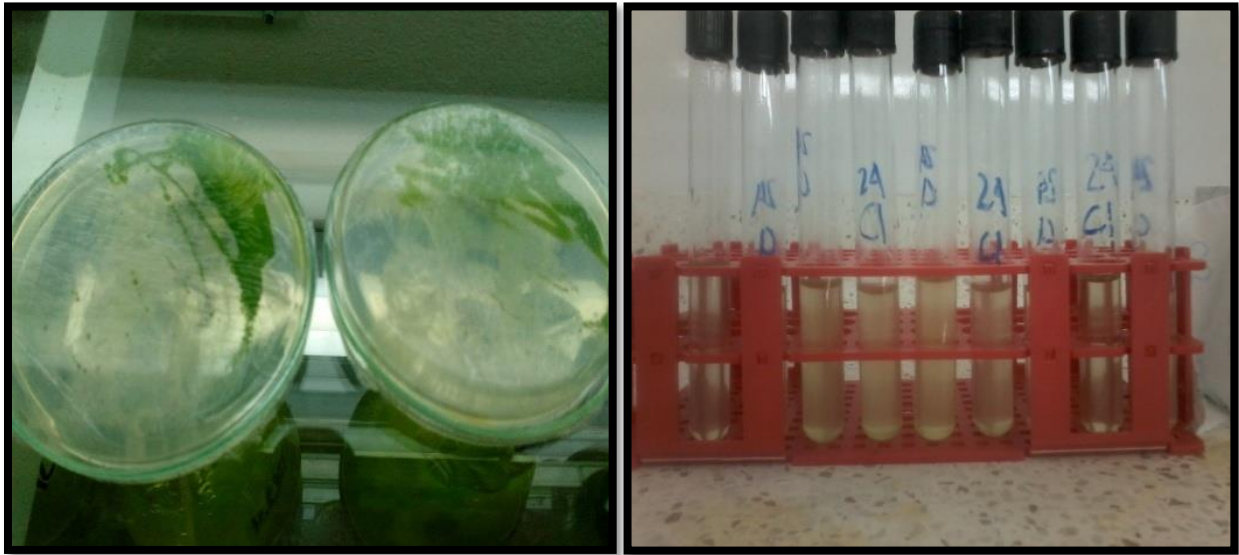
Las cepas de microalgas pueden obtenerse de ceparios de instituciones de carácter científico y/o productivo, de colecciones comerciales o aislarlas localmente.

El cepario es el lugar donde se coleccionan y mantienen las cepas y éstas son el punto de partida de los cultivos de microalgas a mayor escala; es la base de la producción, dependiendo ésta de la calidad de las cepas, de ahí la importancia de tener una atención esmerada en el mantenimiento y renovación de las mismas. Cada cepa debe tener una identificación (que puede ser un número) y debe llevarse un registro o historia de la misma, que incluya su procedencia.

Se mantienen cultivos monoalgales en un pequeño banco de cepas con el objetivo de tenerlos en condiciones adecuadas y disponibles para cualquier emergencia de contaminación en el sistema, así como para la debida renovación. Puede ser en una incubadora refrigerada a 15 - 18 C con luz adecuada o en la repisa superior de los estantes donde se realiza la producción de inóculos menores, con poca iluminación (algo menos de 1 klx), en cajas de Petri con medio (agar) solido enriquecidos o en recipientes pequeños como tubos de ensayo y en Erlenmeyer de 250 ml sin aireación, los cuales se agitan una vez al día para evitar la sedimentación y para homogenizar

el cultivo. Las cepas mantenidas en entubo de ensayos (medios líquidos), se deben renovar quincenalmente, cuyas metodologías se presentan en el **Protocolo de manejo de cepas**.

**Figura 7** *Cepas de las microalgas de estudio en cajas de Petri y tubos de ensayo*



*Fuente: Vanegas Karol 2023*

Aumento de escala de cultivos. Como se indica arriba el aumento de escala de la producción de microalgas empieza en pequeños recipientes (0.01 ml) y continua a través de varios pasos hasta la producción masiva en bolsas o tanques. Cada paso supone un aumento en el volumen de cultivo: cuando está maduro (esto es, en la fase log), la población de algas de un volumen más pequeño se divide para replicar el mismo vaso e inocular vasos mayores.

Producción de inóculos menores. Estos cultivos se realizan en un local específico, en el cual se puedan mantener los inóculos de microalgas con la debida disciplina de trabajo, cuyas características se describen en el “**Protocolo de aumento a escala de cultivos menores**”.

El cultivo se realiza por inóculos sucesivos a partir de inóculos menores de micro algas desde tubos de ensayo de 20 ml a Erlenmeyer de 200 ml, después al cabo de tres días de cultivo donde las microalgas aumente su densidad poblacional, se trasladan a Erlenmeyer de 500 ml, después este inóculo sirve para abastecer varios Erlenmeyer de 500 ml que posteriormente servirán para abastecer a Erlenmeyer de 3 litros, cada recipiente se rotula con el género, la especie de cada cepa y la fecha de cultivo.

Todo este sistema de micro algas se le permite crecer, hasta alcanzar las máximas concentraciones posibles para la posterior alimentación del zooplancton producido en el laboratorio.

---

La cadena de producción se diseña dependiendo de la cantidad requerida de microalgas en el laboratorio, de acuerdo a la estrategia en la alimentación del zooplancton a cultivar, que estará determinada por los requerimientos de las larvas con ajustes semanales y las necesidades para el enriquecimiento de éste, así como para la introducción en los tanques de larvas. Diariamente se efectúan controles sistemáticos, especialmente de pH.

**Figura 8 producción de inóculos intermedios.**



*Fuente: Vanegas Karol 2023*

cultivo de algas en volumen intermedios (tanques de cilindros de acrílicos).

Para la producción en cilindros, se necesita agua filtrada del reservorio, la cual se filtra por un filtro de arena-filtro bolsa de felpa-filtro de carcasa de 20 micras-filtro de cartucho de 10, 5, 1y 0.35 micras y filtro de luz ultravioleta.

Es un lugar más amplio que el área de cepas debido a que los volúmenes de cultivo manejados en esta área son de mayor capacidad utilizando 90 L, para este ciclo de cultivo, debe mantenerse temperaturas entre 22 y 24°C iluminación y aireación para el cultivo.

Se debe mantener todos los recipientes y utensilios para el cultivo, piso y estanterías desinfectados. Se maneja un nivel de asepsia menor que en el cuarto de cepas, pero es importante garantizar un control preciso de los vectores de contaminación, incluyendo el ingreso de personal no autorizado a este lugar.

Para los volúmenes de 90 L se utilizan recipientes cilíndricos en acrílico transparente que permitan el buen paso de la luz

La iluminación se maneja con lámparas fluorescentes, ubicadas verticalmente en las estanterías donde van los cilindros de 90 L.



---

Debe contar con una tubería con suministro de aireación, la cual, de manera opcional, puede ser enriquecida con una fuente de CO<sub>2</sub> (0.5-1 % aproximadamente del volumen del flujo), lo cual aumentaría el crecimiento de las microalgas.

