



cumplir con los parámetros y por ende el entorno ambiental, tal y como se muestra en la siguiente figura.

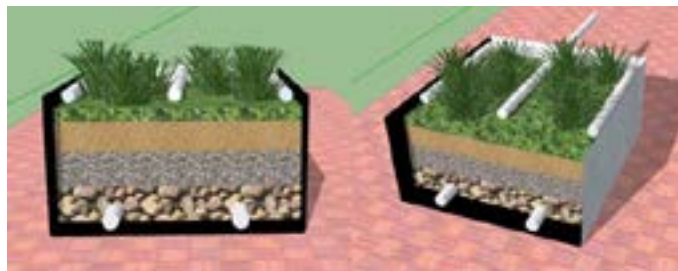


Figura 4. Diseño prototipo funcional de humedal artificial flujo sub superficial en sección frontal y lateral.

Discusión y conclusiones

El diagnóstico realizado inicialmente deduce que aunque el hotel Olga Lucia usa un sistema de tratamiento de aguas residuales para la mitigación de la contaminación; este sistema se ve afectado directamente por las condiciones en las que se encuentran las redes hidráulicas del hotel, ya que estas descargan en un misma caja de inspección alterando de manera significativa los vertimientos que ya han sido tratados por la PTAR; agregándole además que el filtro implementado para un último tratamiento, no presenta con frecuencia un mantenimiento lo cual genera que su función no sea eficiente.

Debido a que los sistemas convencionales en el tratamiento de aguas residuales acarrear costos de construcción, operación y mantenimiento uno de los atractivos más destacados de los sistemas naturales es su bajo costo, los cuales no necesitan energía, ni mano de obra calificada. Se puede deducir que son sistemas de tratamientos sostenibles y viables económicamente, sin embargo, aunque las lagunas son también tratamientos biológicos, requieren un mayor acondicionamiento en terreno y trabaja preferiblemente grandes cargas contaminantes; motivo por el cual se ha seleccionado este sistema de humedal artificial como un tratamiento secundario adicional dentro del proceso de remoción de agua residual que realiza el hotel con las fosas sépticas, trampa de grasa y el filtro los cuales efectúan la separación de sólidos, grasas o aceites; además el humedal de flujo sub superficial escogido presenta facilidad operativa, no genera malos olores ni reproducción de mosquitos y promueve la restauración ecológica en el paisaje; los cuales ayudarán por medio del proceso de remediación natural con las plantas vetiver a mejorar las condiciones del efluente.

Referencias Bibliográficas

Fernández, J (2011). Manual de fitodepuración. Filtros de macrofitas en flotación. Madrid: EDITA.

Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios ambientales de Colombia (2010) Guía para el monitoreo de vertimientos de aguas superficiales y subterráneas. Recuperado de: <http://oab.ambientebogota.gov.co/es/con-la-comunidad/gui-a-para-el-monitoreo-de-vertimientos-aguas-superficiales-y-aguas-subterranas>

La Iglesia G, J. (2016) Filtros verdes. Humedales. Macrofitas. Módulo de gestión de aguas residuales y reutilización. Escuela de Organización Industrial. <https://www.eoi.es/>

Luna, VM & Aburto, S (2015). Sistema de humedales artificiales para el control de la eutrofización del lago del Bosque de San Juan de Aragón. Universidad Nacional Autónoma de México Distrito Federal, México Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, vol. 17, núm. 1, 2014, pp. 32-55. Recuperado: <http://www.redalyc.org/pdf/432/43230982003.pdf>

Ministerio de Ambiente (2015) Resolución 631 de 2015. Recuperado de: http://www.minambiente.gov.co/images/normativa/app/resoluciones/d1res_631_marz_2015.pdf

Romero, M., et al, (2009). Tratamiento de aguas residuales por un sistema piloto de humedales artificiales: evaluación de la remoción de la carga orgánica. Rev. Int. Contam. Ambient. 25 (3), 157 – 167

Universidad politécnica de Cataluña. Barcelona Tech (2018). Recuperado de: https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/5209/03_Memoria.pdf?sequence=4&isAllowed=y

Vetivercolsas (2017). Información técnica del pasto Vetiver. Recuperado de: <http://www.vetivercolsas.com/pasto-vetiver>



IDENTIFICACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ACUMULACIÓN DE BIOPOLÍMEROS OLIHIDROXIALCANOATOS POR BACTERIAS AISLADAS DE SUELO EL VALLE DEL CAUCA

ASSESSMENT STORAGE CAPACITY POLYHYDROXYALKANOATES BIOPOLYMER BY BACTERIA ISOLATED FROM VALLE DEL CAUCA SOILD

Giselle Katherine Narváez - katerinnarvaez888@gmail.com
Nathalia Montañó - nataliamvalencia78@gmail.com
Ana Carolina Lemos Delgado - alemosd@sena.edu.co
Colombiana, Aprendices Tecnoacademia Cali, área de Biotecnología, Centro ASTIN, SENA Regional Valle

RESUMEN

Los Polihidroxialcanoatos (PHA's), son gránulos intracelulares acumulados por bacterias bajo condiciones de estrés nutricional donde se presente un desbalance Carbono/ Nitrógeno. Los PHA's tienen propiedades fisicoquímicas similares a los plásticos petroquímicos convencionales, a diferencia que son biodegradables. Si bien en la actualidad se conocen más de 300 géneros de bacterias productoras de estos biopolímeros, solo la *Ralstonia eutropha* es la más utilizada por su altos porcentajes de acumulación de gránulos intracelulares de hasta un 90% de su peso seco, lo que asegura un proceso de alta producción. Por ello, en esta investigación se exploraron muestras de suelo del departamento del Valle del Cauca Colombia, en búsqueda de bacterias productoras de PHA's; para ello, se realizaron siembras y aislamiento en caldo y agar nutritivo de las bacterias de suelo. Posteriormente, cada bacteria

fue llevada a una condición de estrés nutricional en medio básico de Carbono, nitrógeno y fósforo. La detección presuntiva de bacterias con la capacidad de acumulación de PHA's a partir de muestras de suelo, se realizó a partir de reconocimientos cualitativos colorimétricos en la célula, con los colorantes negro sudan y azul de Nilo. La metodología utilizada permitió aislar 3 bacterias de suelo de las cuales 2 presentaron acumulación positiva del biopolímero.

Palabras clave: Plásticos biodegradables, Tinciones, Negro Sudan, Azul de nilo,

ABSTRACT

Polyhydroxyalkanoates (PHA's) are intracellular granules accumulated by bacteria under conditions of nutritional stress where a Carbon / Nitrogen imbalance occurs. PHAs have physicochemical properties similar to conventional petrochemical plastics, unlike these are biodegradable. While, currently more than 300 producing bacteria genera of these biopolymers are known, only Ralstonia eutropha is the most used because of its high percentage of accumulation of intracellular granules, up to 90% of its dry weight, which ensures a high production process. Due to this, through this research soil samples from the department of Valle del Cauca-Colombia were explored, all of it, in search of PHA's producing bacteria; for this, sowing and isolation in broth and nutritive agar of the soil bacteria were made. Subsequently, each bacterium was taken to a condition of nutritional stress in a basic medium of carbon, nitrogen and phosphorus. The presumptive detection of bacteria with the accumulation capacity of PHA's from soil samples was carried out from qualitative colorimetric surveys in the cell, with black sweat and Nile blue dyes. The methodology used allowed to isolate 3 soil bacteria, from which 2 of them presented positive accumulation of the biopolymer.

Keywords
Biodegradable plastics, Stains, Sudan Black, Nile Blue



INTRODUCCIÓN

Los polihidroxialcanoatos (PHA's) son biopolímeros termoestables, sintetizados por bacterias que los acumulan como reservas de carbono y energía, en forma de gránulos intracelulares. Dependiendo de la especie bacteriana, del sustrato utilizado y de la fase de crecimiento microbiana, éstos pueden llegar a representar entre el 45% y el 85% del peso seco celular del microorganismo (Reddy et al., 2003).

Los PHA's son sustitutos atractivos de los poliésteres de origen petroquímico, dado que tienen propiedades similares a las de varios termoplásticos y elastómeros, con la ventaja de ser totalmente biodegradables (Sttube y Tian, 2003; Dionisi et al., 2004 citados por Sanchez et al., 2012.). En la naturaleza, los microorganismos son capaces de degradarlos hasta CO₂ y agua, en condiciones aerobias, y hasta metano, en condiciones anaerobias, por acción de las enzimas PHA despolimerasas y PHA hidrolasas (Barbosa et al., 2005).

