



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

PROYECTO DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

Optimización de la producción de energía de los cultivos de *Fischerella muscicola* mediante la hibridación con nanopartículas de oro y plata

Autora: Soria Reinoso, Joselyn Nicole

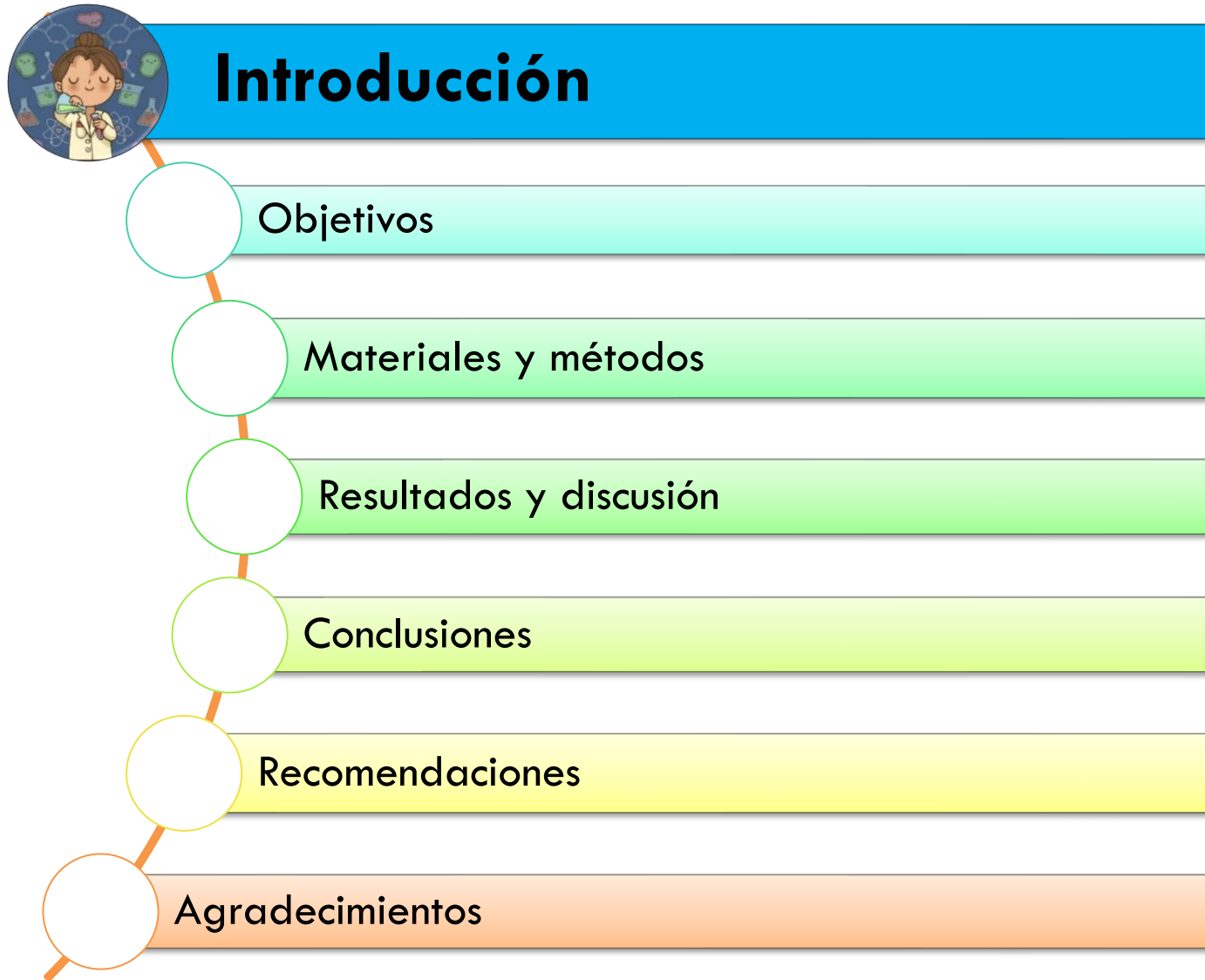
Director: Angulo Paredes, Yolanda Del Rocío, Ph.D.


Sangolquí, 26 de agosto de 2022

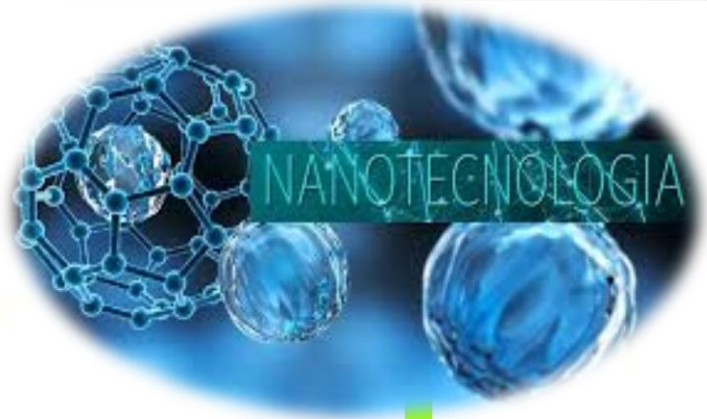


- Introducción
- Objetivos
- Materiales y métodos
- Resultados y discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones
- Agradecimientos

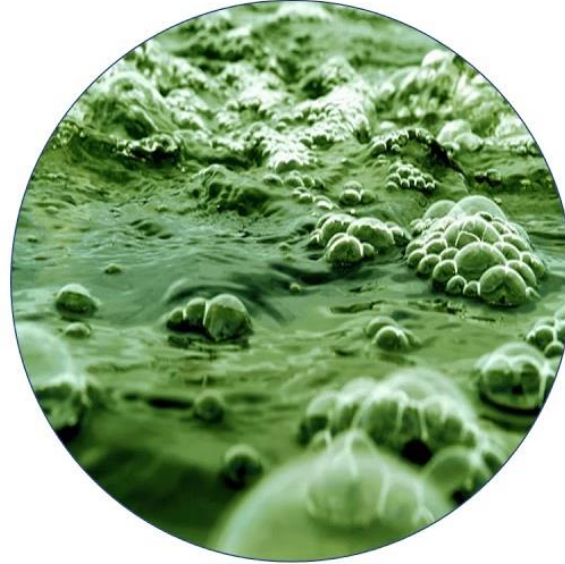




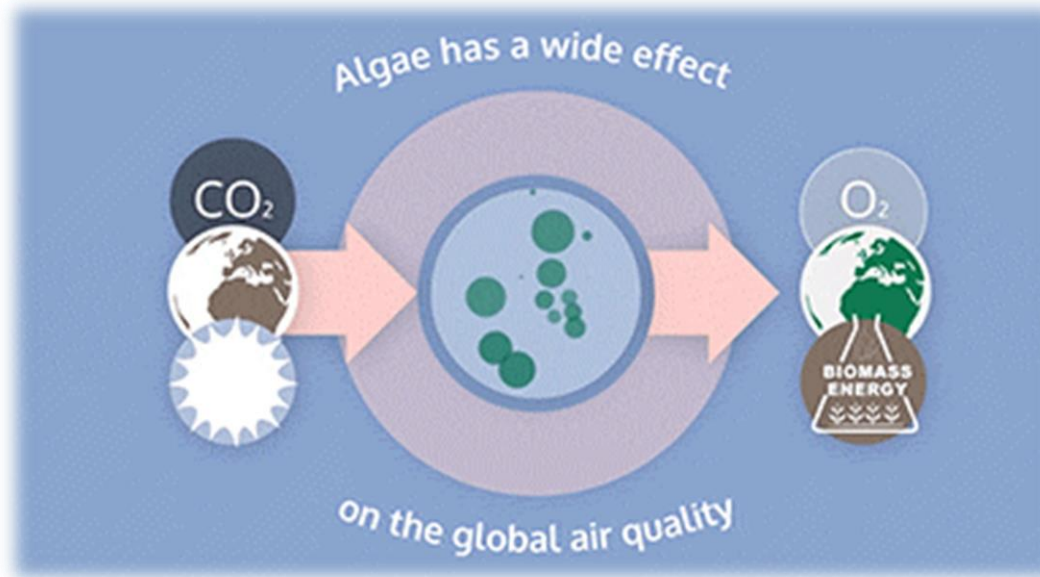
	Introducción
	Objetivos
	Materiales y métodos
	Resultados y discusión
	Conclusiones
	Recomendaciones
	Agradecimientos