También se deben mantener dos tanques pequeños de 80 L con hipoclorito de sodio (1000 ppm ingrediente activo) y tiosulfato de sodio (1000 ppm) para desinfectar las mangueras de aireación y una electrobomba sumergible para mandar las microalgas desde los volúmenes de 90 L hacia los tanques masivos. **(Ver protocolo de producción de cultivos intermedios).**

Producción de cultivo de algas en tanques de masivos. sitio se maneja completamente al exterior y cuenta con un piso de concreto revestido pulido para su fácil desinfección, se utiliza como techo de cubierta transparente para proteger los tanques de cultivo y dejar pasar la luz solar. Se utilizan tanques en fibra de vidrio rectangulares con no más de 0.7 m de altura con color blanco de pintura epoxica. **Ver protocolo de producción masiva de microalgas.**

#### 4.4 MONITOREO A LOS RECIPIENTES DE CULTIVO

Diariamente se realizan controles de los cultivos, preferiblemente en todos los tanques, tanto de productividad (densidad celular o densidad óptica) y las observaciones al microscopio de los cultivos, que se registran en el control diario de los cultivos. Las determinaciones sistemáticas de ciertos factores como pH, oxígeno disuelto, contaminación y concentración, son vitales para un buen desempeño de los cultivos. Un cambio de color o disminución en la concentración del cultivo puede indicar un inminente colapso del mismo y cuando una población declina tiene un bajo nivel de nutrición para el zooplancton para cuya alimentación está destinada. La morfología de las células indica el estado del cultivo o la “salud” del mismo. Células poco pigmentadas, hialinas o transparentes, variaciones notables de tamaño, entre otros caracteres, son indicadores de que el cultivo no está en buenas condiciones. El color y el pH son también buenos indicadores de la “salud” del cultivo; un color gris opaco conjuntamente con un pH menor de 7.5 en un cultivo, indican una gran proliferación de bacterias.

#### 4.5 CANTIDADES DE MICROALGAS *Chlorella sp*, PRODUCIDAS EN EL PERIODO DE PASANTÍA

Mantenimiento de cepas de microalgas. Para para los meses de marzo, abril y mayo del 2023, en el mantenimiento de cepas de las tres especies de micro algas que se cultivan en el laboratorio Omar Barona, fue necesario cultivar en el medio solido la cepa de la microalga Chlorella, mediante la utilización del medio de enriquecimiento Nasler, llevando a cabo periódicamente un control directo que consiste en la observación directa de los cultivos en cuanto al color característico de cada especie; en cuanto al cultivo en medio líquido.

**Tabla 2 Manejo del mantenimiento de cepas de micro alga Chlorella, para el mes de marzo del 2023**

<b>MANTENIMIENTO DE CEPA</b>					
<b>PRODUCCION DE MICROALGA</b>					
<b>FECHA</b>	<b>ESPECIE</b>	<b>Volumen</b>		<b>TOTAL</b>	<b>DESTINO</b>
		<b>Mantenimiento de cepas</b>			
		<b>cajas de petri</b>	<b>10 ml</b>		
10/03/2023	chlorella	2	8	10	mantenimiento
10/03/2023	chlorella	2	8	10	mantenimiento
10/03/2023	chlorella	2	8	10	mantenimiento
26/03/2023	chlorella	2	8	8	mantenimiento
27/03/2023	chlorella	2	8	8	mantenimiento
28/03/2023	chlorella	2	8	8	mantenimiento
<b>TOTAL</b>				<b>54</b>	

**Tabla 3 Manejo del mantenimiento de cepas de micro alga Chlorella, para el mes de abril del 2023**

<b>MANTENIMIENTO DE CEPA</b>					
<b>PRODUCCION DE MICROALGAS</b>					
<b>FECHA</b>	<b>ESPECIE</b>	<b>Volumen</b>		<b>TOTAL</b>	<b>DESTINO</b>
		<b>Mantenimiento de cepas</b>			
		<b>cajas de petri</b>	<b>10 ml</b>		
01/04/2023	chlorella	3	8	11	mantenimiento
01/04/2023	chlorella	3	8	11	mantenimiento
01/04/2023	chlorella	3	8	11	mantenimiento
26/04/2023	chlorella	3	8	11	mantenimiento
27/04/2023	chlorella	3	8	11	mantenimiento
28/04/2023	chlorella	3	8	11	mantenimiento
<b>TOTAL</b>				<b>66</b>	

**Tabla 4 Manejo del mantenimiento de cepas de micro alga Chlorella, para el mes de mayo del 2023**

<b>MANTENIMIENTO DE CEPA</b>					
<b>PRODUCCION DE MICROALGA</b>					
<b>FECHA</b>	<b>ESPECIE</b>	<b>Volumen</b>		<b>TOTAL</b>	<b>DESTINO</b>
		<b>Mantenimiento de cepas</b>			
		<b>cajas de petri</b>	<b>10 ml</b>		
04/05/2023	chlorella	3		3	mantenimiento
04/05/2023	chlorella	5		5	mantenimiento
04/05/2023	chlorella	3		3	mantenimiento
07/05/2023	chlorella		6	6	mantenimiento
07/05/2024	chlorella		6	6	mantenimiento
07/05/2025	chlorella		6	6	mantenimiento
18/05/2023	chlorella		6	6	mantenimiento
18/05/2023	chlorella		6	6	mantenimiento
18/05/2023	chlorella		6	6	mantenimiento
<b>TOTAL</b>				<b>41</b>	

#### 4.6 PRODUCCIÓN MASIVA DE MICRO ALGAS

La producción masiva de micro algas en el laboratorio para el mes de marzo del 2023, se evidencia en el cuadro No 1, donde se observa la cantidad producida en los diferentes volúmenes de las diferentes etapas de la producción por lotes utilizadas como sistema de producción en el laboratorio y también el destino que se le dio a esta producción de micro algas.



**Tabla 5 Producción de micro alga Chlorella en el laboratorio en el mes de marzo, para la alimentación de rotíferos, copépodos y pulgas de agua en cantidades que permita utilizar en una eventualidad de realizar una reproducción de peces posterior larvicultura.**

PRODUCCION DE MICROALGAS								
FECHA	ESPECIE	VOLUMEN					TOTAL	DESTINO
		INOCUOS MENORES		INTERMEDIOS	MASIVOS			
		LT						
		0,25	0,5	3	90	2000		
1/03/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
1/03/2023	Chlorella	1		1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
2/03/2023	Chlorella			1		1	Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
2/03/2023	Chlorella		2	1	2		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
2/03/2023	Chlorella			2	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
3/03/2023	Chlorella	2		1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
3/03/2023	Chlorella		1	1	1	1	Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
4/03/2023	Chlorella			2	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
5/03/2023	Chlorella	1		1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
5/03/2023	Chlorella		1	1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
5/03/2023	Chlorella			2	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
6/03/2023	Chlorella		1	1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
6/03/2023	Chlorella	2		2			Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
8/03/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
8/03/2023	Chlorella		2	1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
9/03/2023	Chlorella	1		1		1	Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
9/03/2023	Chlorella			2	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
9/03/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
11/03/2023	Chlorella			2	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
13/03/2023	Chlorella	1			1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
13/03/2023	Chlorella		1	1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
13/03/2023	Chlorella	1					Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
14/03/2023	Chlorella			2	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
16/03/2023	Chlorella	2			1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
16/03/2023	Chlorella		1		1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
16/03/2023	Chlorella	1		1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
17/03/2023	Chlorella			3	1	1	Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
17/03/2023	Chlorella	2			1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
20/03/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
20/03/2023	Chlorella		1		1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
20/03/2023	Chlorella	2		1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
22/03/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
22/03/2023	Chlorella	1		2	1	1	Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
23/03/2023	Chlorella		2				Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
23/03/2023	Chlorella	1		1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
23/03/2023	Chlorella			1			Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
26/03/2023	Chlorella		2	1	2		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
26/03/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
26/03/2023	Chlorella	2			1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
28/03/2023	Chlorella		1	1			Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
28/03/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
28/03/2023	Chlorella	1	1	2	1	2	Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura	
	TOTAL	21	15	44	37	7	124	Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura
	TOTAL POR LITROS	5	8	132	3.330	14.000	17.475	Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura

**Tabla 6 Producción de micro algas en el laboratorio en el mes de abril, para la alimentación de rotíferos, copépodos y pulgas de agua en cantidades que permita utilizar en una eventualidad de realizar una reproducción de peces posterior larvicultura.**

PRODCION DE MICROALGAS							TOTAL	DESTINO	
FECHA	ESPECIE	VOLUMEN				TOTAL			DESTINO
		INOCLOS MENORES			INTERMEDIOS				
		0,25 Lt	0,5Lt	3Lt	90Lt	2000Lt			
3/04/2023	Chlorella	1		1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
4/04/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
4/04/2023	Chlorella		1	1	1	1	Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
4/04/2023	Chlorella				1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
5/04/2023	Chlorella	2		1	2		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
6/04/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
8/04/2023	Chlorella		2	1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
8/04/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
9/04/2023	Chlorella	1		1	2		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
10/04/2023	Chlorella			1	2		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
10/04/2023	Chlorella		1	2	1	1	Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
12/04/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
12/04/2023	Chlorella				1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
13/04/2023	Chlorella			3	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
13/04/2023	Chlorella	1		1			Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
14/04/2023	Chlorella			1	2		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
15/04/2023	Chlorella		2	1		1	Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
17/04/2023	Chlorella			2	2		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
17/04/2023	Chlorella			2			Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
18/04/2023	Chlorella	2		1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
18/04/2023	Chlorella			2	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
19/04/2023	Chlorella		2	1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
22/04/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
22/04/2023	Chlorella			2	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
24/04/2023	Chlorella	1		2		1	Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
24/04/2023	Chlorella			1			Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
25/04/2023	Chlorella		1	1	2		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
25/04/2023	Chlorella						Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
26/04/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
26/04/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
27/04/2023	Chlorella	2		1			Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
28/04/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
28/04/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
30/04/2023	Chlorella		2	1	2	1	Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
	<b>TOTAL</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>39</b>	<b>34</b>	<b>5</b>	<b>93</b> Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		
	<b>TOLTAL POR LITROS</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>117</b>	<b>3.060</b>	<b>10.000</b>	<b>13.185</b> Alimentacion,Cladoceros,copepodos y larvicultura		

**Tabla 7 . Producción de micro algas en el laboratorio en el mes de mayo para la alimentación de rotíferos, copépodos y pulgas de agua en cantidades que permita utilizar en una eventualidad de realizar una reproducción de peces posterior larvicultura**

PRODUCCION DE MICROALOGAS								
FECHA	ESPECIE	VOLUMEN					TOTAL	DESTINO
		INOCUOS MENORES		INTERMEDIOS	MASIVOS			
		LTS						
		0,25Lt	0,5Lt	3lt	90lt	2000lt		
2/05/2023	Chlorella	1					Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
3/05/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
3/05/2023	Chlorella	1		1	1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
3/05/2023	Chlorella			1		1	Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
5/05/2023	Chlorella		2	1	2		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
8/05/2023	Chlorella			2			Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
8/05/2023	Chlorella	2		1	1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
8/05/2023	Chlorella				1	1	Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
9/05/2023	Chlorella			2			Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
9/05/2023	Chlorella	1		1			Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
9/05/2023	Chlorella		1	1	1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
10/05/2023	Chlorella			2	1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
10/05/2023	Chlorella		1		1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
10/05/2023	Chlorella	2		2			Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
11/05/2023	Chlorella				1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
11/05/2023	Chlorella		2	1	1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
11/05/2023	Chlorella	1		1		1	Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
12/05/2023	Chlorella			3	1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
12/05/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
14/05/2023	Chlorella			2	1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
16/05/2023	Chlorella	1			1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
16/05/2023	Chlorella		1	1	1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
16/05/2023	Chlorella	1				1	Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
17/05/2023	Chlorella			2	1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
17/05/2023	Chlorella	2			3		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
17/05/2023	Chlorella		1		1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
21/05/2023	Chlorella	1		1	1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
21/05/2023	Chlorella			3	1	1	Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
21/05/2023	Chlorella	2			1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
22/05/2023	Chlorella	1		1			Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
24/05/2023	Chlorella	1	1		1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
24/05/2023	Chlorella	2		1	3		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
24/05/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
25/05/2023	Chlorella	1		2	1	1	Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
25/05/2023	Chlorella		2				Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
25/05/2023	Chlorella	1		1	1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
28/05/2023	Chlorella			1			Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
28/05/2023	Chlorella		2	1	2		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
28/05/2023	Chlorella			1	1		Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura	
TOTAL		21	13	39	34	6	113	Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura
TOTAL POR LITRO		5	7	117	3.060	12.000	15.189	Alimentacion,Cladoceros,coepodos y larvicultura

---

## 5 DISCUSIÓN

En la curva de crecimiento para la microalga *Chlorella* sp. es posible identificar que en el volumen de 10 ml, se ve el inicio de la fase exponencial a partir del día 1 hasta el día 5 aproximadamente, aquí estas entran a una fase estacionaria por el lapso de un día, de aquí ellas siguen su proceso de división celular. En el volumen de 250 ml se observa una fase exponencial desde el día 0 hasta el día 7 se nota que la división celular en este volumen es

lenta hasta el día 3 manteniéndose en la fase estacionaria hasta el día 4 de aquí continua con la fase exponencial.

Durante la evaluación del volumen de 500 ml, el crecimiento se nota a partir del día 1 y aumentando rápidamente la división celular elevando notablemente el crecimiento microalga

hasta alcanzar fase exponencial para cosecha en el día 5 de la siembra en este volumen.

Para el volumen de 3000 ml, el crecimiento microalga se ajusta a partir del día 0 hasta el día 1

en donde a partir de este día la microalga ya se ha acostumbrado a las nuevas condiciones del

cultivo y se nota un gran número de células, es decir, empieza a ver división celular rápida y

constante, desde aquí se mantiene en la fase estacionaria hasta el día 3 aproximadamente e

inicia nuevamente la fase exponencial. Finalmente, la evaluación de la microalga en 90 L muestra que desde el día 0, entra a la fase exponencial alcanzando el pico máximo el día 5, el pico máximo que logra en promedio es alrededor de 920.000 cel/ml aproximadamente, desde este día se evidencia que la microalga empieza a decaer por lo cual se debe utilizar para la siembra en los cultivos masivos o la utilización para cultivo del zooplancton en día 5 máximo de ser sembrada en el cultivo intermedio.

---

## 6 CONCLUSIONES

En este trabajo se estudia el mantenimiento de la microalga *Chlorella* sp la cual es un organismo fotosintético y es una especie que proporciona un alto contenido nutricional para peces, crustáceos, moluscos y zooplancton, además ofrece fácil manejo tanto en laboratorio como en sistemas comerciales,

Las algas se cultivan en un sector especialmente dedicado a la sección de producción de alimentos vivos.

