



UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
BIBLIOTECA EDUARDO COTE LAMUS



## RESUMEN – TESIS DE GRADO

**AUTORES: JULIÁN EDUARDO REY NÚÑEZ**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE**

**PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA DE PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA**

**DIRECTOR: PAULA ANDREA ATEHORTÚA OSORIO**

**TITULO DE LA TESIS: EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE UN MUTANTE ASPOROGÉNICO DE *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* A ESCALA LABORATORIO Y PLANTA PILOTO EN LA UNIDAD DE BIOTECNOLOGÍA Y CONTROL BIOLÓGICO DE LA CORPORACIÓN PARA INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS - CIB**

### **RESUMEN**

En el siguiente trabajo se analizaron 2 cinéticas a escala laboratorio y 2 cinéticas en planta piloto (reactor de 20 litros) para cada microorganismo evaluado. Las cinéticas hechas en laboratorio se realizaron bajo las condiciones ambientales de temperatura 30°C, agitación 250 rpm y con un volumen de medio de cultivo CIB1x de 50 ml en erlenmeyers con capacidad de 100 ml; las fermentaciones en planta piloto fueron realizadas en un reactor de tanque agitado de 20 litros con volumen efectivo de 11 litros en operación discontinua, control automático de pH entre 6.5 y 8.5, y control de formación de espuma; a una temperatura de 30°C.

### **CARACTERÍSTICAS**

PAGINAS 63 PLANOS      ILUSTRACIONES      CD-ROM 1

**EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE UN MUTANTE  
ASPOROGENICO DE *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* A ESCALA  
LABORATORIO Y PLANTA PILOTO EN LA UNIDAD DE BIOTECNOLOGÍA Y  
CONTROL BIOLÓGICO DE LA CORPORACIÓN PARA INVESTIGACIONES  
BIOLÓGICAS - CIB**

**JULIÁN EDUARDO REY NÚÑEZ**

**UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA DE PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA  
SAN JOSÉ DE CÚCUTA  
2007**

**EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE UN MUTANTE  
ASPOROGENICO DE *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* A ESCALA  
LABORATORIO Y PLANTA PILOTO EN LA UNIDAD DE BIOTECNOLOGÍA Y  
CONTROL BIOLÓGICO DE LA CORPORACIÓN PARA INVESTIGACIONES  
BIOLÓGICAS - CIB**

**JULIÁN EDUARDO REY NÚÑEZ**

**Trabajo de Grado presentado como requisito para optar al título de Ingeniero  
de producción Biotecnológico**

**Director  
PAULA ANDREA ATEHORTÚA OSORIO  
Ingeniera Química**

**UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA DE PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA  
SAN JOSÉ DE CÚCUTA  
2007**



**ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO**

**FECHA:** 20 DE DICIEMBRE DE 2006

**HORA:** 08:30 A.M.

**LUGAR:** SALA 3 EDIFICIO CREAD

**PLAN DE ESTUDIOS:** INGENIERIA DE PRODUCCION BIOTECNOLOGICA

**TITULO DE LA TESIS:** "EVALUACION DE LA CINETICA DE CRECIMIENTO DE UN MUTANTE ASPOROGENICO DE *Bacillus thuringiensis* serovar. *Israelensis* A ESCALA LABORATORIO Y PLANTA PILOTO EN LA UNIDAD DE BIOTECNOLOGÍA Y CONTROL BIOLÓGICO DE LA CORPORACION PARA INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS -CIB".

**JURADOS:** FABIAN GALVIS SERRANO  
EULICER PEDROZA ROJAS  
RUBI RODRIGUEZ

**DIRECTOR:** PAULA ANDREA ATEHORTUA OSORIO

NOMBRE DEL ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
JULIAN EDUARDO REY NUÑEZ	0610256	4.60

**OBSERVACIONES:**  
MERITORIA

**FIRMA DE LOS JURADOS:**

Vo.Bo. Coordinador Comité Curricular

Gracias a mis padres, Carlos Jorge Rey Arévalo y Mercedes Núñez Contreras por todo el apoyo que me han dado durante toda mi vida, por la persistencia y ayuda conjunta para que mis sueños se hagan realidad.

Gracias a los profesores de la Universidad Francisco de Paula Santander, en especial a los profesores del plan de Estudios de Ingeniería de Producción Biotecnológica por todo el conocimiento y formación personal que me han aportado para ser un profesional íntegro.

Gracias a mis amigos y compañeros de la Unidad de Biotecnología y Control Biológico de la Corporación para Investigaciones Biológicas CIB, por brindarme la oportunidad de desempeñarme como un futuro profesional.

## **AGRADECIMIENTOS**

El autor del trabajo expresa sus agradecimientos a:

A la Ingeniera Paula Andrea Atehortúa Osorio, M.Sc., directora del trabajo, por ser el pilar y la ayuda constante, quien con su calidad humana y experiencia acompañó el desarrollo de ésta investigación.

## CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	16
1. METODOLOGIA DE ESTUDIO	20
1.1 CEPA ESTUDIO	20
1.1.1 Obtención de la cepa de mutante asporogenico <i>Bacillus thuringiensis</i> serovar. <i>Israelensis</i>	20
1.2 CEPA REFERENCIA	20
1.2.1 Obtención de la cepa de <i>Bacillus thuringiensis</i> serovar. <i>Israelensis</i>	20
1.3 MANEJO MICROBIOLÓGICO EN Bti SPO- y Bti IPS82	20
1.3.1 Control y mantenimiento del mutante asporogénico	20
1.3.2 Preparación de la solución de esporas para Bti IPS82	21
1.4 FERMENTACIONES	21
1.4.1 Proceso fermentativo realizado para las cinéticas a escala de laboratorio y planta piloto para Bti SPO- y Bti IPS82	21

1.4.2 Proceso de fermentación del fermentador de 20 litros para Bti SPO	22
1.5 DETERMINACIÓN DE LAS VARIABLES PARA EL ANÁLISIS DE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DEL MUTANTE ASPOROGÉNICO DE BTI SPO- Y BTI IPS82	25
1.5.1 Determinación de la concentración de biomasa	25
1.5.2 Determinación de la toxicidad del cultivo completo final	26
1.5.3 Solubilización de las proteínas tóxicas y determinación de la concentración de proteínas en el cultivo completo final	27
1.5.4 Técnica SDS PAGE	28
1.5.5 Tinción de esporas	29
2. RESULTADOS Y DISCUSIONES	30
2.1 CINÉTICAS A ESCALA DE LABORATORIO	30
2.1.1 Producción de biomasa y consumo de glucosa	30
2.1.2 Producción y determinación cualitativa de proteína del cultivo completo final a escala laboratorio	33
2.1.3 Toxicidad del cultivo completo final a escala laboratorio	36
2.1.4 Rendimientos cinéticos a escala laboratorio	37



2.2 CINÉTICAS A ESCALA PLANTA PILOTO	40
2.2.1 Producción de biomasa y consumo de glucosa	40
2.2.2 Producción y determinación cualitativa de proteína del cultivo completo final en planta piloto	43
2.2.3 Toxicidad del cultivo completo final en planta piloto	46
2.2.4 Rendimientos cinéticos en planta piloto	47
2.2.5 Análisis de pH y oxígeno disuelto en las fermentaciones	47
2.2.6 Tiempo total de las fermentaciones realizadas en planta piloto y laboratorio para Bti SPO- y Bti IPS82	51
3. CONCLUSIONES	53
4. RECOMENDACIONES	54
BIBLIOGRAFIA	55
ANEXOS	58