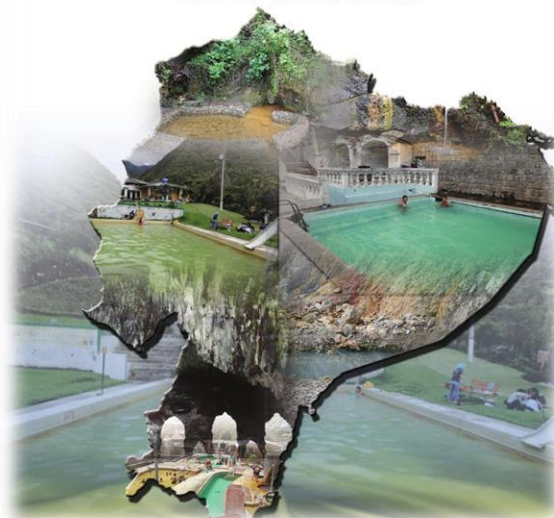
Mínimo consumo
recursos
naturales



Máxima utilización
nutrientes y de la
biomasa obtenida



AGUAS TERMOMINERALES EN EL ECUADOR



Síntesis de verde de nanopartículas metálicas



Agente reductor natural

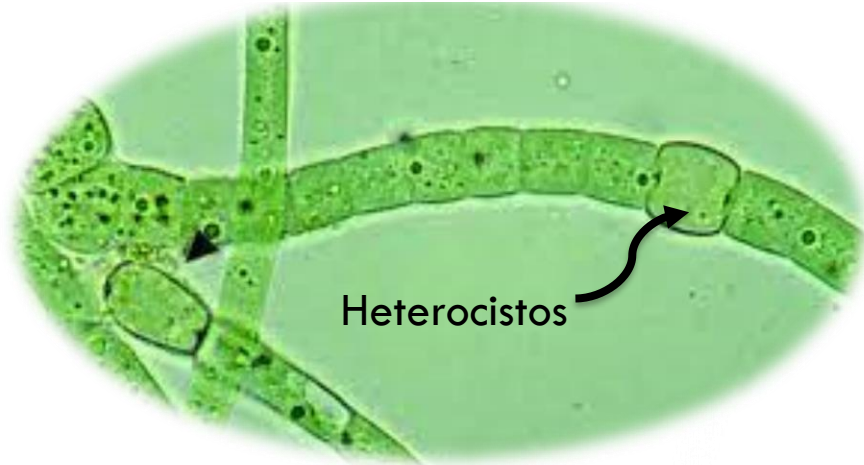
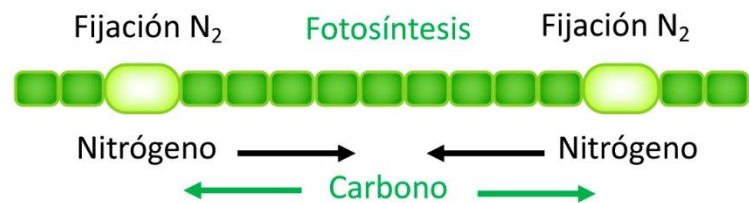


Iones metálicos

Reducción de los iones a X^0 y nucleación



Formación y estabilización de NPs



Fischerella muscicola

Reino: Bacteria
Phylum: Cyanobacteria



79
Au
Oro
196.96657

47
Ag
Plata
107.868

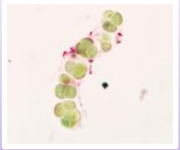


ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



- Introducción
- Objetivos**
- Materiales y métodos
- Resultados y discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones
- Agradecimientos

Objetivo General

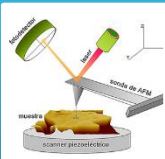


Optimizar la producción de energía de los cultivos de *Fischerella muscicola* mediante la hibridación con nanopartículas de oro y plata.

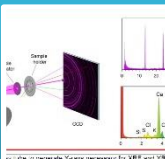
Objetivos Específicos



Escalar el cultivo de *F. muscicola* en el medio de cultivo BG11o y obtener híbridos con nanopartículas de oro y plata para determinar su viabilidad de crecimiento y toxicidad.



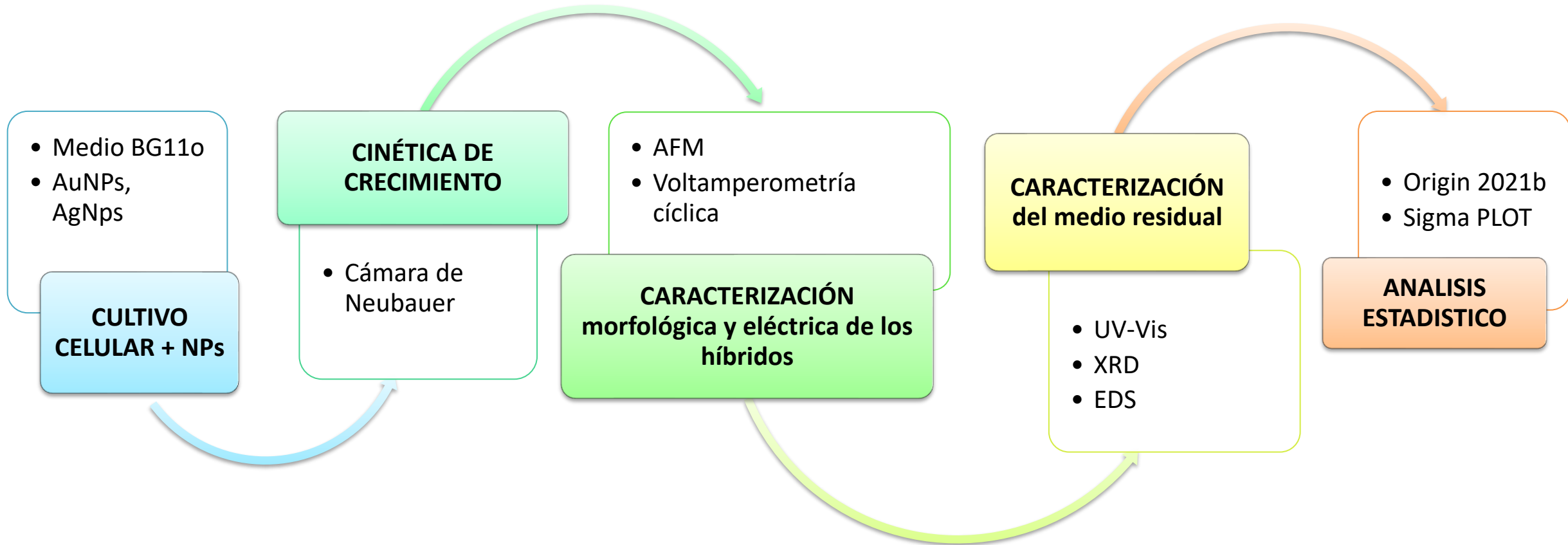
Caracterizar morfológica y eléctricamente las cianobacterias híbridas *F. muscicola* mediante AFM y voltamperometría cíclica.



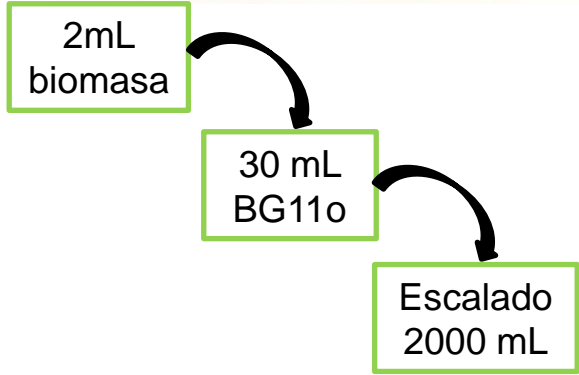
Caracterizar el medio de cultivo residual con espectrofotometría UV-Vis, XRD, y EDS para verificar la adherencia de las nanopartículas a la cianobacteria.



- Introducción
- Objetivos
-  **Materiales y métodos**
- Resultados y discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones
- Agradecimientos



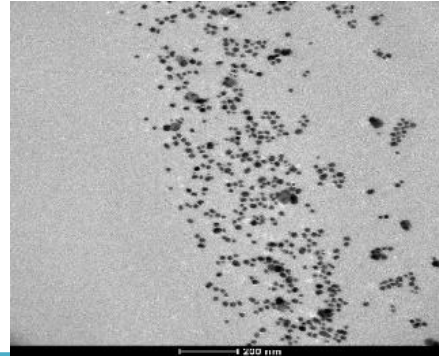
Fischerella muscicola



Nanopartículas

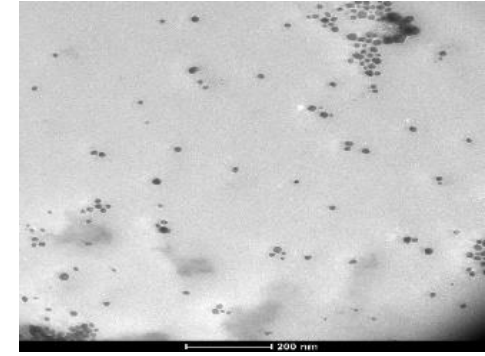
AgNPs-F1

0,9 mg mL⁻¹



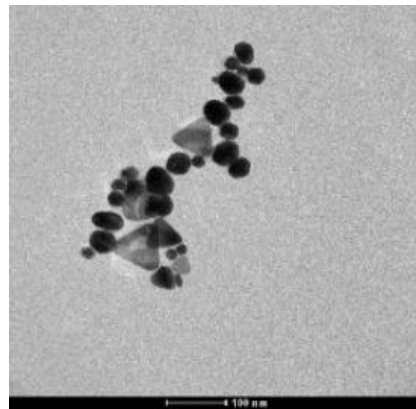
AgNPs-F2

0,3 mg mL⁻¹



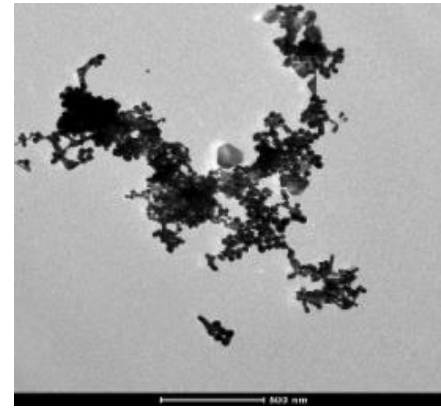
AuNPs-F1

0,25 mg mL⁻¹



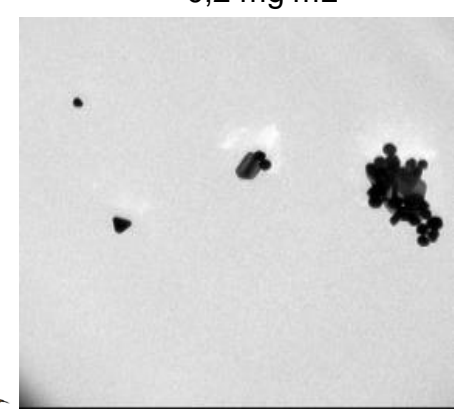
AuNPs-F2

0,75 mg mL⁻¹



AuNPs-Q

0,2 mg mL⁻¹



ENSAYO DE CULTIVOS HÍBRIDOS (*Fischerella muscicola* + NPs)