Es importante resaltar, que la industria del plástico produce en la actualidad 40 mil millones de kilogramos de plástico al año aproximadamente, de los cuales cerca del 40% tiene como destino final vertederos y sistemas hídricos de las grandes urbes. El problema ha sido un incentivo para la búsqueda de alternativas biodegradables a los polímeros sintéticos. Se ha conseguido alguna mejora en este tema, incluyendo plásticos fotodegradables, plásticos que llevan incorporado almidón y plásticos de origen microbiano (Madigan et al., 2004).

Si bien se han descrito un gran número de bacterias productoras de PHAs, las cuales se han aislado de suelos, aguas y especies vegetales. La capacidad de las bacterias de colonizar diferentes ambientes, principalmente de los suelos, es el reflejo de estrategias de supervivencia. La síntesis de PHA's puede considerarse como ventaja competitiva, porque son reservas carbonadas que algunos microorganismos producen cuando hay limitaciones nutricionales en el ambiente (Madigan et al., 2000 citado por Fernandez & Bravo 2009). Sin embargo, pocos son los estudios relacionados con microorganismos autóctonos y su capacidad de acumular PHA's; de ahí que los suelos del valle del cauca debido al uso intensivo de plaguicidas y fertilizantes agroquímicos utilizados en el monocultivo de la caña de azúcar, ocasione cambios en las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas del suelo, posibilitando la presencia de microorganismos adaptados a fuertes condiciones de estrés, lo que permite plantear la hipótesis: existen microorganismos nativos en los suelos del Valle del Cauca con la capacidad de acumulación de Polihidroxialcanoatos?.

Finalmente, este proyecto, busca contribuir al reconocimiento e identificación de microorganismos nativos con la capacidad de acumular el biopolímero de tipo PHA.

MATERIALES Y METODOS

Muestreo

Para el desarrollo de esta investigación se tomaron 3 muestras al azar de suelos del departamento del Valle del Cauca-Colombia como la vía Cali-Palmira coordenadas 3°31'03.3"N 76°22'11.0"W, Márgenes del Ferrocarril de la Ciudad de

Cali coordenadas 3°27'24.3"N 76°31'10.6"W y el Municipio de Jamundí coordenadas 3°15'22.7"N 76°32'43.0"W. Las muestras de suelo se colectaron a 15cm de profundidad en sentido horizontal a la superficie. Todas las muestras se refrigeraron y se llevaron al laboratorio de Biotecnología de la Tecnoacademia Cali en el menor tiempo posible.

Aislamiento presuntivo de bacterias productoras de PHA's
Se tomaron 10 g de cada una de las muestras de suelo, se maceraron y se re-suspendieron en 90 ml de agua destilada estéril. A continuación se filtró en un sistema de filtración por membrana marca Merck Millipore con un filtro de membrana de 0.45µm.

Los filtros obtenidos fueron puestos en medio de cultivo Caldo nutritivo por un periodo de 48 horas en agitación constante a 30°C. Finalmente transcurrido este tiempo, se tomaron alícuotas de 100µL que fueron sembradas en Agar Nutritivo bajo la técnica de siembra por extensión (Madigan et al., 2009). Las cajas de Petri inoculadas, fueron incubadas en una incubadora Lab Scient modelo DNP-9052^a a 30°C durante 24 horas.

Caracterización de las bacterias aisladas

A partir de las cajas incubadas, se realizaron reconocimientos macroscópicos y microscópicos de las bacterias aisladas con el estereoscopio Leica S8AP0, aumentos de 4 y 6.3 X.

Selección de bacterias productoras de PHA's
Para evaluar la capacidad de acumulación de PHA's por los aislamientos obtenidos, se prepararon medios de cultivo de estrés, compuestos por sulfato de amonio (4gr/Litro), Difosfato básico de potasio (6gr/Litro) y glucosa (10gr/Litro). Cada uno de los morfo tipos diferentes reconocidos en los aislamientos realizados, los cuales fueron escogidos de acuerdo a su predominancia dentro del cultivo en las 3 muestras obtenidas del suelo. Posteriormente fueron sometidos al crecimiento en medio de estrés bajo los parámetros de agitación constante y temperatura de 30°C durante 72 horas.