Los flujos productivos propuestos para los cultivos de microalgas en el laboratorio, pueden transitar hasta por tres etapas: producción de inóculos menores (0.2 - 3 L), producción de inóculos intermedios (90 L), producción de inóculos mayores (2 m<sup>3</sup>). Las dos etapas iniciales transcurren en áreas interiores y la última en áreas exteriores. Cada una de estas etapas sucede en un espacio acondicionado y equipado para cada caso.

La Producción de microalgas es importante, para que garanticen un suministro permanente, y confiable para la alimentación de cladóceros, copépodos y agua verde en la larvicultura de peces, en el laboratorio Omar Barona, de la Universidad del Pacífico.

---

## BIBLIOGRAFÍA

- BERNABÉ, G. ([2017].). Bases biológicas y ecológicas de la acuicultura. Zaragoza, España. *SciELO*, 69. Obtenido de <https://www.scielo.br/j/qn/a/6PfmDvT9FYRt95fCzHtFdyc/?lang=es>
- CHRISTINE J., B. S. (2003). Aislamiento, purificación y mantenimiento de microalgas. *cbands@ipn.mx.*, 75. Obtenido de [cbands@ipn.mx](mailto:cbands@ipn.mx).
- FAO. (2017). LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTO VIVO Y SU IMPORTANCIA EN ACUICULTURA MARINA. *GCP/RLA/075/ITA*, 78. Obtenido de <https://www.fao.org/3/ab473s/AB473S00.htm#TOC>
- Hernández Pérez, A., & Labbé, J. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 157-173.
- MARINE®, K. (2019). Kent marine pro culture. *kentmarine*, 21. Obtenido de <https://www.kentmarine.com/about/index.htm>
- Ortiz Moreno, M. L., Cortés Castillo, C. E., Sánchez Villarraga, J., Padilla, J., & Otero Paternina, A. M. (2012). Evaluación del crecimiento de la microalga *Chlorella sorokiniana* en diferentes medios de cultivo en condiciones autotroficas y mixotroficas. *ORINOQUIA*, 16(1), 11-20. Obtenido de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-37092012000100002](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-37092012000100002)
- PACIFICO., P. M. (2017). Reproducción de microalgas. *parquemarino*, 45. Obtenido de <https://parquemarino.org/>
- ROMO, A. (2002). Manual para el cultivo de microalgas. *calameo*, 50. Obtenido de <https://www.calameo.com/read/000489990a8f29fbd51>
- Rubio Fernandez, D., & Hernandez, G. (2017). Evaluación de las incidencias de salinidad y pH sobre la biomasa, productividad y acumulación de lípidos en cultivos de *Chlorella vulgaris* en un fotobiorreactor de placa plana. *Iteckne*, 25.

---

## 7 ANEXOS

### PROTOCOLO PARA LA ELABORACIÓN DE NUTRIENTES PARA MICROALGAS

#### IVO

Preparar el medio de cultivo para las microalgas.

#### ICE

Preparación de los nutrientes para las funciones biológicas y crecimiento de micro algas en el laboratorio.

#### EQUIPOS Y MATERIALES

- Balanza analítica
- Mecheros de alcohol
- microscopio
- Autoclave
- Guantes quirúrgicos
- Tapa bocas
- Beaker varios tamaños
- Erlenmeyer varis tamaños
- Probetas aforadas de 100 ml
- Pipeta aforada de 10 ml.
- Ortotoledina
- Nitrato de sodio grado analítico
- Fosfato monobásico grado analítico
- Silicato de sodio analítico

- 
- Cloruro férrico analítico
  - EDTA sal di sódica analítico
  - Cloruro de manganeso analítico
  - Sulfato de zinc analítico
  - Cloruro de cobalto analítico
  - Sulfato cúprico analítico
  - Molibdato de sodio analítico
  - Hiposulfito de sodio
  - Hipoclorito de sodio
  - Alcohol 96%
  - Tiamina
  - Cianocobalamina
  - Biotina
  - Agua destilada
  - Formatos de registros

#### A PASO

a) SOLUCIÓN DE MACRONUTRIENTES:

**Na NO3:**..... 300 g

**NaH2PO4:**..... 20 g

Disolver en agua destilada y llevar a 1 L; esterilizar en autoclave a 120 C por 20 min a 2 atm; almacenar a temperatura ambiente. Se usa a razón de 1 mL por cada litro de agua a fertilizar.

b) SOLUCIÓN DE METALES TRAZA:



---

Para prepara esta solución, antes deben prepararse cuatro soluciones stock (Pesar con una balanza de 10 mg de precisión) así:

Para la solución **A**:

ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O..... 2,20 g

CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O..... 1,00 g

CoCl<sub>2</sub>..... 1,00 g

MnCl<sub>2</sub>..... 18,0 g

Para la solución **B**: FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O..... 75,0 g

Para la solución **C**: Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O..... 30,0g

Para la solución **D**: Na<sub>2</sub>-EDTA..... 50,0 g

Las soluciones stock deben disolverse por separado en agua destilada así: solución A debe disolverse en 100 ml de agua destilada, la solución B y C en 500 ml y la solución D en 1 L. Cada solución debe ser luego esterilizada en autoclave a 120 C por 30 min a 2 at, y se almacena a temperatura ambiente. La solución B debe almacenarse en frasco ámbar. Con estas soluciones “stock” se procede a preparar la solución final de metales traza. Se toman:

100 mL de la solución **D**

1 mL de la solución **A**

10 mL de la solución **B**

10 mL de la solución **C**

Tomar cada solución con una pipeta estéril por separado (en el caso de la solución D se utilizará una probeta) y llevarlas hasta 1 L con agua destilada. Se esteriliza en autoclave a 120 °C por 30 min a 2 atm, y se almacena a temperatura ambiente. Uso: 1 mL por cada litro de agua de a fertilizar.

c) SOLUCIÓN DE VITAMINAS:

(Pesar en una balanza analítica con 0.1 mg de precisión, excepto la B1 que se pesará con 10 mg de precisión)

---

B12 cianocobalamina ..... 100 mg

B1 tiamina ..... 10 g

H biotina ..... 100 mg

Disolver cada una por separado en recipientes estériles y se llevan a 1 L con agua destilada esterilizada; almacenar todas a 4° C y la B12 en un frasco ámbar. Con estas soluciones “stock” se procederá a preparar la solución definitiva de trabajo:

Se toman 10 mL de la solución madre de B12

10 mL de la solución madre de B1

10 mL de la solución madre de H

Cada volumen se toma por separado con una pipeta estéril y se lleva a 1 L con agua destilada previamente esterilizada; se almacena en un frasco plástico estéril a 4 C. Se usa 1 mL/L de agua a fertilizar. Adicionar al agua siempre que ésta esté a temperatura ambiente, pues a altas temperaturas las vitaminas se destruyen.

Las soluciones madres de los oligoelementos y vitaminas se preparan en estas cantidades para facilitar la labor posterior; deben guardarse hasta que se requiera preparar nuevamente las soluciones de trabajo.