TIEMPO: 60 DÍAS

CONDICIONES DE CRECIMIENTO

- Temperatura: 18-26 °C
- Fotoperíodo: 12h luz artificial / 12h oscuridad
- Agitación manual: 2 veces por día
- Cambio de medio: cada 14 días

Control
F. Muscicola sin NPs



AgNPs-F1
0,022 mg mL⁻¹



AgNPs-F2
0,022 mg mL⁻¹



AuNPs-F1
0,022 mg mL⁻¹



AuNPs-F1
0,044 mg mL⁻¹



AuNPs-F2
0,022 mg mL⁻¹



AuNPs-F2
0,044 mg mL⁻¹

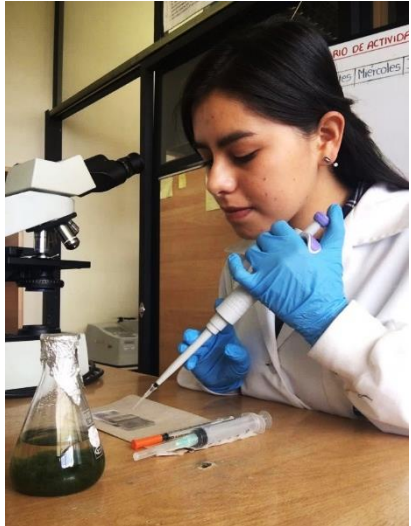


AuNPs-Q
0,022 mg mL⁻¹



AuNPs-Q
0,044 mg mL⁻¹

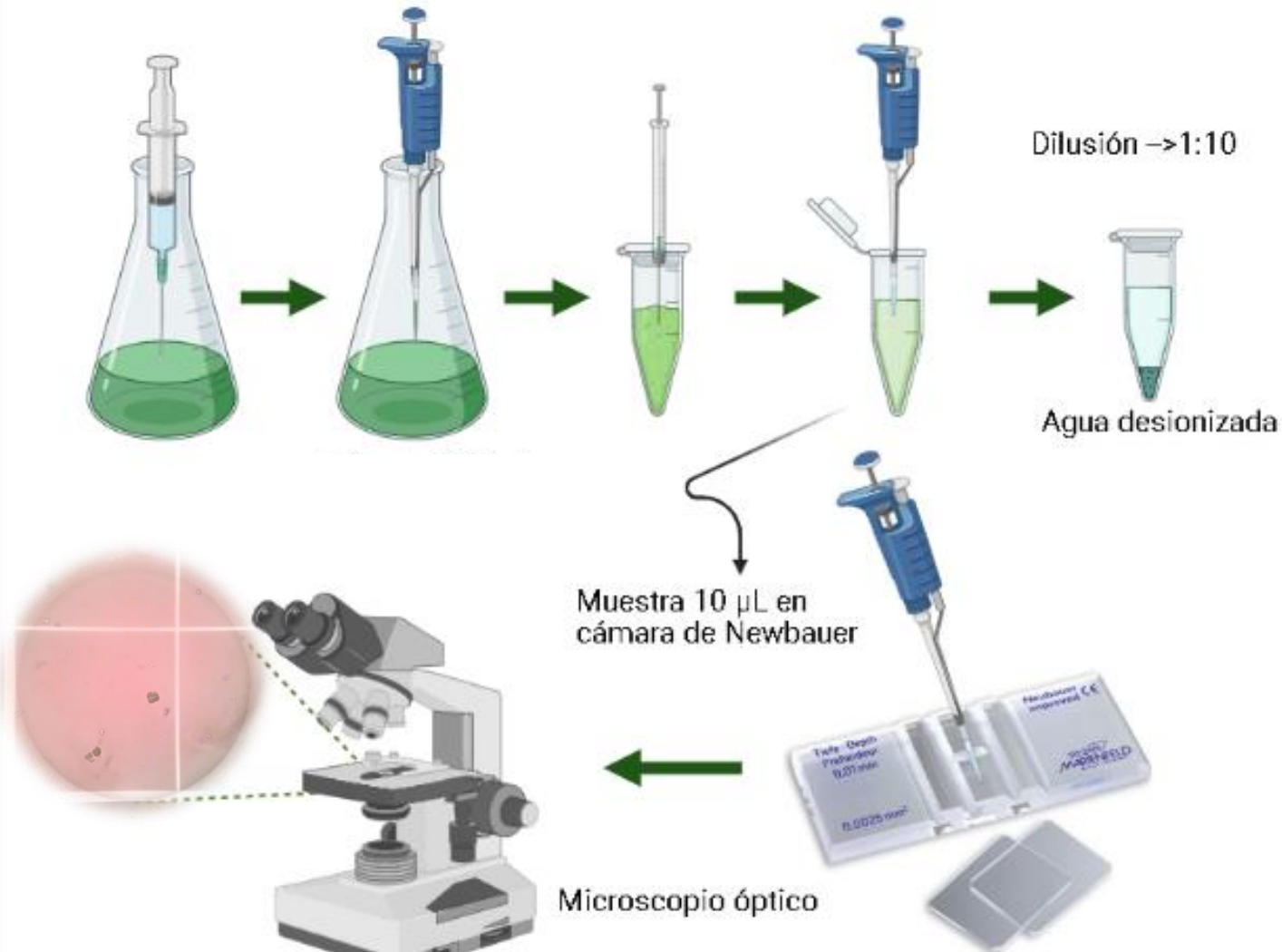


Homogenización
y dilución

Lente objetivo
40x.

$$C = N * 10^4 * dil$$

CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE LOS CULTIVOS HÍBRIDOS

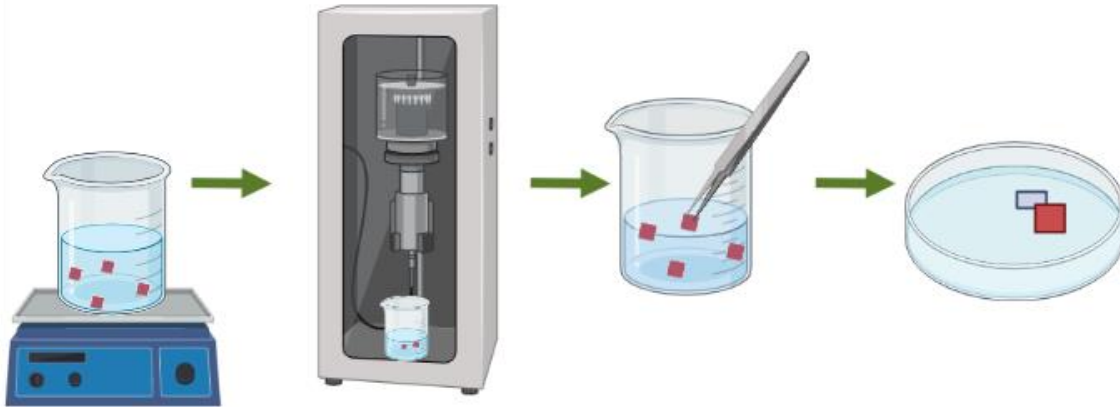


Monitoreo del estado
celular de la
cianobacteria con las
diferentes NPs

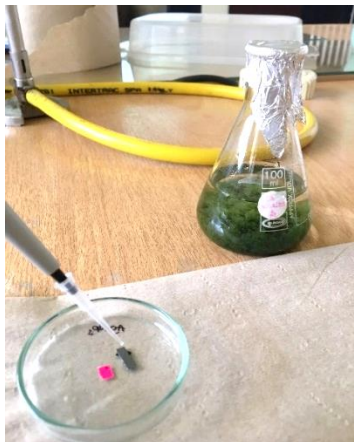


CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y ELÉCTRICA DE LOS HÍBRIDOS

Microscopia de fuerza atómica (AMF)