Determinación cualitativa de la capacidad de acumulación de PHA's por las bacterias aisladas
Para realizar la determinación cualitativa de la capacidad de acumulación de PHA's en las bacterias aisladas, se emplearon técnicas especiales de coloración, como lo son tinción Negro Sudan y tinción Azul de Nilo (Banacore, 2014):

Tinción de Negro Sudan:

Para realizar esta tinción se realizó un frotis de la bacteria, el cual fue cubierto en su totalidad por el colorante Negro Sudan B durante 15 minutos, el exceso de colorante es retirado con papel filtro y el frotis es decolorado con Xileno durante un periodo de 20 segundos. Para generar el contraste en la tinción, se utiliza el contra-colorante Safranina durante 1 minuto.

Finalmente se lava, se deja secar y observada al microscopio.

Tinción de Fluorescencia Azul de Nilo:
Se realizó un frotis bacteriano, se colorea con colorante azul de Nilo durante 15 minutos, transcurrido este tiempo se lava con agua destilada y seguidamente con ácido



acético diluido al 8% durante 1 minuto. Para finalizar la preparación, es lavada una vez más con agua destilada, secada con papel filtro y observada al microscopio de fluorescencia Leica DM1000.

RESULTADOS Y ANALISIS

A partir de las muestras de suelo, se lograron aislar 3 colonias de morfo tipos diferentes según la caracterización macroscópica realizada, donde se resaltan aspectos tales como pigmentación, tamaño, forma, elevación, aspecto de superficie, borde, consistencia y capacidad de transmitir o reflejar la luz. Estas características pueden ser observadas en la figura 1.

Desde la caracterización microscópica, se pudieron identificar formas y composición de la membrana celular. En la figura 2, puede apreciarse las formas de bacilos y cocos para las 3 colonias aisladas, al mismo tiempo a partir de la tinción diferencial de Tinción de Gram, se pudieron reconocer dos de

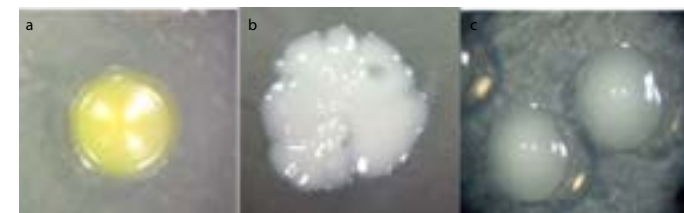


Figura 1. Caracterización macroscópica morfo tipos aislados en muestras de suelo. Estereoscopio Leica aumentos (a) pigmentación de color amarillo crema, tamaño mediano, forma irregular, elevación umbilicada, superficie rugosa y borde filamentosos, aspecto húmedo, luz reflejada brillante, luz transmitida opaca (b) pigmentación de color blanco, tamaño mediano, forma irregular, elevación chata, superficie lisa, borde ondulado, aspecto húmedo, luz reflejada brillante, luz transmitida opaca (c) pigmentación de color beige, tamaño mediano, morfología circular, elevación chata, superficie lisa, borde irregular, t aspecto húmedo, luz reflejada brillante, luz transmitida mate. Fuente: Elaboración propia.

las colonias como Gram positivas y una Gram negativa. Las tinciones diferenciales son aquellas que no tiñen del mismo modo todos los tipos de células. Una tinción diferencial muy importante y ampliamente usada es la tinción de Gram, dividiendo las bacterias de acuerdo en su coloración en Gram positivas (color morado) y Gram negativas (color rojo). Estas diferencias en la coloración de las bacterias, se deben a las diferencias en la estructura de la pared celular (Madigan et al., 2009). Esta caracterización, permite hacer un acercamiento a la clasificación ya que para identificar una bacteria desconocida es casi esencial determinar en primer lugar si es Gram Positiva o Gram negativa.

Figura 2 Caracterización microscópica de bacterias aisladas de muestras de suelo. Coloración Gram. Aumento de 100X. a) Bacilos Gram positivos (b) Cocos Gram negativos (c) Bacilos Gram positivos. Fuente: Elaboración propia.

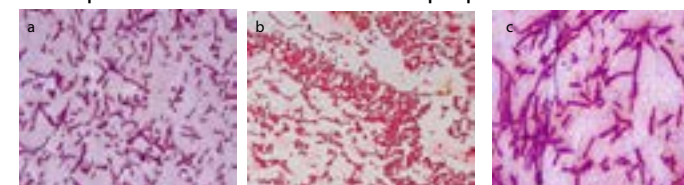


Figura 2 Caracterización microscópica de bacterias aisladas de muestras de suelo. Coloración Gram. Aumento de 100X. a) Bacilos Gram positivos (b) Cocos Gram negativos (c) Bacilos Gram positivos. Fuente: Elaboración propia.