## RIESGOS IDENTIFICADOS

### Peligros Identificados y Precauciones

- ✓ Uso permanente de los elementos de protección básicos para este tipo de trabajo (Gafas, Tapa Bocas, Guantes, Bata de laboratorio)
- ✓ Posibles lesiones en las manos.
- ✓ Movimientos y posturas corporales incorrectas.
- ✓ Golpearse con objetos.
- ✓ Verificar que el Análisis de Riesgo sea el adecuado para el trabajo a realizar.
- ✓ No realizar ninguna tarea contemplada en el procedimiento si no se tiene el conocimiento o entrenamiento suficiente para ejecutarla con seguridad.

## RIESGOS AMBIENTALES

- ✓ Se generan residuos tales como cloro, antibióticos, formol micro algas y aceites emulsionados.

## REQUISITOS Y/O REGISTROS

Formularios de registros.

Se llenan los formularios de registro, donde se consignarán los datos importantes de cada evento

#### INSABLES

El cumplimiento de este instructivo está a cargo del coordinador del laboratorio, investigador y del técnico de producción de alimento vivo.

PERSONAL EJECUTANTE:

Emplear Correctamente los equipos de Protección Personal y verificar su correcto estado.

Aplicar Correctamente este procedimiento de trabajo.

Mantener y dejar en buenas condiciones de orden y aseo el área de trabajo.

#### ROL DE CAMBIOS

Fecha	Descripción	Realizado
07-27		Revisión del documento.
06-27		Actualización del documento

Nombre	Responsable	Fecha	Responsable
OS QUIROZ	HERNANDO GAMBOA		FELIPE GIRALDO
06-27	06-27		06-27

## 7.2 PREPARACIÓN DE CEPAS PURA

#### IVO

Renovar las cepas de micro algas para su mantenimiento en el laboratorio

#### ICE

Garantizar el óptimo estado de calidad de las cepas de micro algas en el laboratorio de reproducción de peces

EQUIPOS Y MATERIALES

- Mecheros de alcohol

- 
- Guantes quirúrgicos
  - Tapa bocas
  - Tubos de ensayos
  - Cajas de Petri
  - Beaker varios tamaños
  - Erlenmeyer varios tamaños
  - Pipeta aforada de 10 ml ( 1 )
  - Soluciones de fertilizantes Macronutriente
  - Soluciones de fertilizantes Metales traza
  - Agar agar
  - Alcohol 96%
  - Agua dulce filtrada y estéril
  - Formatos de registros

## A PASO

### d) SIEMBRA EN MEDIO SOLIDO

#### Preparación del medio solido

- Lavarse las manos antes de empezar a trabajar y cada vez que sea necesario
- En el caso de cajas Petri se disponen 200 ml en un beaker con una solución de agua filtrada y estéril (Protocolo M 6), con 0.4 ml de macronutrientes, 0.2 ml de metales traza y agar-agar a 1.2 g por cada 100 ml de medio de cultivo a preparar.
- La solución es colocada en la estufa a baja temperatura hasta disolver totalmente el agar
- Posteriormente se esterilizan las cajas petri y la solución con agar en autoclave por 20 minutos a 120 C y 2 atm.
- Transcurrido este tiempo se procede a servir las cajas esterilizadas con el agar caliente y se deja enfriar la solución de agar por 15 minutos hasta que se

---

solidifique el agar, luego se tapan por completo las cajas y se sellan con cinta auto adherente.

- Es importante que esto se haga en presencia de mecheros y que el mesón de trabajo sea esterilizado previamente con alcohol; si es necesario apagar el aire acondicionado por este lapso de tiempo.

#### 1. **Para sembrar las cajas Petri**

- Lavarse las manos antes de empezar a trabajar y cada vez que sea necesario
- Se selecciona el mejor de los tubos de cultivo y/o mantenimiento para hacer la siembra, esta selección debe hacerse en base al color, concentración del cultivo, precipitado algal y observación al microscopio.
- Se esteriliza el mesón de trabajo, guantes o las manos con alcohol. Es necesario tomar todas las precauciones tales como, cerrar la puerta, apagar el aire acondicionado, no permitir el acceso de personal durante este proceso y hablar lo menos posible.
- Se esteriliza el “asa” calentando toda la punta con mechero, esperar hasta que esta se ponga roja.
- Destapar las cajas Petri en presencia de mechero y enfriar la punta del asa en un borde de la caja con agar, cuando esta esté fría, destapar el tubo de ensayo con la microalgas a sembrar y sumergir la punta del asa para capturar células de microalgas. Por ultimo hacer un barrido por toda la caja en zigzag.
- Tapar las cajas Petri y sellarlas con cinta auto adherente.
- Se marcan las cajas con la fecha, procedencia y cepa. Colocar las cajas en el estante sin que les de la luz directa.

#### e) SIEMBRA EN TUBOS DE ENSAYOS:

- Lavarse las manos antes de empezar a trabajar y cada vez que sea necesario
- Se esteriliza el mesón de trabajo, guantes o las manos con alcohol. Es necesario tomar todas las precauciones tales como, cerrar la puerta, apagar el aire acondicionado, no permitir el acceso de personal durante este proceso y hablar lo menos posible.
- Esterilizar 500 ml de agua en un Erlenmeyer, (Protocolo M 6), fertilizarlo con dosis de la mezcla habitual de nutrientes cuando se enfríe (Protocolo M 1)
- Se colocan los cultivos, los tubos con el agua enriquecida con el medio de cultivo y todo lo necesario 1 - 2 h antes en el local de siembra, para que las temperaturas se igualen y no haya un choque térmico.
- Usando una pipeta estéril de 10 ml añadir 9 ml de agua de mar enriquecida en cada tubo, y numerarlos del 1 al 10

- Se selecciona el mejor de los tubos de cultivo y/o mantenimiento para hacer la siembra, esta selección debe hacerse en base al color, concentración del cultivo, precipitado algal y observación al microscopio.
- Con una pipeta de 10 ml estéril y en presencia de mechero flameando el cuello se toman 10 ml de micro algas del tubo seleccionado, el cual no debe ser revuelto para no mezclar el sedimento.
- Adicionar 1 ml de cultivo de micro algas por tubo de ensayo a sembrar.
- Flamear su cuello y tapar los tubos de ensayo.
- Hacer todo siempre en presencia de mecheros y desinfección con alcohol (70 %). Es importante que al adicionar las micro algas estas no toquen el borde de los tubos.
- Por último se rotulan los tubos y se colocan en las gradillas de tubos de ensayo. Colocar estos tubos en la última fila de la gradilla para que no les de tanta luz.
- A medida que el crecimiento se vaya observando mover los tubos más hacia la luz.

## SEGURIDAD

### Peligros Identificados y Precauciones

- ✓ Uso permanente de los elementos de protección básicos para este tipo de trabajo (Gafas, Tapa Bocas, Guantes, Bata de laboratorio)
- ✓ Posibles lesiones en las manos.
- ✓ Movimientos y posturas corporales incorrectas.
- ✓ Golpearse con objetos.
- ✓ Verificar que el Análisis de Riesgo sea el adecuado para el trabajo a realizar.
- ✓ No realizar ninguna tarea contemplada en el procedimiento si no se tiene el conocimiento o entrenamiento suficiente para ejecutarla con seguridad.

## RIESGO AMBIENTE

- ✓ Se generan residuos tales como cloro, antibióticos, formol micro algas y aceites emulsionados.

