



UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
BIBLIOTECA EDUARDO COTE LAMUS



## RESUMEN – TESIS DE GRADO

**AUTORES: JORGE MARIO BERRIO RESTREPO**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE**

**PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERIA DE PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA**

**DIRECTOR: MARIO EVELIO ARIAS ZÁBALA**

**TITULO DE LA TESIS: EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS A PARTIR DE CÉLULAS EN SUSPENSIÓN DE *Calendula officinalis***

### **RESUMEN**

En la actualidad se han desarrollado técnicas que permitan obtener sustancias con alto interés comercial a partir de las plantas, las cuales son difíciles de obtener empleando procedimientos químicos o por extracción directa. Sin embargo, se ha demostrado la necesidad de desarrollar medios que permitan incrementar dicha acumulación de sustancias empleando factores de diversos orígenes. En la presente investigación, se utilizó la quitosana para estimular la acumulación de sustancias con alto interés por parte de cultivos de la especie vegetal en cuestión y se estudiaron los efectos de dicho estímulo, al igual que las características descritas por su crecimiento.

### **CARACTERISTICAS**

**PAGINAS\_90\_ PLANOS\_\_ ILUSTRACIONES \_\_\_ CD-ROM\_\_1\_\_**

**EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS A  
PARTIR DE CÉLULAS EN SUSPENSIÓN DE *Calendula officinalis***

**JORGE MARIO BERRIO RESTREPO**

**UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERIA DE PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA  
SAN JOSÉ DE CÚCUTA  
2008**

**EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS A  
PARTIR DE CÉLULAS EN SUSPENSIÓN DE *Calendula officinalis***

**JORGE MARIO BERRIO RESTREPO**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Ingeniero  
de Producción Biotecnológica**

**Director  
MARIO EVELIO ARIAS ZÁBALA  
Ingeniero Químico, M. Sc.**

**UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERIA DE PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA  
SAN JOSÉ DE CÚCUTA  
2008**



UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
INGENIERÍA DE PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA

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

**FECHA:** 15 DE FEBRERO DE 2008

**HORA:** 04:00 P.M.

**LUGAR:** SALA 3 EDIFICIO CREAD

**PLAN DE ESTUDIOS:** INGENIERIA DE PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA

**TITULO DE LA TESIS:** " EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS APARTIR DE CELULAS EN SUSPENSIÓN DE *Calendula Officinalis* "

**MODALIDAD:**

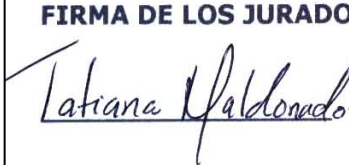

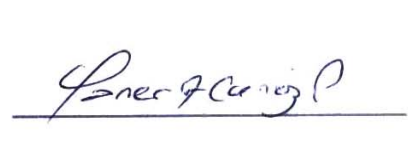
**JURADOS:** JENNY TATIANA MALDONADO MORALES  
JESUS ARTURO RAMIREZ SULVARAN  
YANETH AMPARO MUÑOZ PEÑALOZA

**DIRECTOR:** MARIO EVELIO ARIAS ZABALA

NOMBRE DEL ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
JORGE MARIO BERRIO RESTREPO	0610344	4,5

**OBSERVACIONES:**  
MERITORIO

**FIRMA DE LOS JURADOS:**

Vo.Bo. Coordinador Comité Curricular





Quisiera dedicar y expresar mis más sinceros agradecimientos a todos y cada uno de los mencionados a continuación, esperando no olvidar injustamente a ninguno.

A Dios por darme la vida, el libre albedrío, por bendecirme día a día y por fortalecer mi cordura para continuar luchando.

A Margarita, mi madre, por el amor brindado, su cariño, comprensión, paciencia, sacrificio, apoyo incondicional y la inmensa confianza depositada en mí. Porque su recuerdo, fijo en mi memoria, me alentaba a la distancia cada mañana, a seguir adelante. Las palabras son demasiado cortas para expresar toda mi gratitud hacia ella. Este logro se lo quiero dedicar a ella y también es suyo en parte. A todos y cada uno de los miembros de mi maravillosa e incansable familia, especialmente a Beatriz, Jaime, Martha, Orlando por todo el cariño, paciencia, comprensión, apoyo y el calor de hogar brindado. Este logro también es suyo en parte.