Microscopio de Fuerza Atómica



Modo EFM
Punta: Si + Sb

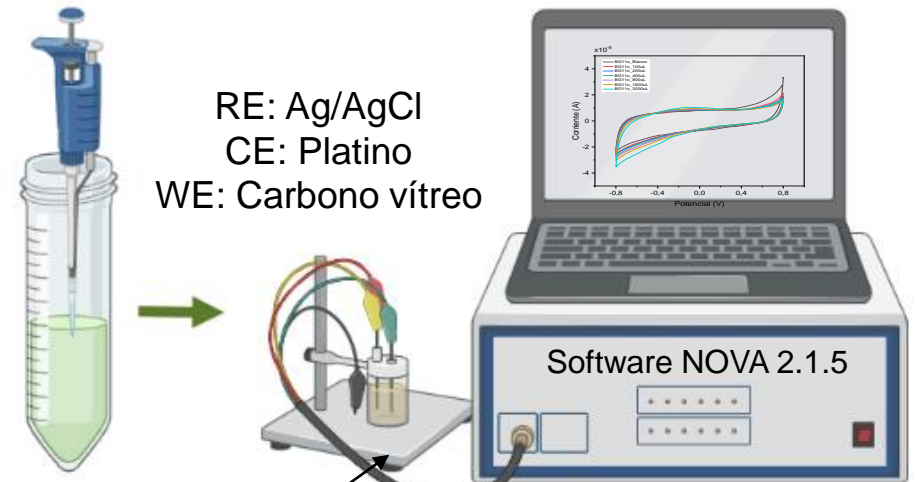
Micrografías:
Longitud de onda (λ)

$$E = h \cdot C / \lambda$$

Voltametría cíclica

$$\text{HOMO} = -(E_{ox} + 4,4) \text{ eV}$$

100 μL
200 μL
400 μL
800 μL
1600 μL
3200 μL



RE: Ag/AgCl
CE: Platino
WE: Carbono vítreo

KCl a 0,1 mM

Software NOVA 2.1.5

Potenciostato
-0.8 V a 0.8 V
0,1 V s⁻¹

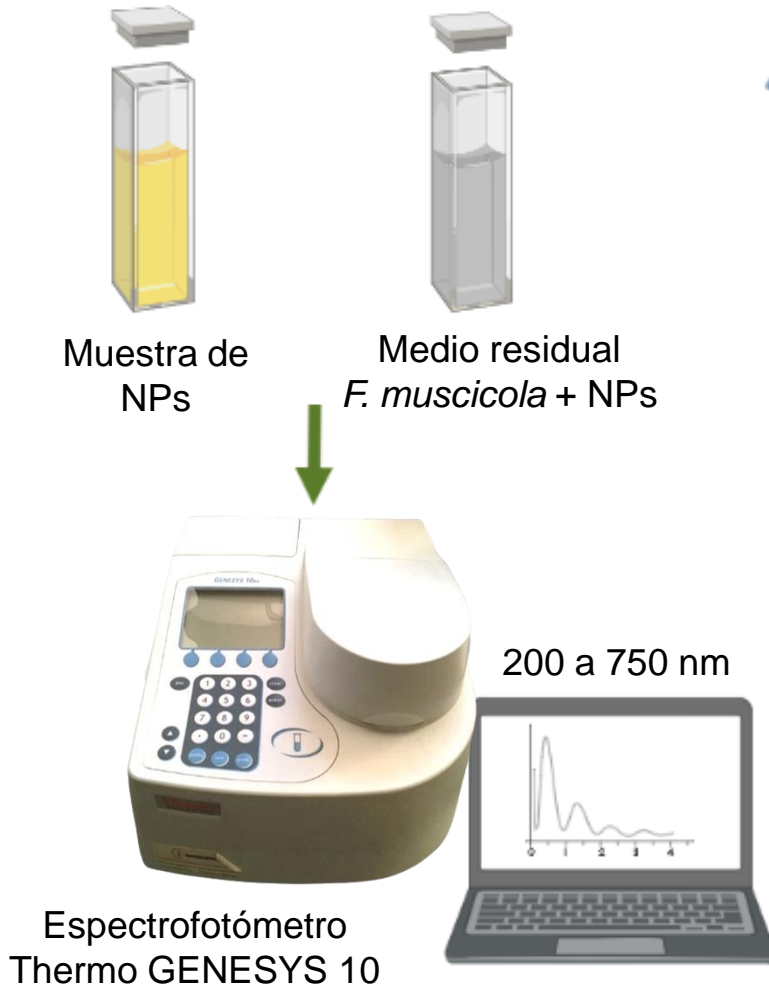
$h \rightarrow$ constante de Planck ($h = 6.62607015 \times 10^{-34} \text{ J s}^{-1}$)
 $C \rightarrow$ velocidad de la luz ($C = 2.998 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$)

(Honsberg & Bowden, 2022).



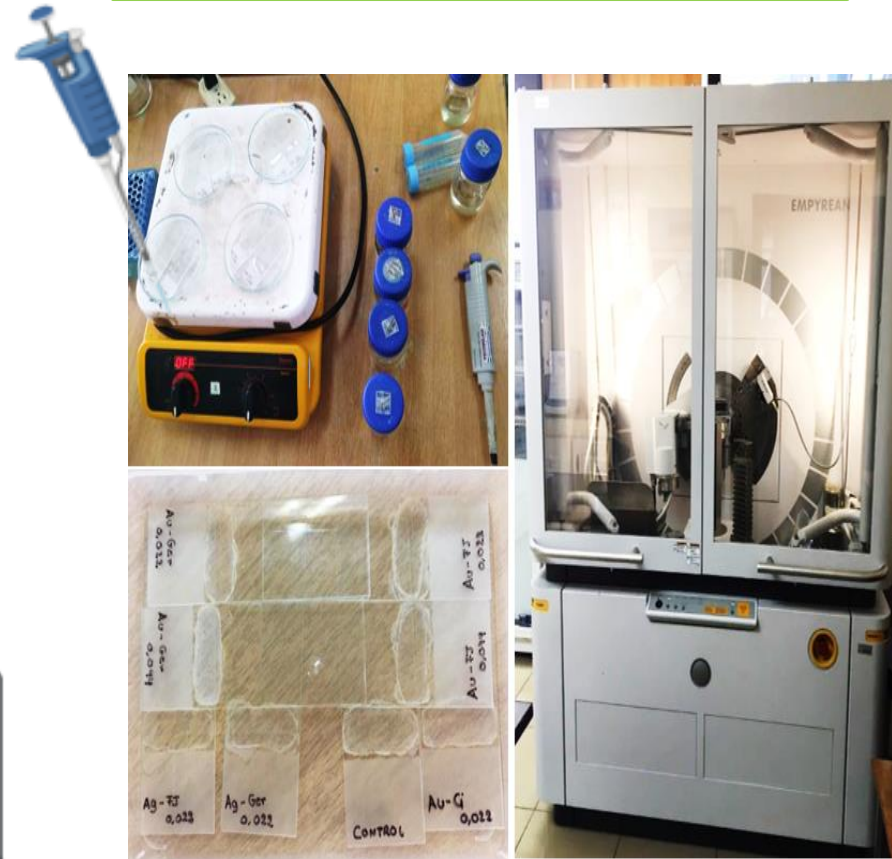
ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Espectroscopía UV-Vis

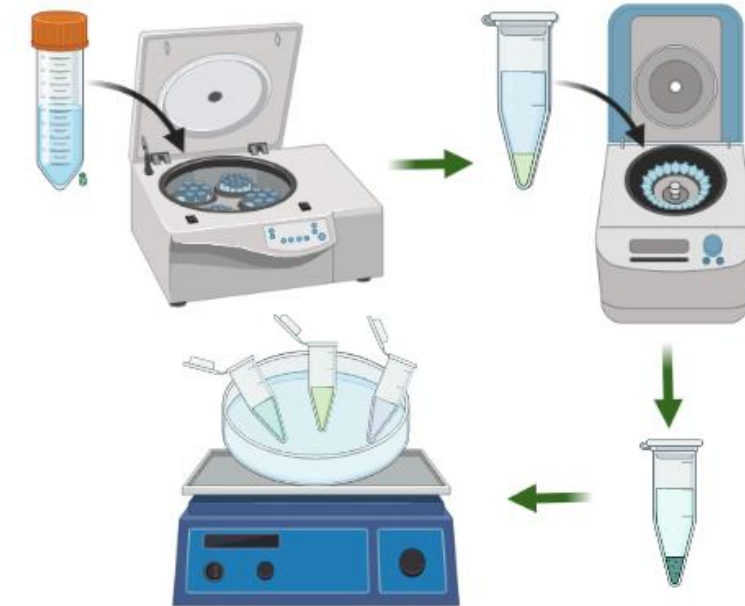


CARACTERIZACIÓN DEL MEDIO RESIDUAL

Método de difracción con rayos X (XRD)



Espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS)



Equipo FEG-SEM





- Introducción
- Objetivos
- Materiales y métodos
- Resultados y discusión**
- Conclusiones
- Recomendaciones
- Agradecimientos



