

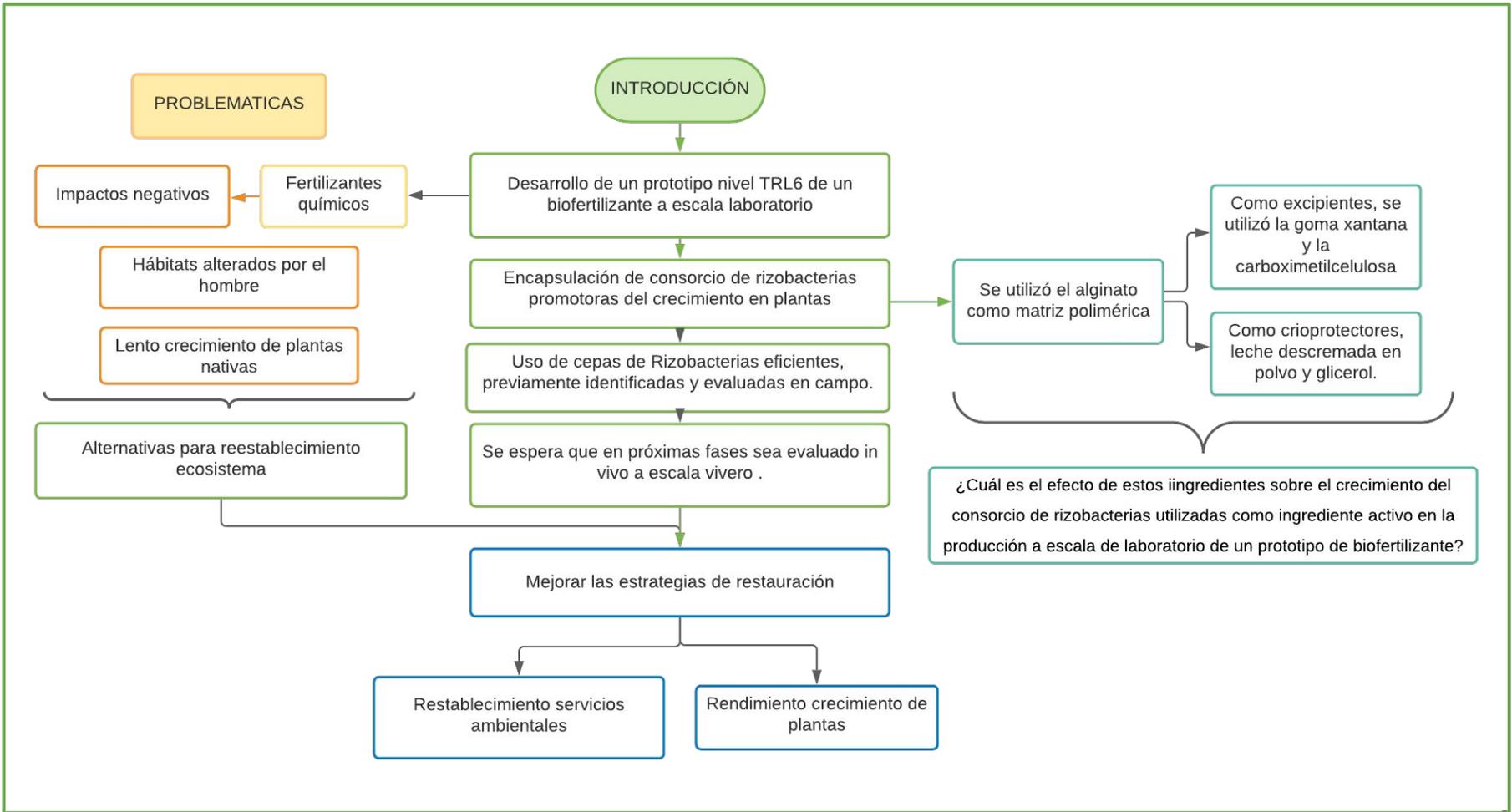
Formulación de un prototipo TRL6 de biofertilizante a escala laboratorio a partir de una matriz polimérica biodegradable (Alginato de Calcio) con aplicación en restauración ecológica en corredor Chingaza – Sumapaz de eco parque tecnológico de la Universidad Antonio Nariño

**Paola Andrea González Moreno
Laura Daniela Valderrama Torres
Estudiantes X Semestre**

**Asesora interna: Judith Elena Camacho Kurmen
Asesora externa: Carolina Jaime Rodríguez**

**Trabajo de grado para optar por el título de
Bacteriologo y laboratorista Clínico**





Objetivo general

Formular un prototipo TRL6 de biofertilizante a escala de laboratorio a partir de una matriz polimérica biodegradable (Alginato de Calcio) para su aplicación en restauración ecológica.

