

	GESTIÓN DE SERVICIOS ACADÉMICOS Y BIBLIOTECARIOS		CÓDIGO	FO-GS-15	
			VERSIÓN	02	
	ESQUEMA HOJA DE RESUMEN			FECHA	03/04/2017
				PÁGINA	1 de 1
<b>ELABORÓ</b>		<b>REVISÓ</b>		<b>APROBÓ</b>	
Jefe División de Biblioteca		Equipo Operativo de Calidad		Líder de Calidad	

## RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES):

NOMBRE(S): DIODELINA APELLIDOS: CELIS RODRIGUEZ

FACULTAD: DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERIA AMBIENTAL

DIRECTOR:

NOMBRE(S): JANET BIBIANA APELLIDOS: GARCIA MARTINEZ

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): EVALUACION DE ACIDOS GRASOS VOLATILES

COMO FUENTES DE CARBONO EN EL PROCESO DE FIJACION BIOLOGICA DE

NITROGENO

### RESUMEN

La fijación biológica de nitrógeno es un proceso que se lleva a cabo por organismos procariontes y simbioses mediante la enzima nitrogenasa, en el cual se consumen sustancias renovables y ambientalmente amigables, esto ha venido ganando gran acogida en la actualidad pues permite la generación de diversos biofertilizantes que promueven el crecimiento de las plantas a gran escala de forma sustentable con el medio ambiente.

PALABRAS CLAVE: Ácidos volátiles, Nitrógeno, Proceso

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 109 PLANOS: \_\_\_ ILUSTRACIONES: \_\_\_ CD ROOM: \_\_\_

\*\*Copia No Controlada\*\*

EVALUACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES COMO FUENTES DE CARBONO EN  
EL PROCESO DE FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO

DIOCELINA CELIS RODRIGUEZ

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
INGENIERÍA AMBIENTAL  
SAN JOSÉ DE CÚCUTA

2021

EVALUACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES COMO FUENTES DE CARBONO EN  
EL PROCESO DE FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO

DIOCELINA CELIS RODRIGUEZ

Proyecto de grado en modalidad de investigación presentado como requisito para optar al título  
de Ingeniera Ambiental

DIRECTORA

JANET BIBIANA GARCÍA MARTINEZ Ing. MSc.

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
INGENIERÍA AMBIENTAL  
SAN JOSÉ DE CÚCUTA

2021

**ACTA DE SUSTENTACIÓN TRABAJO DE GRADO**

**FECHA:** 24 Mayo del 2021

**HORA:** 10:00 A.M

**LUGAR:** Sala virtual MEET <https://meet.google.com/sud-zuvk-bdi?hs=224>

**PLAN DE ESTUDIOS:** INGENIERIA AMBIENTAL

**TITULO:** "EVALUACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES COMO FUENTES DE CARBONO EN EL PROCESO DE FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO".

**MODALIDAD:** INVESTIGACIÓN.

**JURADOS:** DORANCE BECERRA MORENO  
MARTHA TRINIDAD ARIAS PEÑARANDA  
JOSÉ MANUEL VILLAMIZAR IBARRA

NOMBRE DEL ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACIÓN
DIODELINA CELIS RODRÍGUEZ	1650955	4.5

**DIRECTOR:** JANET BIBIANA GARCIA MARTINEZ

**OBSERVACIONES:** MERITORIA

**FIRMA DE LOS JURADOS:**

  
Dorance Becerra Moreno

  
Martha Trinidad Arias Peñaranda

  
José Manuel Villamizar Ibarra

Vo.Bo. Coordinador Comité Curricular

  
JUDITH YAMILE ORTEGA CONTRERAS

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por regalarme la vida y permitirme formarme como profesional, por darme la fortaleza de seguir adelante ante cualquier obstáculo.

A mi madre que ha sido el motor de mi vida, quién hizo todo lo posible para que pudiese costear mis estudios, por su gran amor, por educarme con buenos valores y por enseñarme que se debe luchar hasta el final para lograr lo que desea.

A mis hermanos, porque son mis chiquitines a los que debo dar ejemplo en especial a Gabriel quién ha llegado a llenarme de amor.

A mi novio Alejandro, quién me ha brindado su apoyo incondicional y por compartir conmigo buenos y malos momentos.

A mis compañeros Gabriela, Tania y Andrés quienes me brindaron su apoyo y ayuda incondicional.

## **Agradecimientos**

En primer lugar, a Dios quién ha guiado mi vida llena de amor y de fortaleza para enfrentar cada obstáculo.

A mi mamá quién es mi mayor orgullo, por ser mi mejor amiga mi guía en cada paso que doy, por llenarme de fortaleza cada vez que siento que no lograré las cosas.

A mis hermanos, quienes con su amor me daban la energía para lograr seguir con mi proceso de formación.

Agradezco al MSc. Néstor Andrés Urbina quién me brindo todo el apoyo y conocimiento para lograr desarrollar el proyecto, a la profe Bibiana García quien me colaboro en el proceso de laboratorio, también al Ingeniero Michael Edgardo Roa quién me ayudó en la etapa de laboratorio gracias por compartir todo el conocimiento con protocolos y uso de equipos.

A los docentes encargados del laboratorio INNOValgae por brindarme el espacio y conocimiento para lograr desarrollar el proyecto.

A los asistentes del laboratorio de calidad ambiental quienes compartieron su conocimiento y me ayudaron con su apoyo emocional.