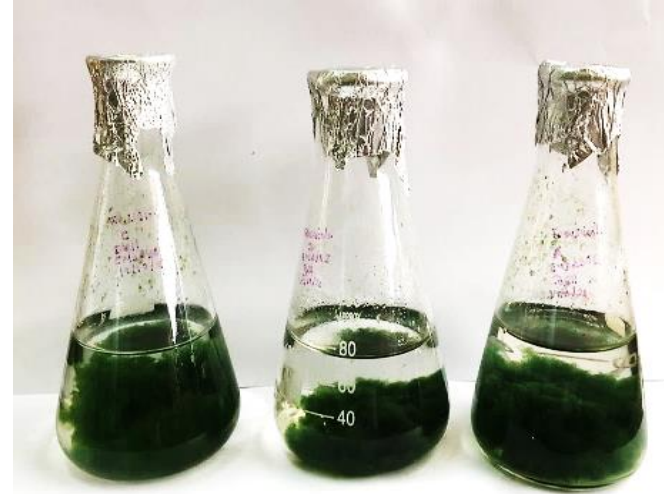
Resultados y discusión



ESCALADO DE *F. muscicola*



Día 0: V= 2 mL

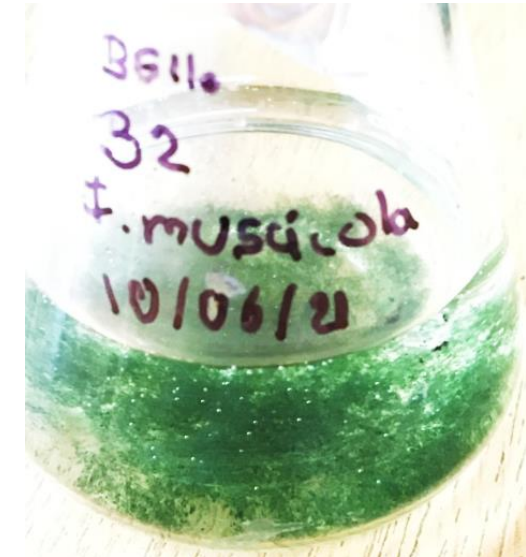


V= 30 mL



V= 2000 mL

Vesículas de gas: capturar mayor cantidad de luz, CO₂ y N₂



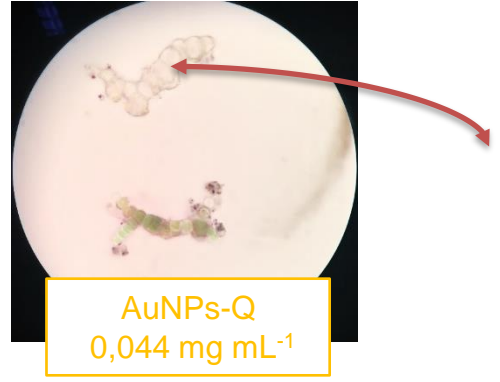
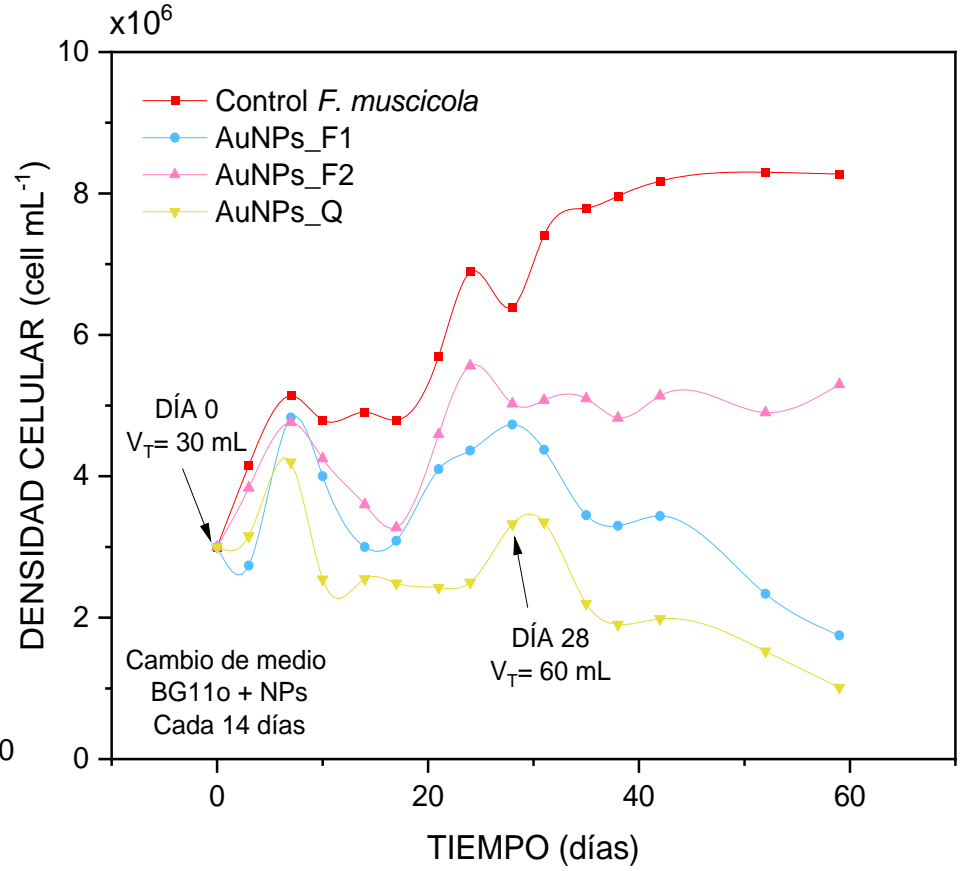
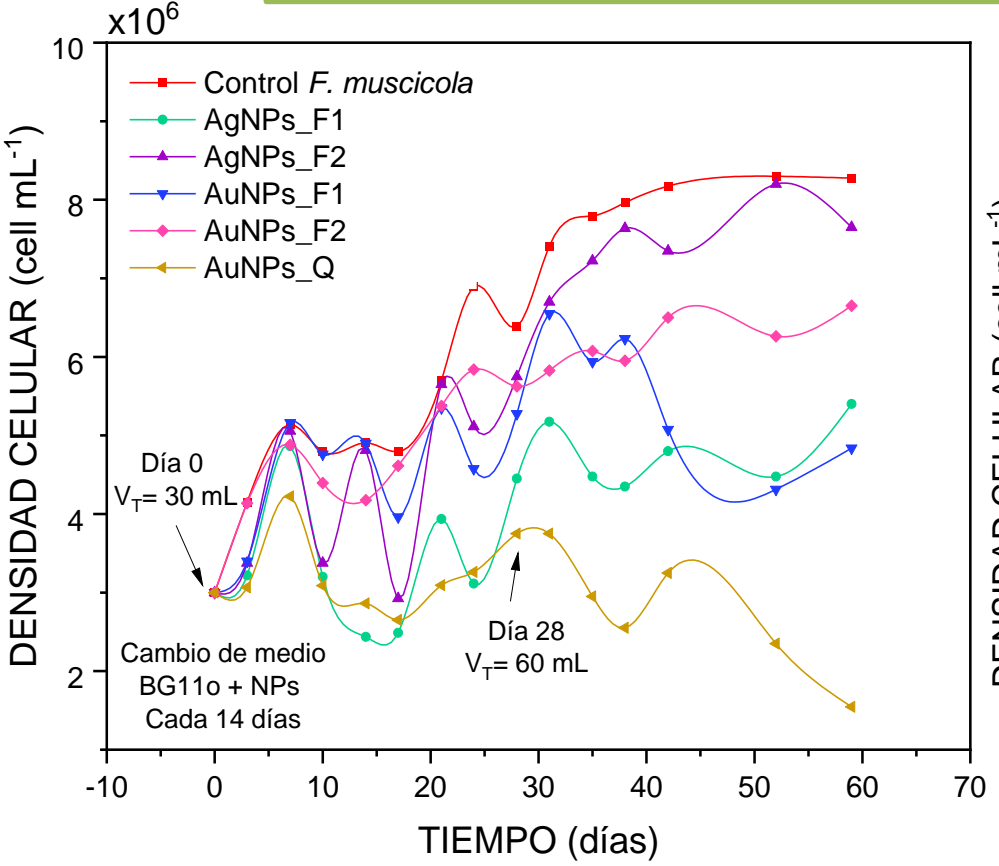
Se obtuvo 25% más de biomasa de *F. muscicola*
Del Castillo, (2019) → 1500 mL en medio BG11.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

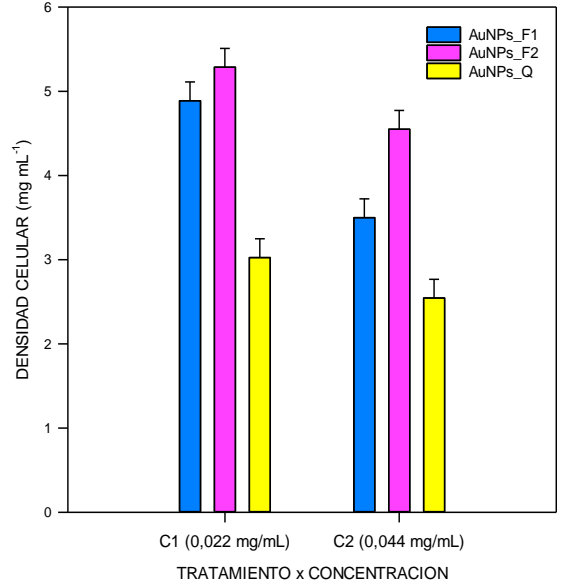
CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE LOS CULTIVOS HÍBRIDOS

Concentración NPs: 0,022 mg mL⁻¹

Concentración NPs: 0,044 mg mL⁻¹



Alta mortalidad en ambas concentraciones



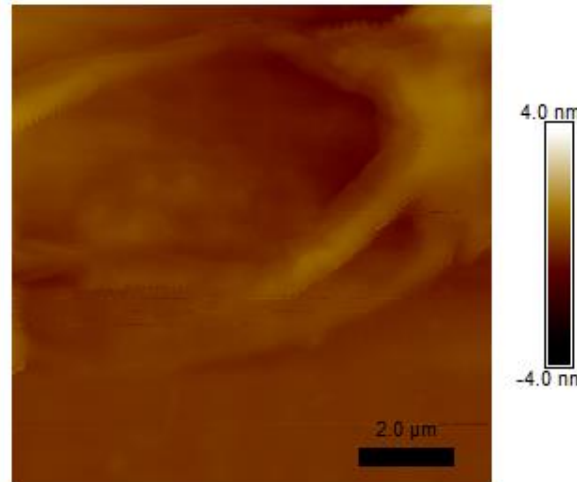
CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y ELÉCTRICA DE LOS HÍBRIDOS

Microscopía de fuerza atómica (AFM)