Objetivos específicos

- Seleccionar las Rizobacterias promotoras de crecimiento en plantas (PRPG) identificadas previamente, para obtener un escalado del proceso a 500ml en agitador orbital.
- Determinar la matriz polimérica biodegradable más eficiente en el proceso de encapsulación del consorcio bacteriano.
- Identificar los excipientes compatibles con el consorcio de cepas utilizados para la formulación del prototipo.

ANTECEDENTES

Brown et al descubren bacterias que promueven el crecimiento en plantas.

1972

Vassilev et al hablan acerca de las micorrizas, que mejoran el crecimiento de las plantas.

2001

Alfonso et al hacen énfasis en microorganismos que son benéficos para el cultivo de tomate.

2005

Minaxi et al concluyen que el alginato puede ser una buena opción para la encapsulación de rizobacterias.

2011

Schoebitz et al discuten acerca de qué otros excipientes en la encapsulación pueden servir, como el almidón.

2012

Schoebitz et al dan buenas expectativas acerca del uso de biofertilizantes encapsulados para el crecimiento de las plantas.

2013

RESTAURACIÓN ECOLÓGICA



Fuente: United Nations. 2019

“La restauración ecológica es el proceso de asistencia a la recuperación de un ecosistema que ha sido degradado, dañado o destruido” Vargas, 2007

Pseudomonas fluorescens



a. Morfología macroscópica en Agar King B

b. Morfología microscópica.

Se puede encontrar en ambientes acuáticos o en el suelo; son conocidas por su capacidad de estimular el crecimiento de las plantas

Fuente: Gil 2021

Azotobacter spp.



a. Morfología macroscópica en agar Ashby



b. Morfología microscópica.

Fuente: Naranjole

- Mejora la nutrición en las plantas y mejora de la fertilidad del suelo.
- Es importante en el ciclo del nitrógeno ya que en la naturaleza este se une al nitrógeno atmosférico inaccesible para las plantas y lo libera en forma de iones de amonio dejándolo disponible para las plantas en el suelo.

