



RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES):

NOMBRE(S): NATALIA MARCELA APELLIDOS: QUINTERO PACHECO

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERIA BIOTECNOLOGICA

DIRECTOR:

NOMBRE(S): VICTOR ERIC APELLIDOS: LOPEZ Y LOPEZ

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): PRODUCCIÓN DE LIPASAS DE *Pseudomonas aeruginosa* PARA LA CATÁLISIS ENZIMÁTICA DE ACEITE PARA LA PRODUCCION DE BIODIESEL

RESUMEN

Debido a la necesidad de buscar fuentes alternativas de combustibles fósiles surgió como respuesta la obtención de combustibles con enfoques biológicos a través de fuentes renovables, creando así la era de los biocombustibles. El presente trabajo se basó en la producción de células de *Pseudomonas aeruginosa* para la catálisis enzimática de aceites para la obtención de biodiesel. Donde las cepas seleccionadas MMS73 (C1) y CN52 (C3) en los medios de cultivo MM3 y MKB respectivamente, mostraron que las células completas en las 6, 12, 18, 24 y 28 horas de cultivo sirvieron como catalizadores enzimáticos en la reacción de transesterificación, donde se obtuvo biodiesel a las 72 horas de reacción.

PALABRAS CLAVE: Pseudomonas aeruginosa, Lipasas, Biodiesel.

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 163 PLANOS: ILUSTRACIONES: CD ROOM: 1

PRODUCCIÓN DE LIPASAS DE *Pseudomonas aeruginosa* PARA LA CATÁLISIS
ENZIMÁTICA DE ACEITE PARA LA PRODUCCION DE BIODIESEL

NATALIA MARCELA QUINTERO PACHECO

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

CÚCUTA

2014

PRODUCCIÓN DE LIPASAS DE *Pseudomonas aeruginosa* PARA LA CATÁLISIS
ENZIMÁTICA DE ACEITE PARA LA PRODUCCION DE BIODIESEL

NATALIA MARCELA QUINTERO PACHECO

Trabajo de Grado presentado como requisito para optar por el título de Ingeniero

Biotecnológico

Director

Dr. Víctor Eric López y López

Doctor en ciencias

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

CÚCUTA

2014



ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 19 MAYO DEL 2014 HORA: 04:00 P.M.

LUGAR: SALA DE FOTOGRAFIA - CREAD

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TITULO DE LA TESIS: "PRODUCCIÓN DE CÉLULAS DE *Pseudomonas aeruginosa* PARA LA CATÁLISIS ENZIMÁTICA DE ACEITE PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL".

MODALIDAD: INVESTIGACIÓN

JURADOS: YANETH AMPARO MUÑOZ PEÑALOZA
NESTOR ANDRES URBINA SUAREZ
JUAN CARLOS RAMIREZ BERMUDEZ

DIRECTOR: VICTOR ERIC LOPEZ Y LOPEZ

NOMBRE DEL ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
NATALIA MARCELA QUINTERO PACHECO	1610462	4.8

OBSERVACIONES: MERITORIA

FIRMA DE LOS JURADOS:



Vo. Bo. Coordinador Comité Curricular 

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por haberme dado la oportunidad de realizar este proyecto en el CIBA-IPN, México, por darme la perseverancia para cumplir mis metas y objetivos, por llenarme de seguridad y sabiduría, y por fortalecer mi carácter y personalidad.

A la Universidad Francisco De Paula Santander por su respaldo durante toda la realización del proyecto de investigación.

Al Dr. Víctor Eric López y López por haberme aceptado en su grupo de investigación, por su apoyo y confianza, y sobre todo por formar e incentivar en mí el espíritu investigador.

Al Dr. Raúl Delgado Macuil por su apoyo en los análisis de Espectroscopia Infrarroja de Transformada de Fourier (FTIR).

A Jabel Dinorín por ser un gran apoyo en todo mi proceso de formación y aprendizaje, por sus consejos y recomendaciones, por su ayuda y solidaridad.

A Sara Uribe, a German zafra, a Angélica Moreno, a Sergio Moreno y a Natalia Pérez por su apoyo incondicional, por su amistad, comprensión y cariño, por haber sido mi familia colombiana y estar conmigo en los momentos de alegría y dificultad.

A mis padres Virgilio Quintero y Carmen Ledy Pacheco, y hermanos Andrés Quintero e Isabela Quintero por apoyarme en todo momento, por ser mi bendición más grande, por ser mi respaldo y mi refugio, por ser el motor que impulsa todos mis sueños y la fuerza que me dan para lograrlos.

Natalia M. Quintero P.

CONTENIDO

RESUMEN	12
ABSTRACT.....	13
INTRODUCCION	14
1. EL PROBLEMA.....	17
1.1 TITULO.....	17
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	19
1.4 JUSTIFICACIÓN	19
1.5 OBJETIVOS	21
1.3.1 Objetivo general.....	21
1.3.2 Objetivos específicos	21
1.6 ALCANCES Y LIMITACIONES	21
1.6.1 Alcances.....	21
1.6.2 Limitaciones.....	22
1.7 DELIMITACIONES	22
1.7.1 Delimitación espacial.....	22
1.7.2 Delimitación temporal.	22
1.7.3 Delimitación conceptual	22
2. MARCO REFERENCIAL.....	23
2.1 ANTECEDENTES.....	23
2.2 MARCO TEORICO.....	27
2.2.1 Biodiesel	27
2.2.2 Materias primas utilizadas en la producción de biodiesel.....	30
2.2.3 Métodos de obtención de biodiesel.....	31
2.2.4 Reacción de transesterificación.....	32
2.2.5 Métodos catalíticos en la producción de biodiesel.....	34
2.2.6 Enzimas utilizadas como catalizadoras en el proceso de transesterificación.....	37
2.2.7 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41

2.2.8	Métodos para evaluar la actividad enzimática de lipasas	43
2.2.9	Métodos de análisis para la caracterización del biodiesel.....	46
2.3	MARCO CONCEPTUAL.....	47
2.4	MARCO CONTEXTUAL	49
2.5	MARCO LEGAL.....	50
3.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	58
3.1	TIPO DE INVESTIGACIÓN	58
3.2	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	58
3.2.1	Población.	58
3.2.2	Muestra.	58
3.2.3	Hipótesis.	58
3.3	FASES DE LA INVESTIGACIÓN	59
3.3.1	Materiales.....	59
3.3.2	Métodos	62
4.	RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	68
4.1	Modificación y establecimiento de la relación C:N de los medios de cultivo.	68
4.2	Etapa 1: Reactivación bacteriana	69
4.3	Etapa 2	70
4.3.1	Cualificación de la actividad lipolítica.....	70
4.3.2	Cinética de crecimiento.....	97
4.3.3	Obtención de extractos celulares.....	106
4.3.4	Ensayo de <i>para</i> -Nitrofenol Palmitato (<i>p</i> NPP)	108
4.4	Etapa 3	115
4.4.1	Producción de células de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	115
4.4.2	Análisis por medio de FTIR del sustrato en cultivos líquidos	121
4.4.3	Análisis por medio de FTIR de la actividad enzimática por medio del	129
	CONCLUSIONES	148
	RECOMENDACIONES.....	151
	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	152