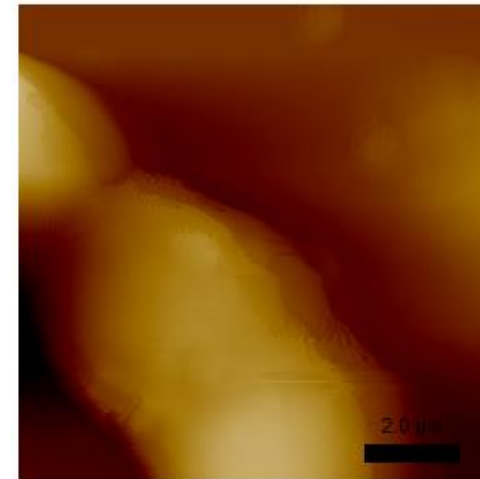


MORFOLOGÍA

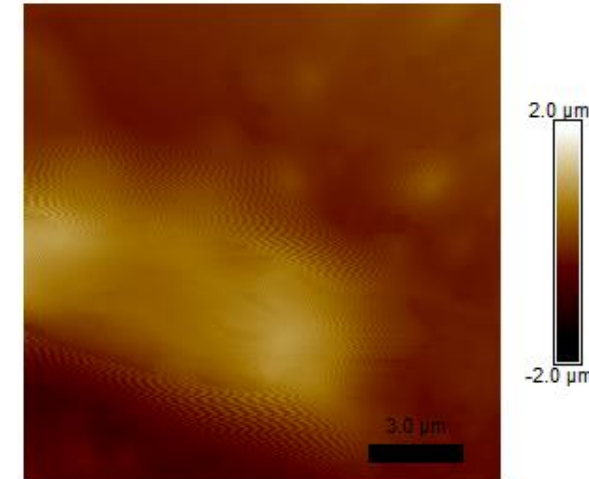
Control: *F. Muscicola* sin NPs



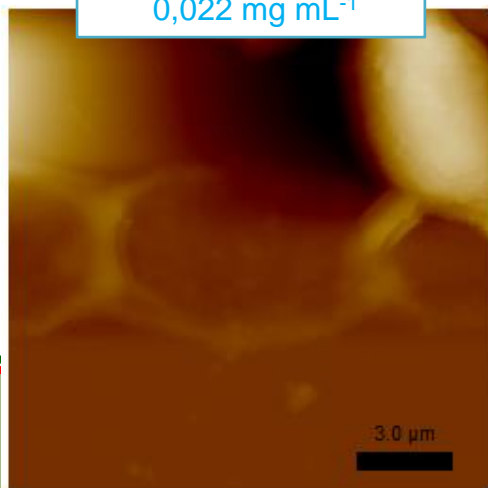
AgNPs-F1
0,022 mg mL⁻¹



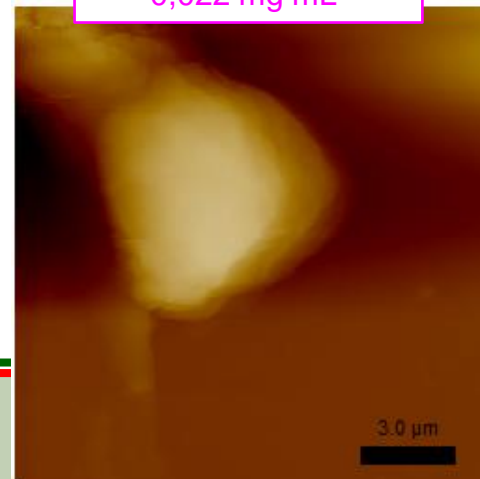
AgNPs-F2
0,022 mg mL⁻¹



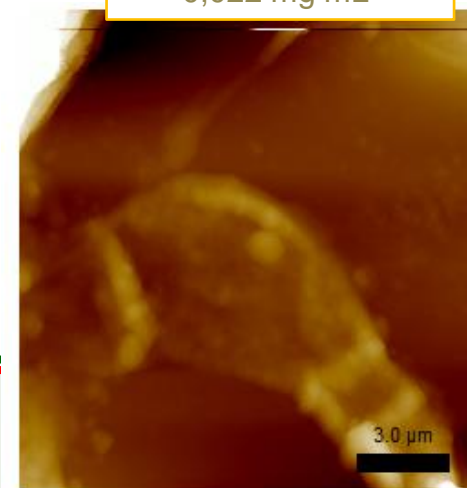
AuNPs-F1
0,022 mg mL⁻¹



AuNPs-F1
0,022 mg mL⁻¹



AuNPs-Q
0,022 mg mL⁻¹



1.0 μm
-1.0 μm



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

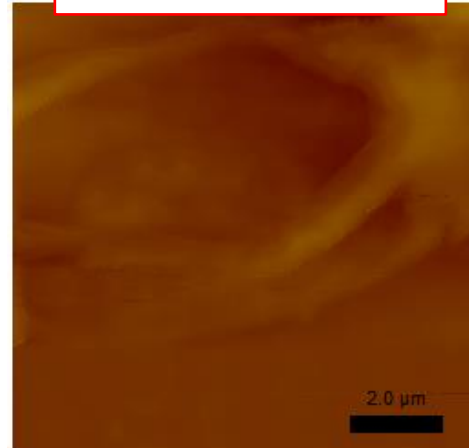
CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y ELÉCTRICA DE LOS HÍBRIDOS

Microscopía de fuerza atómica (AFM)