Lactobacillus casei



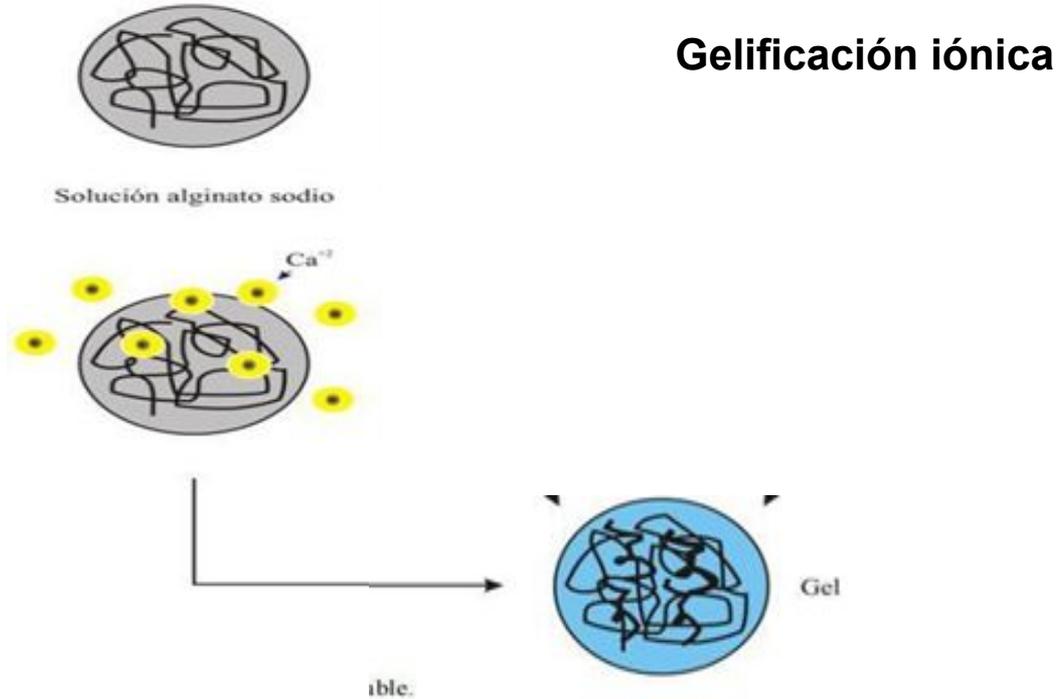
a. Morfología
macroscópica en
Agar MRS

b. Morfología microscópica.

Fuente: Neogen

- Utilizado como probióticos para humanos
- Se han aplicado con éxito en el control de enfermedades de las plantas y en la estimulación del crecimiento de las plantas

MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS PARA ENCAPSULACIÓN



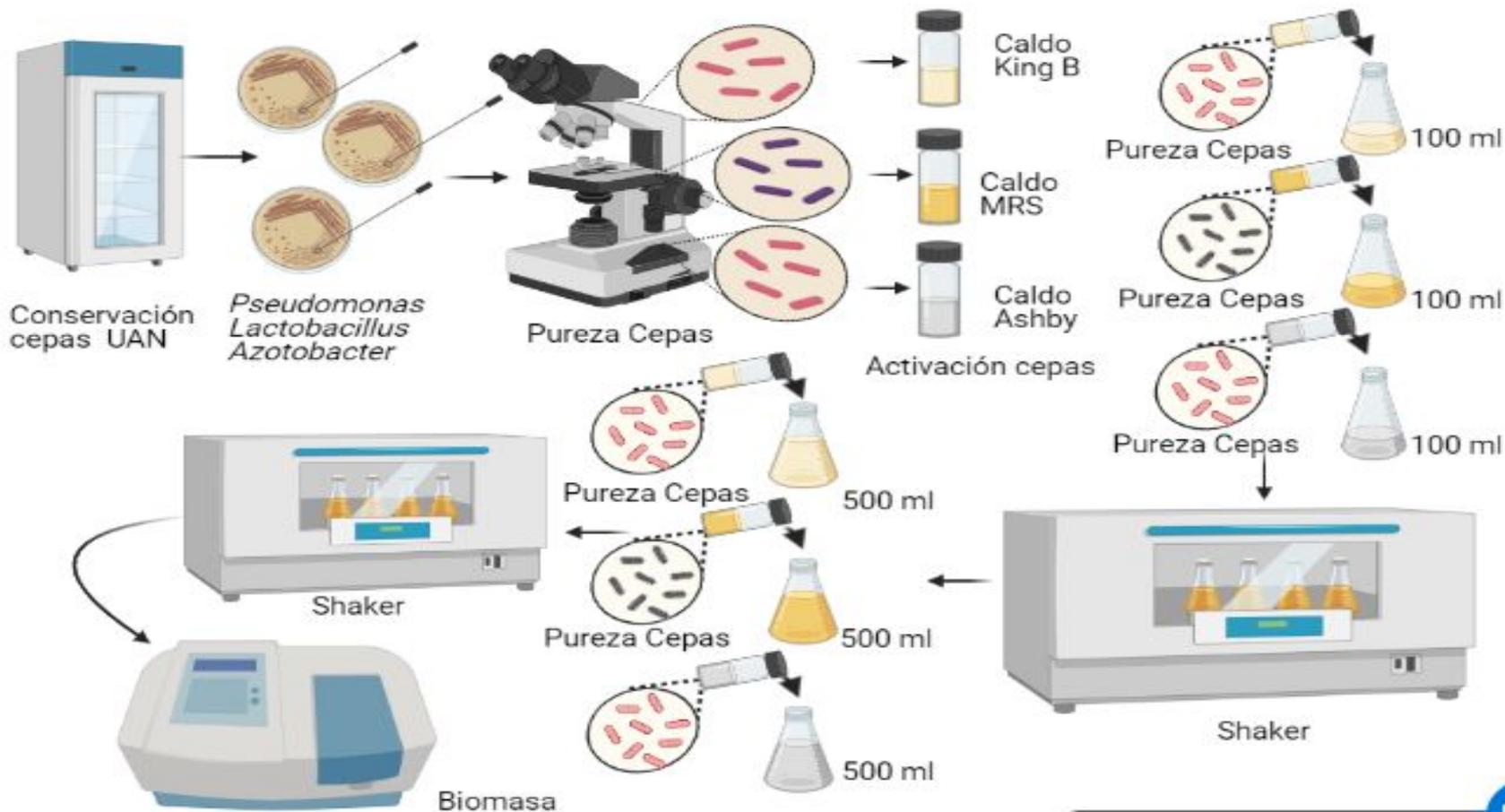
Fuente: Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos; 2012