## CONTROLES Y/O REGISTROS

Formularios de registros.

Se llenan los formularios de registro, donde se consignaran los datos importantes de cada evento

## INSABLES

El cumplimiento de este instructivo está a cargo del coordinador del laboratorio, investigador y del técnico de producción de alimento vivo.

### PERSONAL EJECUTANTE:

Emplear Correctamente los equipos de Protección Personal y verificar su correcto estado.

Aplicar Correctamente este procedimiento de trabajo.

Mantener y dejar en buenas condiciones de orden y aseo el área de trabajo.

## ROL DE CAMBIOS

Fecha	Descripción	Realizado
07-27		Revisión del documento.
01-27		Actualización del documento

Nombre	Función	Nombre	Función
OS QUIROZ		HERNANDO GAMBOA	
01-27		01-27	

## 7.3 CALIDAD DE AGUA DE MICROALGAS

### IV

Preparación de la calidad del agua en las diferentes etapas del cultivo de micro algas.

### ICE

Para el cultivo de micro algas es necesario tener una excelente calidad de agua, por consiguiente, antes de ser utilizada debe ser tratada por una serie de filtros mecánicos, luz ultravioleta y/o tratamiento con hipoclorito de sodio

### EQUIPOS Y MATERIALES

- Tanques plástico volúmenes de 100 L.

- 
- Electrobomba sumergible.
  - Autoclave.
  - Estufa eléctrica.
  - Mangueras plásticas.
  - Solución de hipoclorito de sodio.
  - solución de tiosulfato de sodio.
  - Solución de ortotolidina.
  - Agua dulce filtrada.
  - Formatos de registros.

#### A PASO

- Se toma agua de un reservorio, la cual es tratada a través de filtración mecánica utilizando filtros de arena, filtro de carbón activado, filtro de cartuchos de 20, 10, 5, 1 y 0.35 micras en serie, para garantizar una buena calidad del agua
  - Desinfección con lámpara ultravioleta (UV) de flujo continuo con una potencia de 40 - 60 mJ/cm<sup>2</sup> de acuerdo al factor de penetración del agua.
  - Disponer de un tanque de 100 L y clorar 95 litros de esta agua filtrada a 10 ppm de solución de hipoclorito de sodio ingrediente activo, tapar y dejar en reposo como mínimo 16 horas.
  - Después de las 16 horas sacar el agua necesaria y quitar trazas de cloro con 1 ml de solución de tiosulfato de sodio (10000 ppm) por cada 1 litros de agua clorada, luego se realiza una prueba de presencia de cloro utilizando ortotolidina.
  - se esteriliza el agua cloro tratada en autoclave por 30 minutos a 120 °C y 2 atmosferas de presión hasta volúmenes de 500 ml.
  - De ser posible, esterilizar hasta 3 L con autoclave lo cual tomará alrededor de 1 h, de no contar con una autoclave de tal magnitud, entonces calentar el agua con una estufa en olla esmaltada hasta que hierva el agua.
  - por último, debe dejarse enfriar el agua tapada hasta temperatura ambiente y luego llevarla hasta el cuarto de cepas.
- a) CALIDAD DE AGUA PARA CULTIVOS INTERMEDIOS (90 L) Y CULTIVOS MASIVOS



- agua de un reservorio, la cual es tratada a través de filtración mecánica utilizando filtros de arena, filtro de carbón activado, filtro de cartuchos de 20, 10, 5, y 1 micras en serie, para garantizar una buena calidad del agua
- Desinfección con lámpara ultravioleta (UV) de flujo continuo con una potencia de 40 - 60 mJ/cm<sup>2</sup> de acuerdo al factor de penetración del agua
- Para el caso de volúmenes de 90 L el agua filtrada debe ser clorada en el mismo recipiente y 24 h después neutralizada con tiosulfato de sodio a 10 ppm para neutralizar el cloro.
- Los cultivos masivos deben llenarse con agua filtrada hasta 1 micra y cloro tratar el agua a 10 ppm por 16 h,
- por último, son neutralizados con solución de tiosulfato de sodio granulado a la misma concentración de cloro si es preciso.
- Igualmente se debe probar la posible presencia de trazas de cloro cada vez que se neutraliza cualquier volumen de cultivo.

#### SEGURIDAD

##### Peligros Identificados y Precauciones

- ✓ Uso permanente de los elementos de protección básicos para este tipo de trabajo (Gafas, Tapa Bocas, Guantes, Bata de laboratorio)
- ✓ Posibles lesiones en las manos.
- ✓ Movimientos y posturas corporales incorrectas.
- ✓ Golpearse con objetos.
- ✓ Verificar que el Análisis de Riesgo sea el adecuado para el trabajo a realizar.
- ✓ No realizar ninguna tarea contemplada en el procedimiento si no se tiene el conocimiento o entrenamiento suficiente para ejecutarla con seguridad.

#### IMPACTO AMBIENTE

- ✓ Se generan residuos tales como cloro, antibióticos, formol micro algas y aceites emulsionados.

#### REQUISITOS Y/O REGISTROS

Formularios de registros.

Se llenan los formularios de registro, donde se consignarán los datos importantes de cada evento.

#### RECURSOS HUMANOS

El cumplimiento de este instructivo está a cargo del coordinador del laboratorio, investigador y del técnico de producción de alimento vivo.

**PERSONAL EJECUTANTE:**

Emplear Correctamente los equipos de Protección Personal y verificar su correcto estado.

Aplicar Correctamente este procedimiento de trabajo.

Mantener y dejar en buenas condiciones de orden y aseo el área de trabajo.

**ROL DE CAMBIOS**

Fecha	Evento Realizado
04-27	Revisión del documento.
06-17	Actualización del documento

Responsable	Elaboración	Revisión	Aprobación
OS QUIROZ	HERNANDO GAMBOA	FELIPE GIRALDO	
06-17	06-17	06-17	

**AUMENTO DE CULTIVO DE MICROALGAS EN VOLUMEN INTERMEDIO**

**OBJETIVO**

Iniciar la producción del cultivo masivo de micro algas

**OBJETIVO**

Garantizar el aumento del volumen de micro algas en el laboratorio de reproducción de peces

**EQUIPOS Y MATERIALES**

- Guantes quirúrgicos
- Tapa bocas
- Tubo de ensayo
- Erlenmeyer con cultivos microalgales
- Tanques cilíndricos de acrílico de volúmenes de 90 L

- 
- Electrobomba sumergible
  - Mangueras plásticas
  - Probeta graduada de 100 ml
  - Soluciones de fertilizantes Macronutriente
  - Soluciones de fertilizantes Metales traza
  - Soluciones de fertilizantes de Vitaminas
  - Solución de tiosulfato de sodio
  - Solución de ortotoledina
  - Alcohol 96%
  - Agua dulce filtrada y estéril
  - Formatos de registros

#### A PASO

##### a) INOCULACIÓN ERLERMAYER DE 200 ML DESDE TUBOS DE ENSAYO

- Se esteriliza el mesón de trabajo, guantes o las manos con alcohol. Es necesario tomar todas las precauciones tales como, cerrar la puerta, apagar el aire acondicionado, no permitir el acceso de personal durante este proceso y hablar lo menos posible.
- Esterilizar 2.000 ml de agua en un Erlenmeyer, fertilizarlo con dosis de la mezcla habitual de nutrientes cuando se enfríe
- Se colocan los cultivos, Erlenmeyer con el agua enriquecida con el medio de cultivo y todo lo necesario 1 - 2 h antes en el local de siembra, para que las temperaturas se igualen y no haya un choque térmico.
- Usando una probeta estéril de 200 ml añadir 190 ml de agua de enriquecida en cada Erlenmeyer, y numerarlos del 1 al 5
- Se selecciona los mejores tubos de cultivo y/o mantenimiento para hacer la siembra, esta selección debe hacerse en base al color, concentración del cultivo, precipitado algal y observación al microscopio.
- Destapar los tubos de ensayo, Flamear su cuello, dejarlo enfriar y verter el contenido del cultivo algal sin el sedimento en los Erlenmeyer, evitando mojar el cuello con el inóculo, agitar suavemente los Erlenmeyer para mezclar el nuevo cultivo.