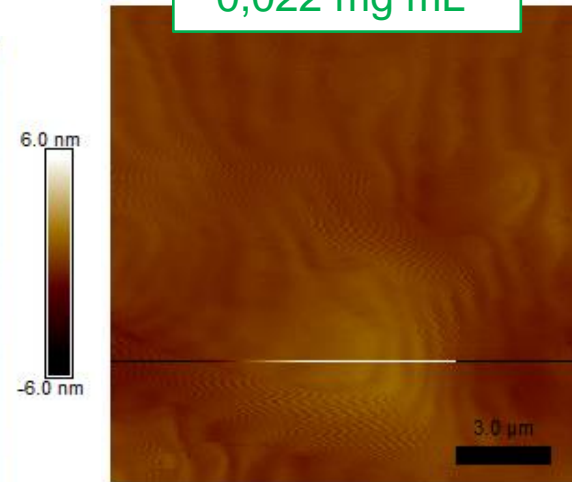


LONGITUD DE ONDA

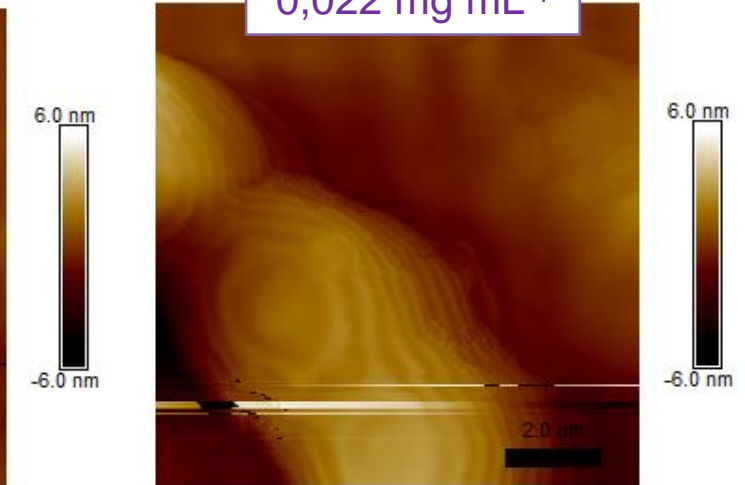
Control: *F. Muscicola* sin NPs



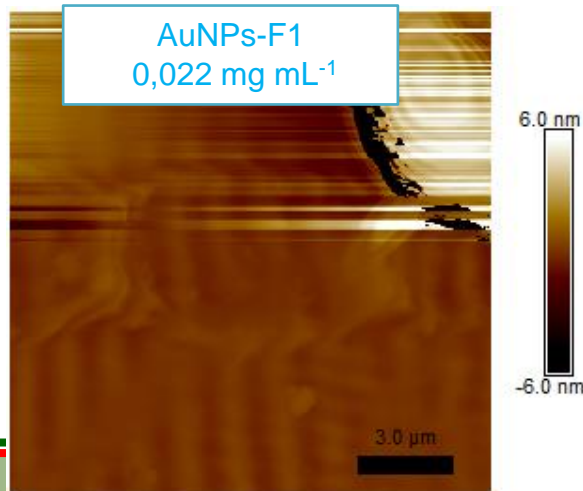
AgNPs-F1
0,022 mg mL⁻¹



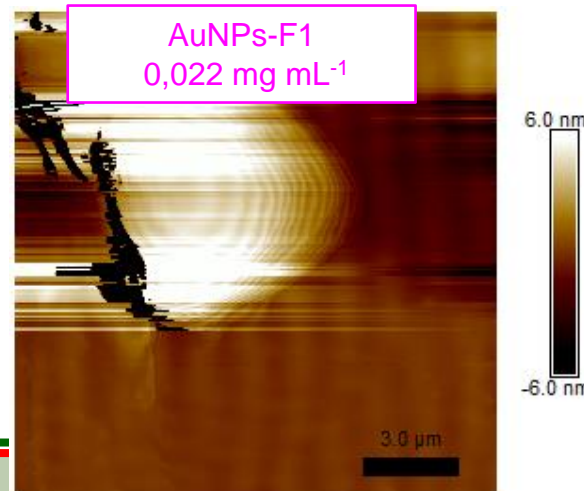
AgNPs-F2
0,022 mg mL⁻¹



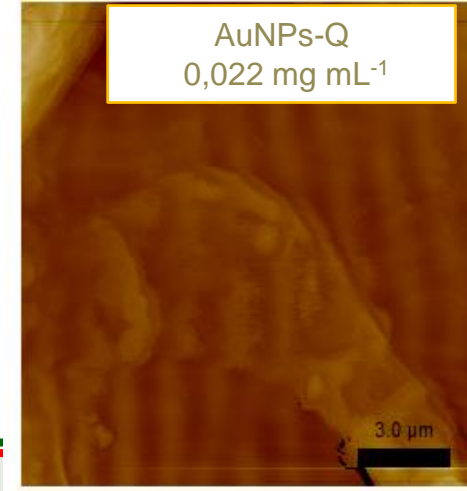
AuNPs-F1
0,022 mg mL⁻¹



AuNPs-F1
0,022 mg mL⁻¹



AuNPs-Q
0,022 mg mL⁻¹



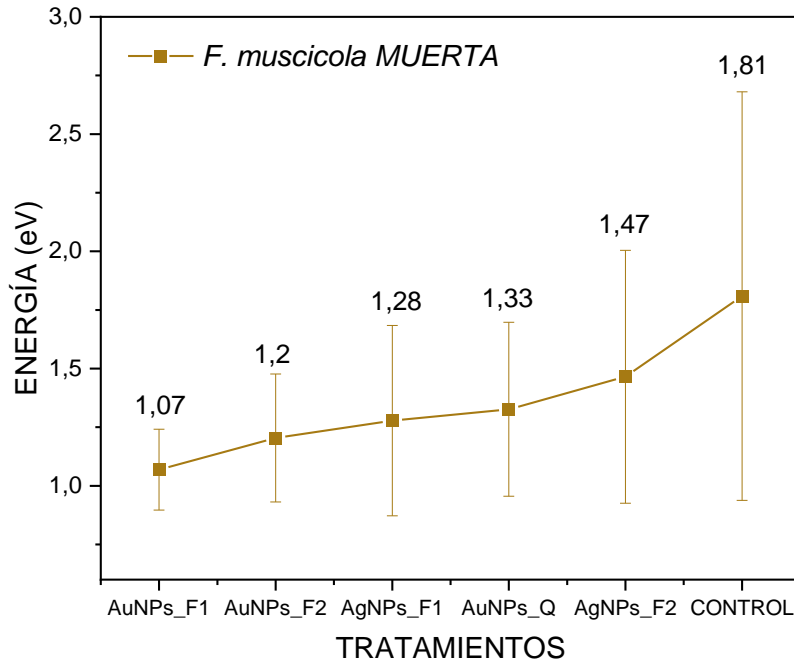
CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y ELÉCTRICA DE LOS HÍBRIDOS

Microscopía de fuerza atómica (AFM)

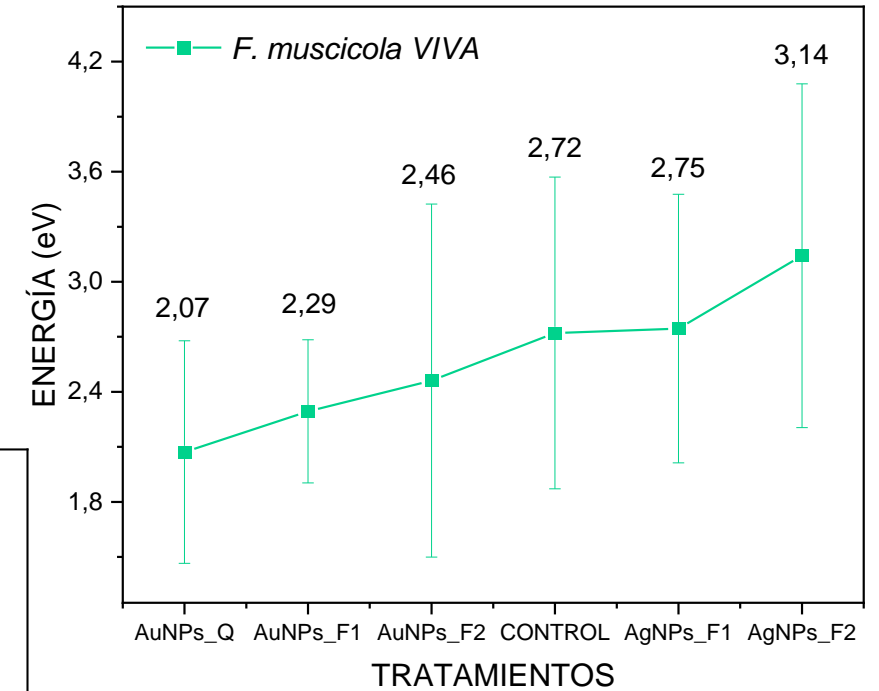
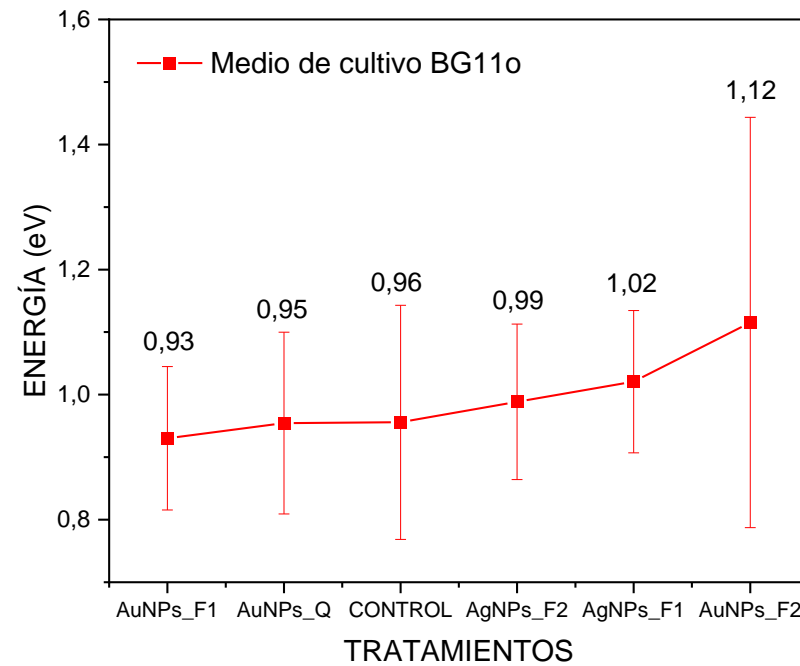