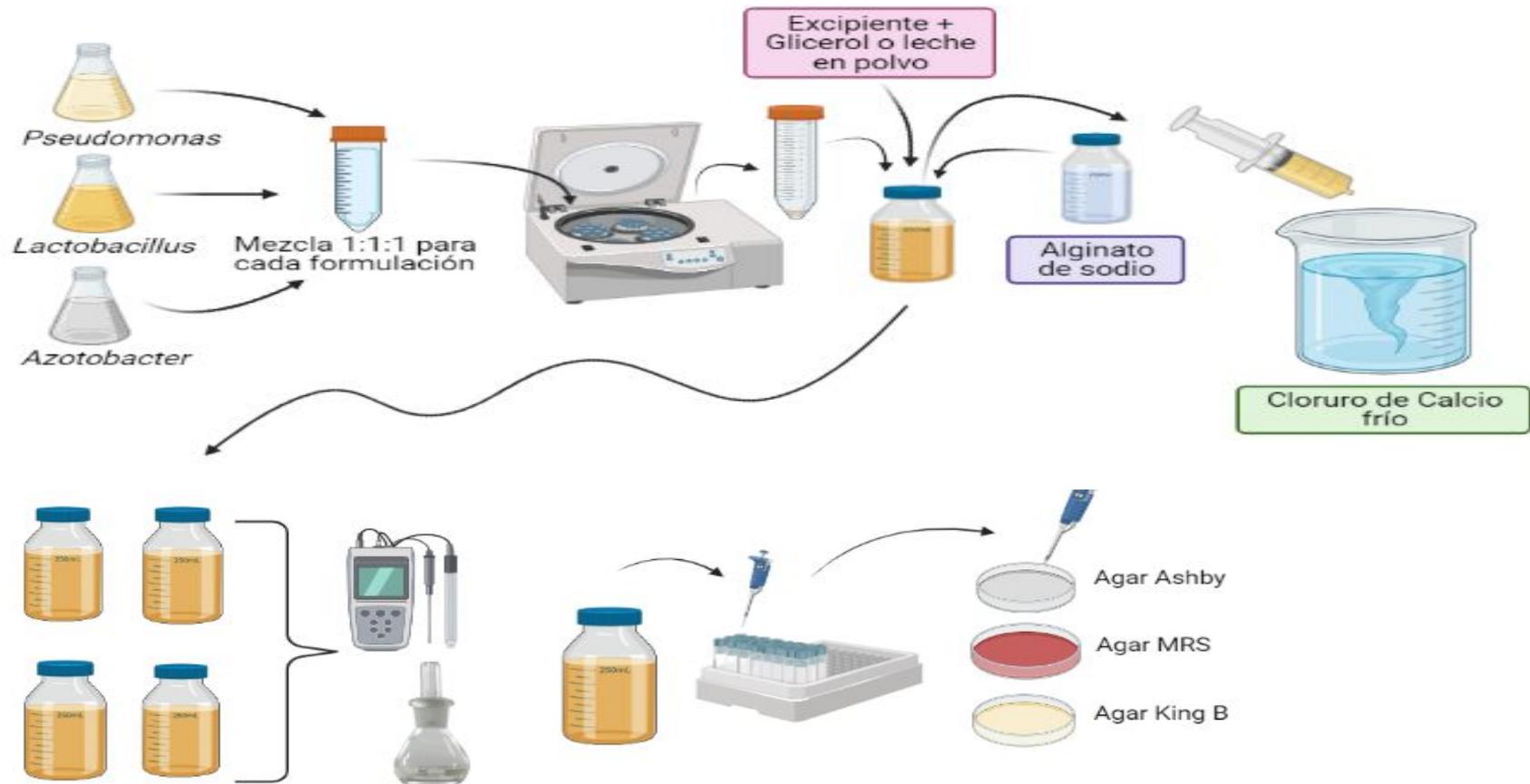
METODOLOGÍA:

Tipo de investigación; El tipo de investigación que se maneja en este trabajo es la de tipo mixto, esta se caracteriza por incluir algunos elementos de la investigación cualitativa y algunos de la investigación cuantitativa.