A mis increíbles amigos, mi segunda familia, Jesús Hammett, Olga Victoria, Bernabé Alfonso, Diana Maritza, Diego Alejandro, Carlos Andrés, Omar, Eliana, Alejandra por su valiosa amistad, sus aportes, apoyo, comprensión e incondicional colaboración. A mis compañeros de laboratorio Leidy Maritza, Diana, Julie Andrea, Deisy Julieth, Miguel, Mónica, Juan Manuel, Jeferson, Luz Dary, Orlando José por su amistad, apoyo, colaboración y continuas discusiones que aportaron a la investigación.

A Gloria Luz (o Magia Soler), por nuestros esporádicos encuentros y los bostezos al discutir sobre la investigación. Nunca hizo falta hablar demasiado, las miradas y mi torpeza lo explicaban todo.

Al Rock 'N' Roll en la mayoría de sus diversos matices, por acompañarme y brindarme la energía necesaria durante el transcurso de la investigación. Al Punto Cerveceros Parque El Poblado y todo su equipo humano por acogerme como su trabajador y brindarme su gran apoyo y comprensión.

Y por supuesto, a la no menos importante, Villa de Nuestra Señora de la Candelaria de Medellín, mi ciudad anhelada. Por acogerme como hijo suyo y por sus numerosas y diversas flores.

## **AGRADECIMIENTOS**

A las directivas de la Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín por permitirme desarrollar mi investigación en sus instalaciones y especialmente al Ing. Mario Arias, mi director, por su confianza, apoyo y orientación.

A la Ing. Yaneth Muñoz, Directora del Plan de Estudios de Ing. de Producción Biotecnológica, por su inmensa y valiosa colaboración.

A los Ingenieros Jacqueline Capataz, Jair Gaviria, Arley Zapata, especialmente a este último, por su valiosa colaboración, amistad, asesorías y continuas discusiones que aportaron a la investigación.

## CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	18
1. PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS	22
1.1 ELICITACIÓN	24
1.2 LA QUITOSANA	25
2. DESARROLLO	28
2.1 FASE PREPARATIVA	28
2.1.1 Establecimiento de cultivos de callos	28
2.2 FASE LÍQUIDA O DE TRANSICIÓN	29
2.2.1 Establecimiento de suspensiones celulares	30
2.2.2 Mantenimiento de los cultivos de células en suspensión	30
2.2.3 Tamizaje de las suspensiones celulares	30
2.2.4 Pruebas de contaminación y viabilidad celular	31
2.3 FASE DE ELICITACIÓN	31

2.3.1 Homogenización de las suspensiones celulares	31
2.3.2 Elicitación de las suspensiones celulares	32
2.4 FASE DE ANÁLISIS	33
2.4.1 Estudio de la cinética de crecimiento	33
2.4.2 Determinación de la producción de metabolitos secundarios por Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	33
3. RESULTADOS Y DISCUSIONES	39
3.1 FASE PREPARATIVA	39
3.1.1 Establecimiento de cultivos de callos	39
3.2 FASE LÍQUIDA O DE TRANSICIÓN	42
3.2.1 Establecimiento de suspensiones celulares	42
3.3 FASE DE ELICITACIÓN	44
3.3.1 Homogenización de las suspensiones celulares	44
3.3.2 Elicitación de las suspensiones celulares	45
3.4 FASE DE ANÁLISIS	46
3.4.1 Estudio de la cinética de crecimiento	46



3.4.2 Determinación de la producción de metabolitos secundarios por HPLC (Cromatografía líquida de alta resolución)	51
4. CONCLUSIONES	62
5. RECOMENDACIONES	65
BIBLIOGRAFÍA	66
ANEXOS	73