- 
- Flamear bien los cuellos, y cerrar con un tapón de algodón esterilizado (o algún otro tipo de tapón estéril). En este punto no se necesita aireación.
  - Escribir la fecha y la especie de alga en el nuevo matraz.
  - Colocar los matraces en el estante iluminado.
  - Hacer todo siempre en presencia de mecheros y desinfección con alcohol (70 %).

b) INOCULACIÓN DE ERLERMEYER DE 500 ML

- Se esteriliza el mesón de trabajo, guantes o las manos con alcohol. Es necesario tomar todas las precauciones tales como, cerrar la puerta, apagar el aire acondicionado, no permitir el acceso de personal durante este proceso y hablar lo menos posible.
- Se colocan los cultivos, Erlenmeyer con el agua estéril con el medio de cultivo y todo lo necesario 1 - 2 h antes en el local de siembra, para que las temperaturas se igualen y no haya un choque térmico.
- Añadir las disoluciones fertilizantes de trabajo a cada nuevo Erlenmeyer, en una proporción de 1 ml/l, usando una pipeta estéril nueva por cada disolución.
- Se selecciona los mejores Erlenmeyer de 200 ml de para hacer la siembra, esta selección debe hacerse en base al color, concentración del cultivo, precipitado algal y observación al microscopio.
- Flamear bien sus cuellos y cubiertas de aluminio cuando esté frío quitar la cubierta y verter un poco de cultivo de algas del matraz antiguo en los nuevos vasos en una proporción de alrededor del 10% del volumen receptor, evitando mojar el cuello con el inóculo,
- Flamear bien los cuellos, introducir los pitillos esterilizados para la aireación y cerrar con un tapón de algodón esterilizado (o algún otro tipo de tapón estéril)
- Escribir la fecha y la especie de alga en el nuevo Erlenmeyer
- Colocar los Erlenmeyer en el estante iluminado y conectarlos al sistema de suministro de aire, ajustando el flujo a un burbujeo suave
- Después de una hora, comprobar que en todos los Erlenmeyer nuevos haya un burbujeo de aire apropiado

c) INOCULACIÓN DE ERLERMEYER DE 3000 ML

- Se esteriliza el mesón de trabajo, guantes o las manos con alcohol. Es necesario tomar todas las precauciones tales como, cerrar la puerta, apagar el aire acondicionado, no permitir el acceso de personal durante este proceso y hablar lo menos posible.

- Se colocan los cultivos, Erlenmeyer con el agua estéril con el medio de cultivo y todo lo necesario 1 - 2 h antes en el local de siembra, para que las temperaturas se igualen y no haya un choque térmico.
- Añadir las disoluciones fertilizantes de trabajo a cada nuevo Erlenmeyer, en una proporción de 1 ml/l, usando una pipeta estéril nueva por cada disolución
- Se selecciona los mejores Erlenmeyer de 500 ml de para hacer la siembra, esta selección debe hacerse en base al color, concentración del cultivo, precipitado algal y observación al microscopio.
- Flamear bien sus cuellos y cubiertas de aluminio cuando esté frío quitar la cubierta y verter un poco de cultivo de algas del matraz antiguo en los nuevos vasos en una proporción de alrededor del 10% del volumen receptor, evitando mojar el cuello con el inóculo,
- Flamear bien los cuellos, introducir los pitillos esterilizados para la aireación y cerrar con un tapón de algodón esterilizado (o algún otro tipo de tapón estéril)
- Escribir la fecha y la especie de alga en el nuevo Erlenmeyer
- Colocar los Erlenmeyer en el estante iluminado y conectarlos al sistema de suministro de aire, ajustando el flujo a un burbujeo suave
- Después de una hora, comprobar que en todos los Erlenmeyer nuevos haya un burbujeo de aire apropiado

## SEGURIDAD

### Peligros Identificados y Precauciones

- ✓ Uso permanente de los elementos de protección básicos para este tipo de trabajo (Gafas, Tapa Bocas, Guantes, Bata de laboratorio)
- ✓ Posibles lesiones en las manos.
- ✓ Movimientos y posturas corporales incorrectas.
- ✓ Golpearse con objetos.
- ✓ Verificar que el Análisis de Riesgo sea el adecuado para el trabajo a realizar.
- ✓ No realizar ninguna tarea contemplada en el procedimiento si no se tiene el conocimiento o entrenamiento suficiente para ejecutarla con seguridad.

## DAÑO AMBIENTE

- ✓ Se generan residuos tales como cloro, antibióticos, formol micro algas y aceites emulsionados.

## DOCUMENTOS Y/O REGISTROS

Formularios de registros.

---

Se llenan los formularios de registro, donde se consignarán los datos importantes de cada evento

#### INSABLES

El cumplimiento de este instructivo está a cargo del coordinador del laboratorio, investigador y del técnico de producción de alimento vivo.

#### PERSONAL EJECUTANTE:

Emplear Correctamente los equipos de Protección Personal y verificar su correcto estado.

Aplicar Correctamente este procedimiento de trabajo.

Mantener y dejar en buenas condiciones de orden y aseo el área de trabajo.

#### ROL DE CAMBIOS

Fecha	Evento Realizado
07-27	Revisión del documento.
01-27	Actualización del documento

Nombre	Función	Nombre	Función
OS QUIROZ	COORDINADOR	HERNANDO GAMBOA	INVESTIGADOR
01-27	01-27	01-27	01-27

#### AUMENTO DE CULTIVO DE MICROALGAS EN VOLUMEN MASIVO

##### OBJETIVO

Iniciar la producción del cultivo masivo de micro algas

##### OBJETIVO

Garantizar el aumento del volumen de micro algas en el laboratorio de reproducción de peces

#### EQUIPOS Y MATERIALES

- Mecheros de alcohol
- Guantes quirúrgicos
- Tapa bocas

- 
- Erlenmeyer varios tamaños
  - Pipeta aforada de 10 ml.
  - Probeta aforada de 100ml.
  - Soluciones de fertilizantes Macronutriente
  - Soluciones de fertilizantes Metales traza
  - Alcohol 96%
  - Agua dulce filtrada y estéril
  - Formatos de registros

#### A PASO

##### d) INOCULACIÓN CILINDROS DE 90 LITROS.

- Se esteriliza el mesón de trabajo, guantes o las manos con alcohol. Es necesario tomar todas las precauciones tales como, cerrar la puerta, apagar el aire acondicionado, no permitir el acceso de personal durante este proceso y hablar lo menos posible.
- Llenar el día anterior los cilindros a 84 litros con agua filtrada y pasada por filtro uv.
- Una vez llenos de adiciona 10 ml de hipoclorito de sodio para clorar el agua a 10 ppm ingrediente activo y se deja por 18 horas.
- Al siguiente día se neutraliza el agua de los cilindros con tiosulfato de sodio con 10 ml.
- Se abren las llaves de aireación para que el tiosulfato quite todas las trazas de cloro.
- Se colocan los cultivos, Erlenmeyer de 3000 en el cuarto de cilindros con el alga a inocular 1 - 2 h antes en el local de siembra, para que las temperaturas se igualen y no haya un choque térmico.
- Usando una probeta estéril de 100 ml añadir 90 ml de solución de metales traza y 90 ml de solución de macronutrientes.
- Una vez fertilizado los cilindros se procede a vaciar el alga de los Erlenmeyer para así dejar inoculado el cultivo.