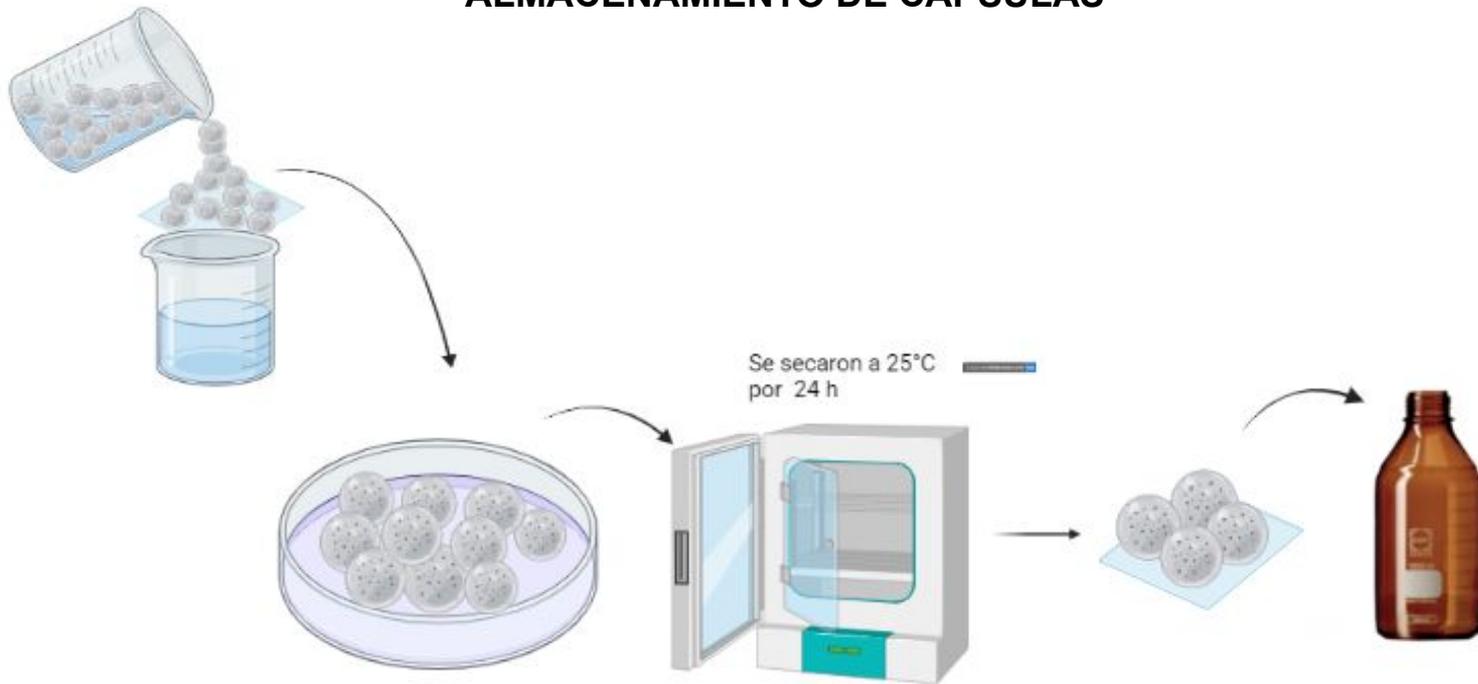
Población: La población de estudio son tres cepas de Rizobacterias (*Azotobacter sp*, *Lactobacillus casei* y *Pseudomonas fluorescens*), a las cuales se les evaluó su crecimiento y viabilidad.