Tras inocular las tres bacterias aisladas al medio de producción de PHA, se observó un crecimiento positivo, determinado por la turbidez de los medios de cultivo. Tras la coloración específica de negro sudan, tal como lo muestra la figura 3 (a), (b), se pudo determinar presuntivamente que 2 de las 3 bacterias presentan la capacidad de acumular el polímero PHA. Los gránulos intracelulares que corresponden a PHA se ven teñidos de negro, mientras que el resto de la célula se puede ver con una tinción rosada que corresponde al

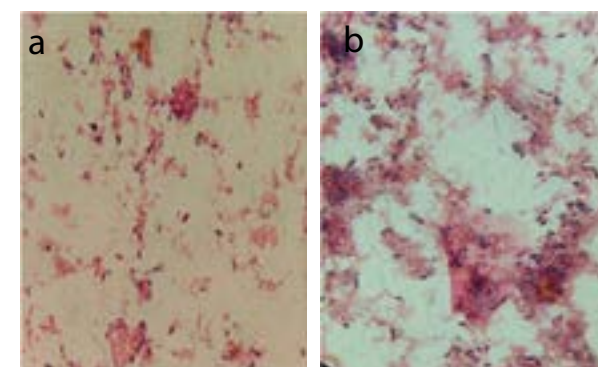


Figura 3 (a) (b). Coloración Negro Sudan. Aumento 100X. Fuente: Elaboración propia.

colorante para generar contraste (safranina) (Banacore, 2014). La verificación de la coloración con azul de Nilo, permitió confirmar la capacidad de acumulación de biopolímeros tipo PHA's en dos de las cepas bacterianas aisladas de las muestras

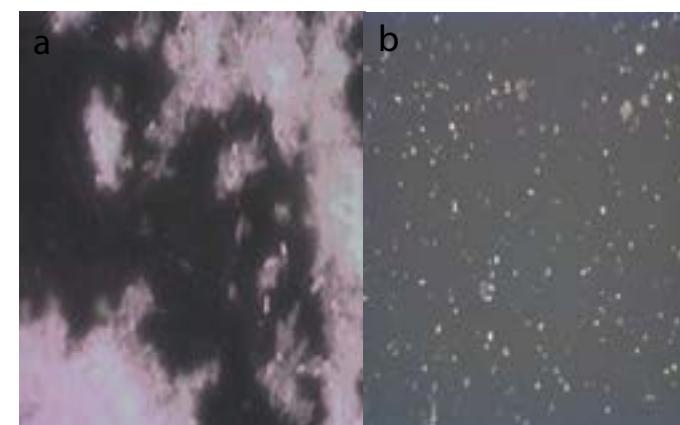


Figura 4 (a) (b). Coloración de fluorescencia Azul de Nilo. Aumento de 100X. Fuente: Elaboración propia.

de suelo. Figura 4 (a) (b).

Los microorganismos encontrados y aislados de las muestras de suelo, son claves en los procesos de investigación que se desarrollan a nivel mundial en referencia a la búsqueda de microorganismos capaces de producir estos polímeros biodegradables, dada la vital importancia para el incremento en el rendimiento de los procesos fermentativos de síntesis, así como la disminución de los costos asociados a su producción que en la actualidad son considerados los puntos críticos de la producción a escala industrial.

Los resultados obtenidos permiten determinar que tanto bacterias Gram positivas como Gram negativas, tienen la capacidad de producir Polihidroxialcanoatos PHA bajo condiciones de estrés nutricional.

CONCLUSIONES

Es posible obtener polihidroxialcanoatos PHA's a partir de suelos y utilizando bacterias silvestres del departamento del Valle del Cauca

Existe un uso potencial de los microorganismos nativos en procesos Biotecnológicos que sean llevados a escala Industrial.

Los polihidroxialcanoatos son biopolímeros versátiles con diversas aplicaciones en industrias como la farmacéutica, la biomedicina, de alimentos, embalaje, entre otras. Los PHA's son biodegradables y se pueden producir de una forma sostenible y amigable con el medio ambiente, utilizando materias primas renovables o de desecho industrial.