## Resumen

La fijación biológica de nitrógeno es un proceso que se lleva a cabo por organismos procariotas y simbiontes mediante la enzima nitrogenasa, en el cual se consume sustancias renovables y ambientalmente amigables, esto ha venido ganado gran acogida en la actualidad pues permite la generación de diversos biofertilizantes que promueven el crecimiento de las plantas a gran escala de forma sustentable con el medio ambiente. Se realizó un estudio experimental con el objeto de evaluar ácidos grasos volátiles (ácido acético, ácido propionico, ácido butírico y combinación de AGV's) como fuentes de carbono para el proceso de fijación biológica de nitrógeno, así como los factores que influyen en el proceso (pH y temperatura). Se evaluaron inicialmente cinco consorcios microbianos obtenidos del grupo GAOX de la Universidad del Valle, con el propósito de elegir el que presentara mayor rendimiento en biomasa y nitratos. En reactores de 600ml con un caudal de aire de 1.5 v.v.m, temperatura de  $30 \pm 2$  °C, agitación de 150 rpm y un pH de  $7 \pm 0.3$ , cuyos resultados de esta fase indicaron que el consorcio con mayor rendimiento de biomasa (1.375 g/L) y nitratos (62,65 mg/L) fue el que se obtuvo de una muestra de suelo con alta actividad agrícola (Candelaria 2), a este consorcio se le evaluó los AGV's como fuentes de carbono, así como dos fuentes de control (sacarosa y etanol). Se evaluó la producción de biomasa y fijación de Nitrógeno en términos de  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_2$  y  $\text{NO}_3$  (Standar Methodos ed. 23); se determinó la presencia de bacterias fijadoras de nitrógeno y nitrificantes mediante la siembra en cultivos selectivos. Con los mejores tratamientos se realizó un anova factorial  $2^3$  evaluando tres temperaturas (30, 35 y 40°C) y tres valores de pH (6.5, 7.5 y 8.5). Se utilizó el R Project for Statistical Computing y Statistica vs 7 para el análisis de datos. Los resultados obtenidos indican que el mayor rendimiento de biomasa se dio en el tratamiento que contenía como fuente de carbono el ácido acético (0.844 g /L), de igual manera demostrando los mejores resultados en

la producción de  $\text{NO}_3$  (40,587 mg/l), se logró determinar la presencia de bacterias fijadoras de nitrógeno y bacterias nitrificantes en todas las fuentes de carbono utilizadas, pero con resultados óptimos en el reactor que contenía combinación de AGV's como fuente de carbono presentando concentración de bacterias nitrificantes de  $9,4\text{E}+07$  UFC/ml y fijadoras de  $2,8\text{E}+07$  UFC/ml. El análisis estadístico indicó que la Temperatura de  $30^\circ\text{C}$  y pH 7.5 son las condiciones ideales para la producción de nitratos para el ácido acético como fuente de carbono, mientras que para la combinación de AGV's como fuente de carbono su pH óptimo es de 8.5 y la Temperatura de  $30^\circ\text{C}$ . Estos resultados permitieron optimizar el proceso de obtener microorganismos fijadores de nitrógeno con potencial uso de biofertilizantes.



## Tabla de Contenido

	<b>Pág.</b>
Introducción	16
1. El problema	19
1.1 El titulo	19
1.2 Planteamiento del problema	19
1.3 Formulación del problema	20
1.4 Justificación	21
1.5 Objetivos	22
1.5.1 Objetivo General	22
1.5.2 Objetivos Específicos	22
1.6 Delimitaciones	23
1.6.1 Temporal	23
1.6.2 Conceptual	23
2. Estado del arte	24
2.1 Antecedentes	24
2.2 Marco Teorico	30
2.2.1 Ciclo Del Nitrógeno	30
2.2.2 Fijación de Nitrógeno y tipos de fijación	30
2.2.3 Microorganismos fijadores de Nitrógeno	32
2.2.3.1 Microorganismos de Vida libre fijadores de Nitrógeno	32
2.2.3.2 Microorganismos simbióticos fijadores de Nitrógeno	33
2.2.4 Factores que afectan el proceso de fijación biológica de nitrógeno	33

2.2.5 Acidos grasos volátiles	35
2.2.6 Fermentación Del Etanol-Acido acetico	36
2.3 Marco Legal	37
3. Metodología	39
3.1 Tipo De Investigación	39
3.2 Ubicación del Experimento	39
3.3 Población y muestra	39
3.3.1 Origen de los Consorcios Microbianos	39
3.4 Hipótesis	40
3.5 Variables	40
3.6 Fases de la Investigación	40
3.6.1 Reactivación de los Consorcios Microbianos y Reactores Madres	40
3.6.2 Evaluación y Selección del Consorcio	43
3.6.2.1 Cuantificación de Biomasa	43
3.6.2.2 Cuantificación de Nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ) Método Colorímetro	44
3.6.2.3 Cuantificación de Nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) Método Colorímetro	45
3.6.3 Evaluación de Fuentes de Carbono	46
3.6.3.1 Cuantificación de Fosfatos ( $\text{PO}_4$ ) por Espectrofotometría	47
3.6.3.2 Cuantificación de AGV por Cromatografía de Gases	48
3.6.4 Determinación de Bacterias Nitrificantes y Fijadoras de Nitrógeno Mediante	49
3.6.5 Efecto de la Temperatura y pH en el Proceso de Fijación Biológica de Nitrógeno	51
3.6.6 Análisis Estadístico	52
4. Resultados y Discusión	54

4.1 Selección del Consorcio Microbiano	54
4.2 Evaluación de las Fuentes de Carbono	60
4.3 Determinación de Bacterias Nitrificantes y Fijadoras de Nitrógeno	73
4.4 Efecto de la Temperatura y pH en el proceso de fijación Biológica de Nitrógeno	76
5. Conclusiones	88
6. Recomendaciones	90
7. Referencias Bibliográficas	91
Anexos	106