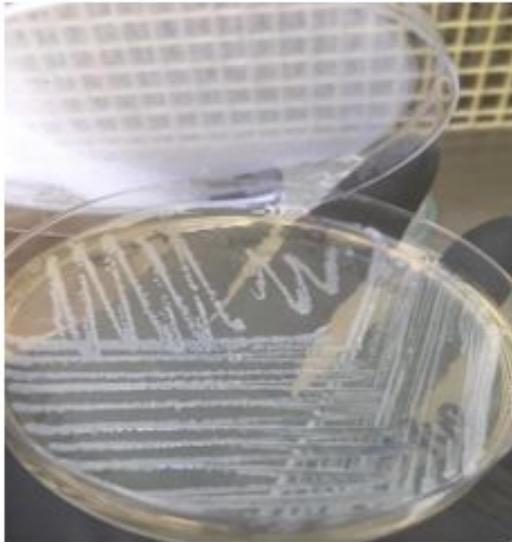


ALMACENAMIENTO DE CÁPSULAS



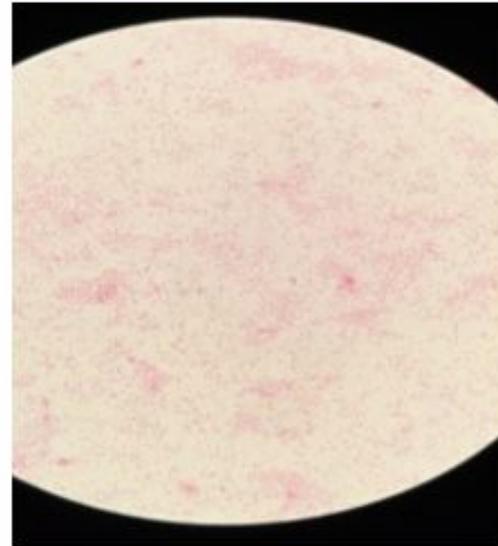
RESULTADOS

Pseudomonas fluorescens



Colonias pequeñas blancas un poco traslúcidas, de bordes regulares y lisas.

Catalasa positiva



Bacilos Gram Negativos pequeños. 100x

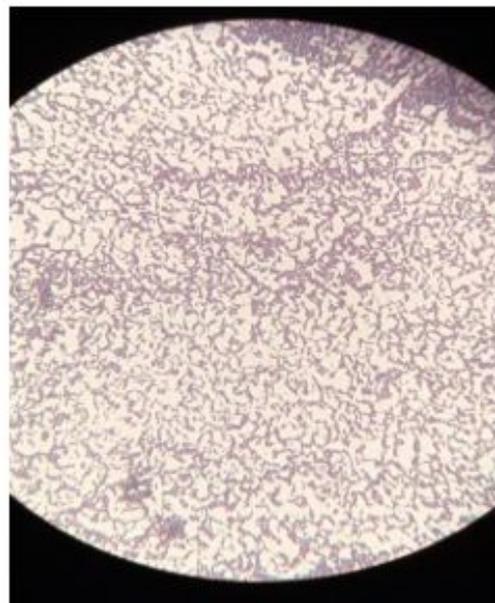
Oxidasa positiva

Lactobacillus casei



Colonias blancas cremosas, pequeñas con bordes regulares lisas y con elevación (concavas)

Catalasa negativa



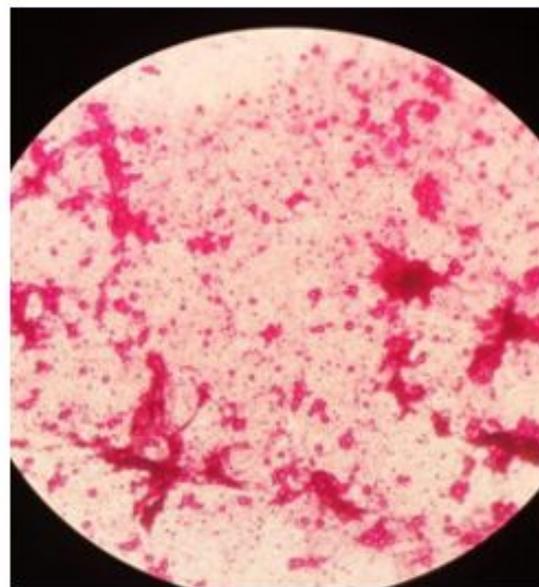
Bacilos largos Gram Positivos. 100 x.