BIBLIOGRAFIA

Banacore, A. (2014). Estudio de la producción de Polihidroxialcanoatos (PHA) por *Bacillus* sp. utilizando glicerol como fuente de carbono. Tesis de grado. Universidad de la Republica Uruguay.

Barbosa, M., Espinosa, A., Malagón, D. y Moreno N. (2005). Producción de Poli-BHidroxibutirato (PHB) por *Ralstonia eutropha* ATCC 17697. *Universitas Scientiarum*. 10(1), 45-54.

Madigan M.T, Martinko J.M., Dunlap P.V. and Clark D.P. (2009). Brock Biología de los microorganismos, 12a edición, UK, Pearson Education.

Fernández, P. y Bravo, D. (2009). Abundancia de bacterias productoras de Polihidroxialcanoato en suelos de la región andina de Nariño, Colombia. *Revista Centro de Estudios en Salud* 9(1).

Madigan, M., Martinko, J., Dunlap, P., & Clark, D. (2009). Brock, Biología de los Microorganismos. Madrid, España: Pearson Educación

Reddy, C.S.K., Kalia, V.C. y Rashm, C. R. (2003). Polyhydroxyalkanoates: an overview. *Bioresource Technology*. 87, 137-146.

Sánchez, S. A., Marín, M.A., Mora, A.L. y Yepes M.S. (2012). Identificación de bacterias productoras de polihidroxialcanoatos (PHAs) en suelos contaminados con desechos de fique. *Revista colombiana de Biotecnología* 14 (29), 89-100.



APRENDIZAJE COLABORATIVO EXPERIENCIA PROYECTO FORMULA SAE-BRASIL SENA – UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA.

COLLABORATIVE LEARNING EXPERIENCE PROJECT FORMULA SAE-BRAZIL SENA - UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA.

Ing. Ángel Andrés Vásquez Ospina,
SENA, Centro de Diseño e Innovación
Tecnológica Industrial, Colombia,
avasquezo@misena.edu.co.



Resumen

Este trabajo describe una experiencia significativa de aprendizaje colaborativo en el desarrollo del proyecto Formula SAE BRASIL, donde a través de la interacción entre aprendices SENA y estudiantes universitarios se logra el diseño y construcción de un vehículo de competencia internacional, simulando un entorno organizacional al nivel de empresas de ingeniería. En este proceso, el aprendizaje entre los diferentes miembros del equipo se desarrolla de forma cooperativa, donde cada estudiante y aprendiz es corresponsable y está comprometido con el aprendizaje de su compañero siendo motivados por alcanzar las metas comunes.

Palabras clave Aprendizaje colaborativo, Formación por proyectos, Formula SAE.

Abstrac

This work describes a significant collaborative learning experience in the development of the Formula SAE BRAZIL project, where through the interaction between SENA apprentices and university students the design and construction of a vehicle of international competence is achieved, simulating an organizational environment at the level of engineering companies. In this process, the learning among the different members of the team is developed in a cooperative way, where each student and apprentice is co-responsible and is committed to the learning of their partner being motivated to reach the common goals.

Keywords Collaborative learning, Training by projects, Formula SAE.

Introducción

Aprendices del SENA cede Centro de Diseño e Innovación Tecnológico Industrial, de la Regional Risaralda y estudiantes de la Universidad Tecnológica de Pereira, tuvieron la iniciativa de ser el primer equipo Colombiano participe de la competencia Formula SAE Brasil.

La fórmula SAE1 es una competición entre estudiantes de universidades de todo el mundo que promueve la excelencia en ingeniería a través de una competición donde los miembros del equipo diseñan, construyen, desarrollan y ponen a prueba un vehículo monoplaza, adicionalmente deben gestionar el proyecto como una propuesta comercial que incluye plan de costos, propuesta de marketing, y la preparación para una rueda de negocios donde deben vender la idea a jurados que simulan ser posibles inversionistas.

Los estudiantes Universitarios llegaron al SENA buscando asesoría técnica en el proceso de diseño de un vehículo de estas características debido a la reconocida experiencia del centro de formación en este campo gracias a su participación en proyectos como Formula SENA y Formula SENA ECO2, donde equipos de instructores y aprendices debían diseñar y construir vehículos similares a los que se pretenden en