##### e) INOCULACIÓN DE TANQUES MASIVOS DE 2000 LITROS.

- Llenar el día anterior los tanques masivos de 2000 litros a 1910 litros con agua filtrada y pasada por filtro uv.
- Una vez llenos de adiciona 153,84 ml de hipoclorito de sodio para clorar el agua a 10 ppm ingrediente activo y se deja por 18 horas.
- Al siguiente día se neutraliza el agua de los tanques masivos con tiosulfato de sodio con 20 gr.
- Se abren las llaves de aireación para que el tiosulfato quite todas las trazas de cloro.
- Usando una ponchera plástica estéril de se procede a fertilizar el agua con 200 gr de nitrato y 20 gr de fosfato para la inoculación de los cilindros de cultivo de microalgas.
- Una vez fertilizado los tanques de cultivo se procede a vaciar el alga por medio de una motobomba sumergible que pasa la microalgas de los cilindros a los tanques de 2000 litros.
- Monitorear todos los días los parámetros fisicoquímicos de los cultivos algales en tanques masivos para llevar un control.

## SEGURIDAD

### Peligros Identificados y Precauciones

- ✓ Uso permanente de los elementos de protección básicos para este tipo de trabajo (Gafas, Tapa Bocas, Guantes, Bata de laboratorio)
- ✓ Posibles lesiones en las manos.
- ✓ Movimientos y posturas corporales incorrectas.
- ✓ Golpearse con objetos.
- ✓ Verificar que el Análisis de Riesgo sea el adecuado para el trabajo a realizar.
- ✓ No realizar ninguna tarea contemplada en el procedimiento si no se tiene el conocimiento o entrenamiento suficiente para ejecutarla con seguridad.

## IMPACTO AMBIENTE

- ✓ Se generan residuos tales como cloro, antibióticos, formol micro algas y aceites emulsionados.

## 5. FORMATOS Y/O REGISTROS

Formularios de registros.

Se llenan los formularios de registro, donde se consignaran los datos importantes de cada evento

## CONTROLES



El cumplimiento de este instructivo está a cargo del coordinador del laboratorio, investigador y del técnico de producción de alimento vivo.

**PERSONAL EJECUTANTE:**

Emplear Correctamente los equipos de Protección Personal y verificar su correcto estado.

Aplicar Correctamente este procedimiento de trabajo.

Mantener y dejar en buenas condiciones de orden y aseo el área de trabajo.

**ROL DE CAMBIOS**

Orden	Fecha	Descripción del Cambio Realizado
1	07-27	Actualización del documento.
2	07-27	Revisión y actualización del documento

Nombre	Función	Nombre	Función
OS QUIROZ	COORDINADOR	HERNANDO GAMBOA	INVESTIGADOR
07-27	07-27	07-27	07-27

**CUANTIFICACION DE MICROALGAS**

**OBJETIVO**

Determinar la cantidad de células de micro algas por mililitros en la unidad de cultivo

**PROCEDIMIENTO**

Determinar la curva de crecimiento para cada especie de algas para conocer el momento óptimo de utilización.

**EQUIPOS Y MATERIALES**

- Hemacitómetro Cámara de Neubauer.
- Microscopios.
- Guantes quirúrgicos.
- Tapa bocas.
- Tubos de ensayos

- 
- Beaker 50 ml.
  - Pipeta aforada de 1 ml.
  - Solución de Lugol.
  - Alcohol 96%.
  - Formatos de registros

#### A PASO

- Coger una muestra de 5 ml del cultivo a contar y colocarla en un tubo de ensayo. Añadir una gota de disolución de Lugol y mezclar bien.
- Preparar Cámara Neubauer y cubreobjetos limpios.
- Poner una gota de la suspensión de algas bien mezclada en la Cámara Neubauer y tapar con el cubreobjetos.
- Comprobar en baja magnificación que las células de algas están uniformemente distribuidas: evitar la presencia de burbujas de aire, cavidades demasiado llenas, demasiado vacías y distribución irregular de células.
- Dejar reposar las células 5 minutos antes de contarlas.
- Empezar a contar en el cuadrado de la esquina superior izquierda y contar sólo aquellas células que queden dentro o toquen las líneas límite elegidas de acuerdo a una de dos posibilidades: líneas de la izquierda y el fondo o de la derecha y arriba
- hacer un recuento total en cada uno de los cuatro cuadrados de las esquinas y en el cuadrado central; repetir esta cuenta en la segunda cámara
- Calcular la densidad de células promedio del modo siguiente: la cuenta total dividida por el número de bloques y multiplicada por 10000
- Anotar la cuenta de cada muestra e introducirla en la curva de crecimiento de población de algas preparada para cada recipiente de cultivos

#### SEGURIDAD

##### Peligros Identificados y Precauciones

- ✓ Uso permanente de los elementos de protección básicos para este tipo de trabajo (Gafas, Tapa Bocas, Guantes, Bata de laboratorio)
- ✓ Posibles lesiones en las manos.
- ✓ Movimientos y posturas corporales incorrectas.
- ✓ Golpearse con objetos.
- ✓ Verificar que el Análisis de Riesgo sea el adecuado para el trabajo a realizar.
- ✓ No realizar ninguna tarea contemplada en el procedimiento si no se tiene el conocimiento o entrenamiento suficiente para ejecutarla con seguridad.

---

## AMBIENTE

- ✓ Se generan residuos tales como cloro, formol micro algas.

## ACTOS Y/O REGISTROS

### Formularios de registros.

Se llenan los formularios de registro, donde se consignarán los datos importantes de cada evento.

## CONDICIONES

El cumplimiento de este instructivo está a cargo del coordinador del laboratorio, investigador y del técnico de producción de alimento vivo.

### PERSONAL EJECUTANTE:

Emplear Correctamente los equipos de Protección Personal y verificar su correcto estado.

Aplicar Correctamente este procedimiento de trabajo.

Mantener y dejar en buenas condiciones de orden y aseo el área de trabajo.

## ROL DE CAMBIOS

Fecha	Descripción	Realizado
07-27		Revisión del documento.
06-27		Actualización documento

Nombre	Función	Nombre	Función
OS QUIROZ		HERNANDO GAMBOA	
06-27		06-27	

## REGISTROS FOTOGRAFICOS



CamiloQR | Buenaventura, Valle del Cauca



CamiloQR | Buenaventura, Valle del Cauca



CamiloQR | Buenaventura, Valle del Cauca