Oxidasa negativa

Azotobacter spp/



Colonias transparentes simulando como gotas de agua, de bordes irregulares y son usualmente elevadas.



Cocobacilos Gram Negativos con algunos quistes. 100 x.

Catalasa positiva

Oxidasa positiva

FORMULACIONES

Formulación	Alginato 2%	Glicerol 0.8%	Carboximetilcelulosa 0.5%	Leche descremada 1%	Goma Xantana 1%
1	X	X			
2	X	X	X		
3	X			X	
4	X			X	X

Fuente: Autoras

Excipientes y crioprotectores

Porcentajes de mezclas en cada formulación

Frasco	Formulación
1	50% Rizobacterias + 35% Alginato al 2% y 15% Glicerol al 0.8%
2	50% Rizobacterias + 35% Alginato 2%, 10 % CMC 0.5% y 5% Glicerol 0.8%
3	50% Rizobacterias + 35%Alginato 2% y 15% Leche descremada 1%
4	50% Rizobacterias + 35% Alginato 2%, 10% CMC 0.5% y 5% Leche descremada 1%

Fuente: Autoras



Formulaciones líquida 1 y 2.
Volumen 200 mL

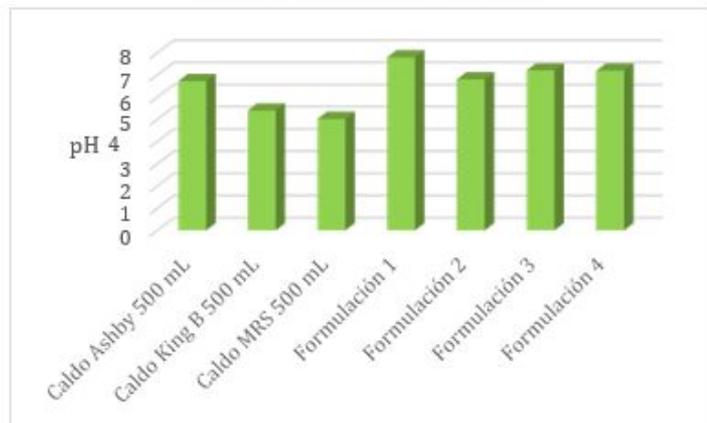


Formulaciones encapsuladas 3 y 4

RESULTADOS

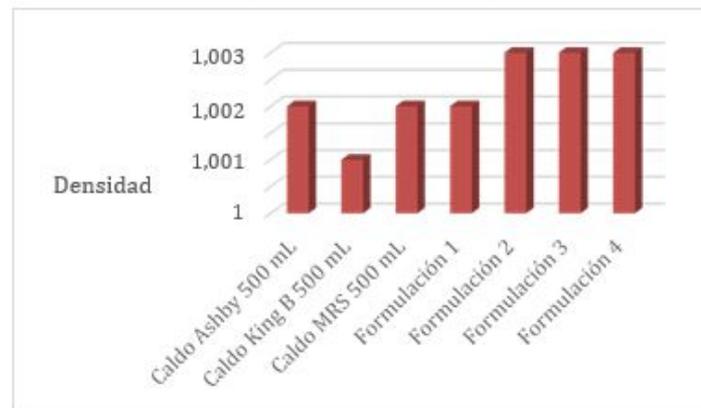
Parámetros	Tiempo (horas)	Caldo MRS 500 mL	Caldo Ashby 500 mL	Caldo King B 500 mL	Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3	Formulación 4
pH	0	5.02	6.72	5.4	7.8	6.8	7.2	7.19
Densidad	0	1,002 g/mL	1,001 g/mL	1,002 g/mL	1,002 g/mL	1,003 g/mL	1,003 g/mL	1,003 g/mL
Mezcla		Homogénea	Homogénea	Homogénea	Homogénea	Homogénea	Homogénea	Homogénea
Recuento <i>Azotobacter</i>	0	—	2.9x10 ⁶ UFC/mL	—	4.0x10 ⁶ UFC/mL	3.9x10 ⁶ UFC/mL	3.3x10 ⁶ UFC/mL	4.5x10 ⁶ UFC/mL
Recuento <i>Pseudomonas</i>	0	—	—	2.5x10 ⁶ UFC/mL	2.6x10 ⁶ UFC/ mL	3.0x10 ⁶ UFC/ mL	4.0x10 ⁶ UFC/ mL	4.2x10 ⁶ UFC/ mL
Recuento <i>Lactobacillus</i>	0	2.2x10 ⁶ UFC/ mL	—	—	3.8x10 ⁶ UFC/mL	3.5x10 ⁶ UFC/mL	3.5x10 ⁶ UFC/mL	3.6x10 ⁶ UFC/mL

pH Caldos y formulaciones

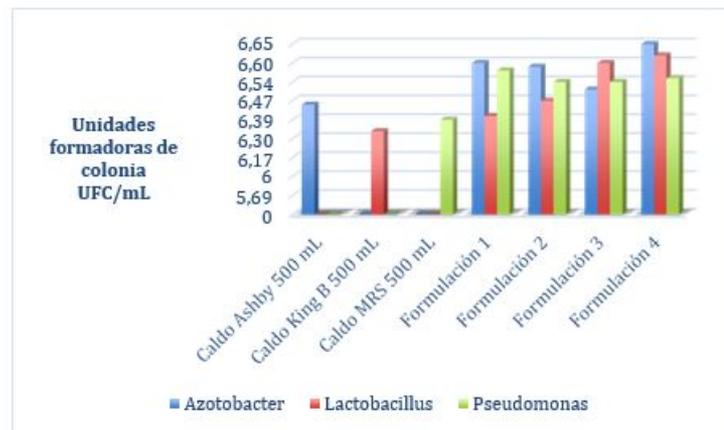


Fuente: Autoras

Densidad caldos y formulaciones



Fuente: Autoras



Fuente: Autoras

Recuento bacteriano de Caldos y formulaciones

CONCLUSIONES

- Se logró obtener las tres cepas puras de rizobacterias promotoras de crecimiento en plantas y producir un inóculo de los microorganismos a un volumen de 500 mL.
- Se determinó que la matriz polimérica más eficiente en el proceso de encapsulación es el alginato de sodio.
- Se identificaron los excipientes que mejor se acoplaron a los ensayos y que mostraron mejores resultados en cuanto a manipulación, solubilidad en medio acuoso y homogeneidad.

Este proyecto se desarrolló gracias al apoyo de la Línea Biotecnología y Nanotecnología del Tecnoparque Sena Nodo Bogotá, a Carolina Jaime Rodríguez, asesora externa de este proyecto y perteneciente al semillero de Biología celular y funcional e Ingeniería de Biomoléculas de la Universidad Antonio Nariño (UAN) y finalmente, Judith Elena Camacho Kurmen, asesora interna de este proyecto y al semillero Bioprocesos y Control de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.



TecnoParque
COLOMBIA
Aplicación productiva del conocimiento y las nuevas tecnologías



UAN
UNIVERSIDAD
ANTONIO NARIÑO

Referencias

- Juric, S., & Dermic, E. (2019). Physicochemical properties and release characteristics of calcium alginate microspheres loaded with *Trichoderma viride* spores [Ebook] (18th ed., pp. 2534-2548). *Journal of Integrative Agriculture*. Retrieved 14 March 2021, from <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S2095311919626341>.
- Akpoveta, V. (2020). Process optimization of silica encapsulation technique as a unique remediation technology for the treatment of crude oil contaminated soil [Ebook] (29th ed., pp. 113-119). *Egyptian Journal of Petroleum*. Retrieved 14 March 2021, from <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S1110062119303010>.
- Cesari, A., Loureiro, M., Vale, M., Yslas, I., & Dardanelli, M. (2020). Polycaprolactone microcapsules containing citric acid and naringin for plant growth and sustainable agriculture: physico-chemical properties and release behavior [Ebook] (67th ed.). *Science of the Total Environment*. Retrieved 14 March 2021, from <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0048969719355421>.
- Productos Bioinsumos registrados. ICA. (2021). Retrieved 14 March 2021, from <https://www.ica.gov.co/areas/agricola/servicios/fertilizantes-y-bio-insumos-agricolas/listado-de-bioinsumos/2009/productos-bioinsumos-mayo-13-de-2008.aspx>.