LONGITUD DE ONDA

$$E = h \cdot C / \lambda$$

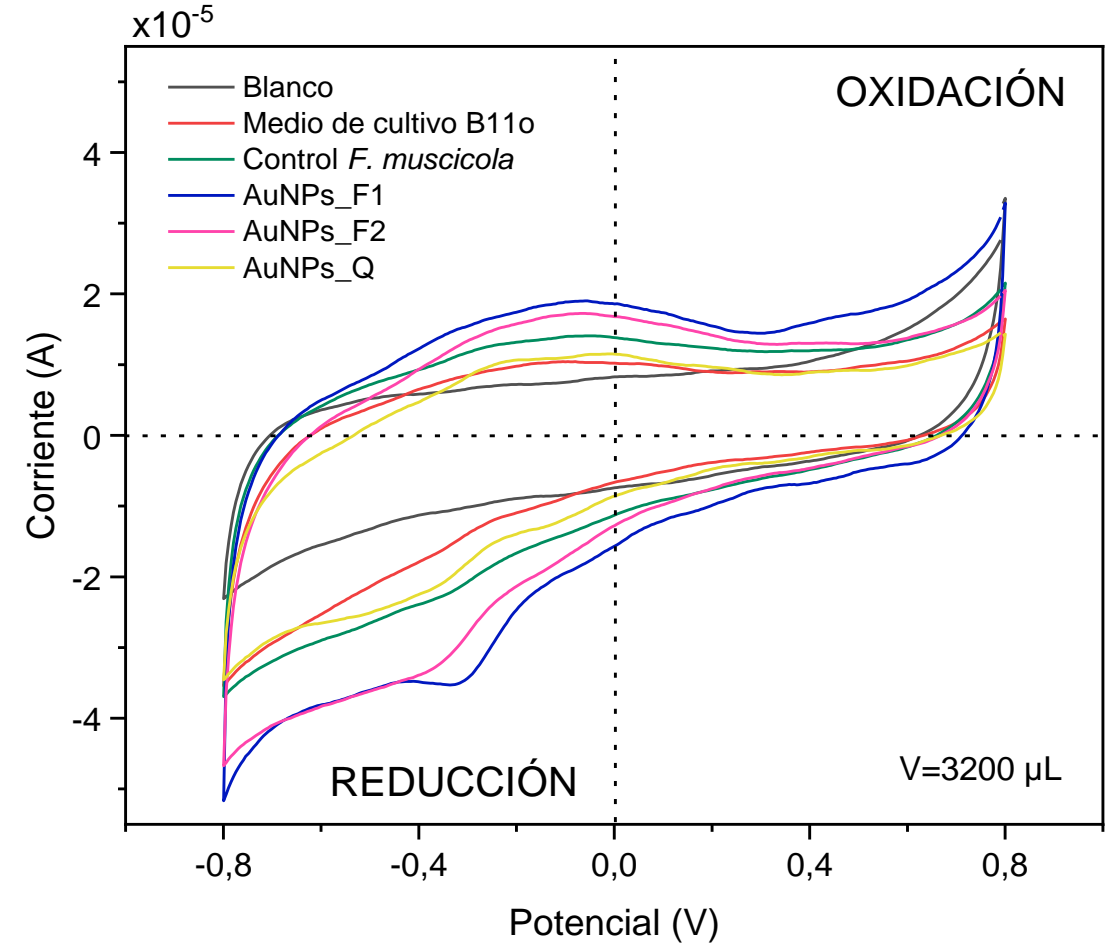
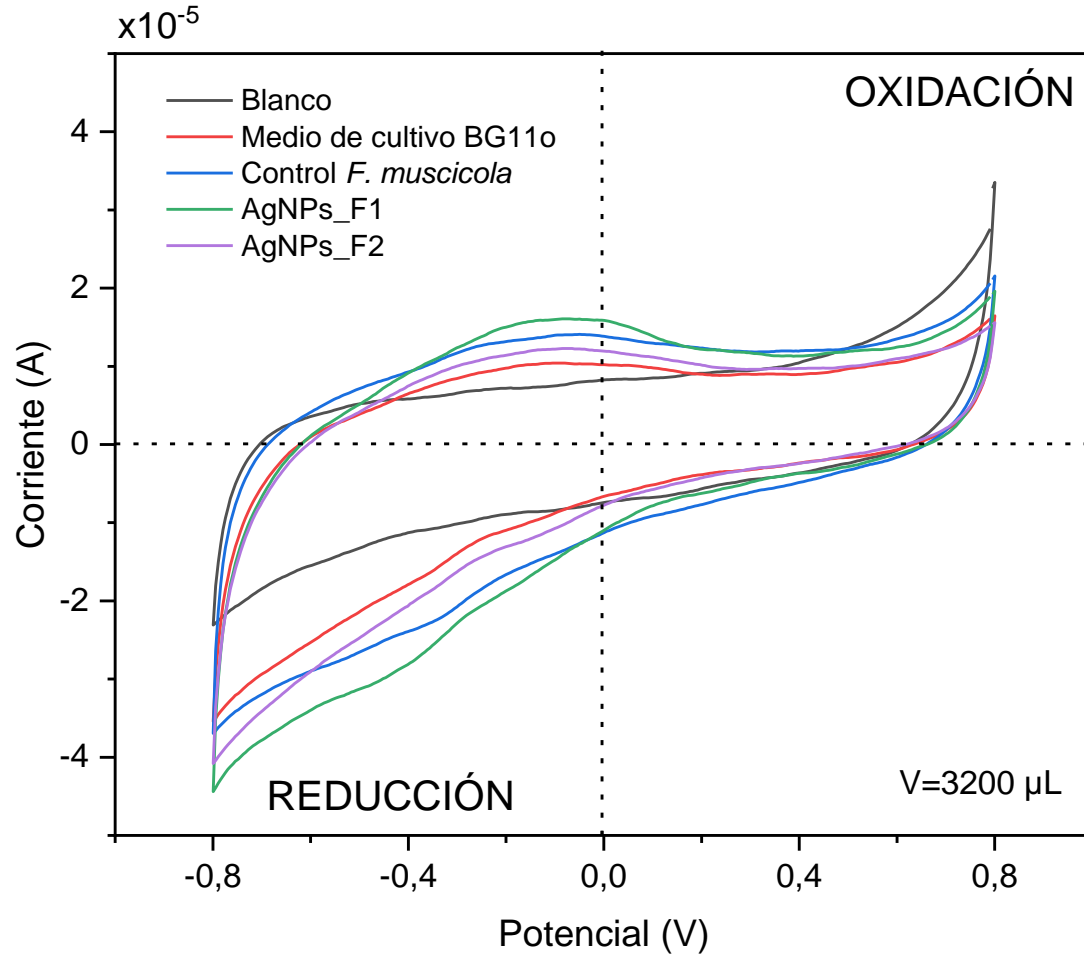


Se desconoce la etapa real de muerte, o el porcentaje de viabilidad de las células

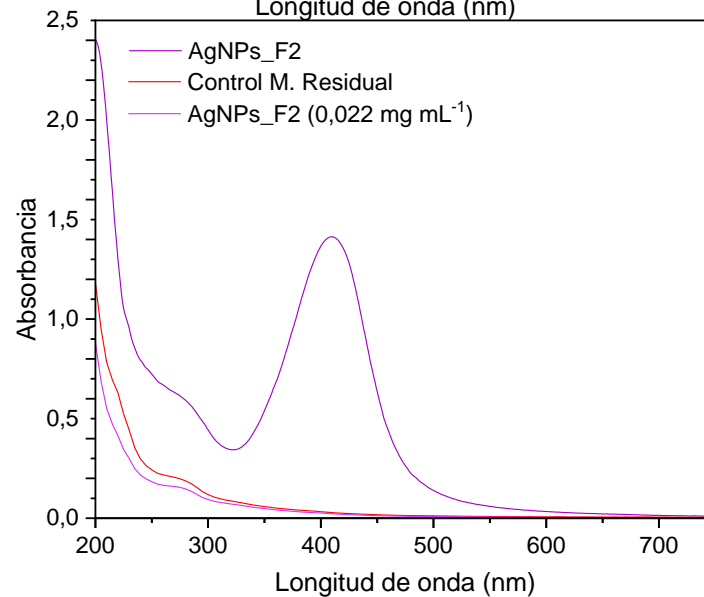
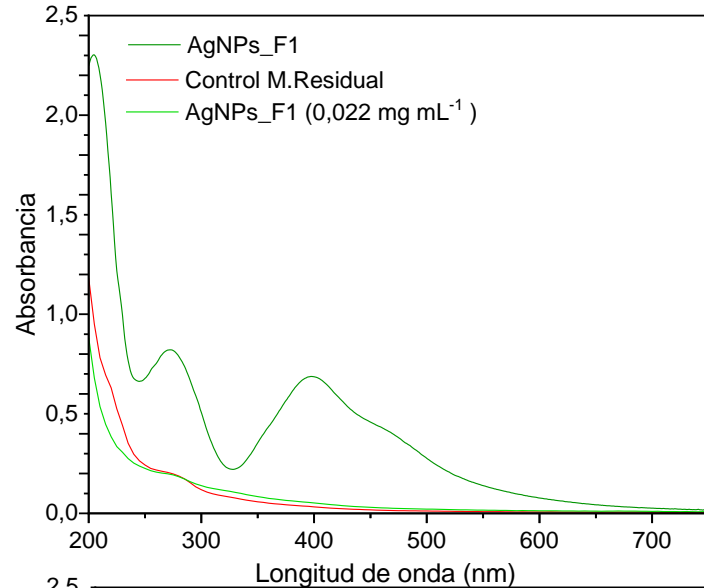


CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y ELÉCTRICA DE LOS HÍBRIDOS

Voltametría cíclica

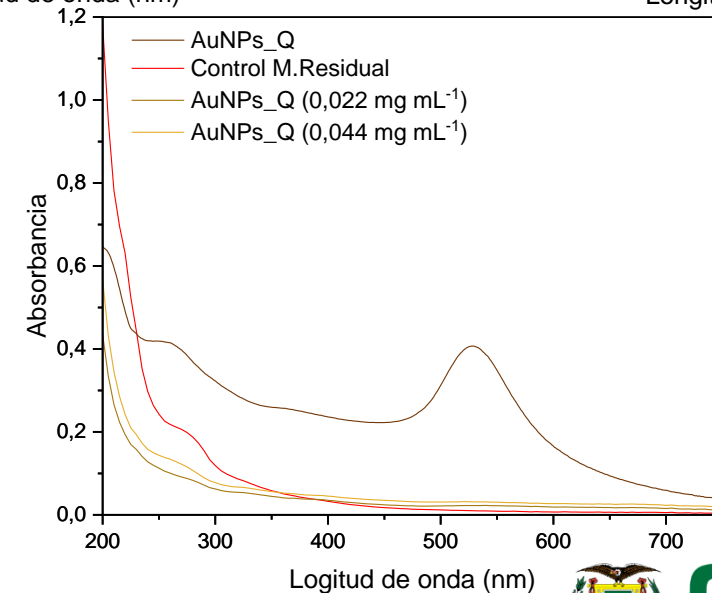
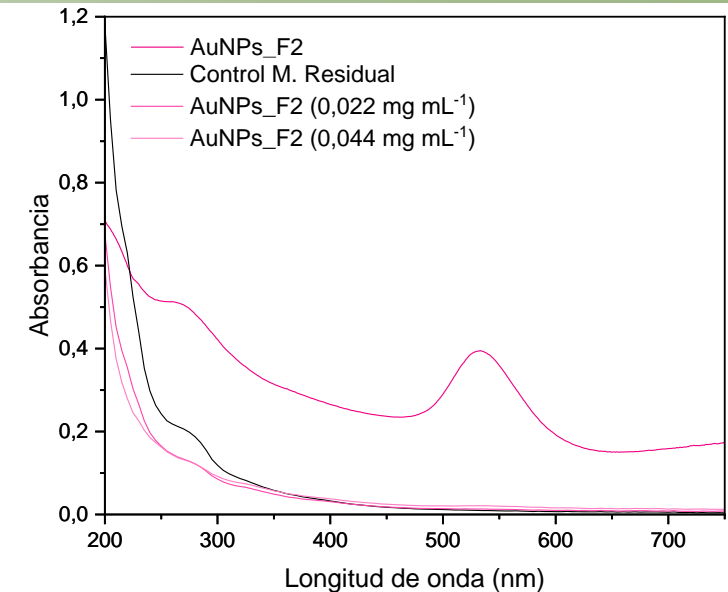
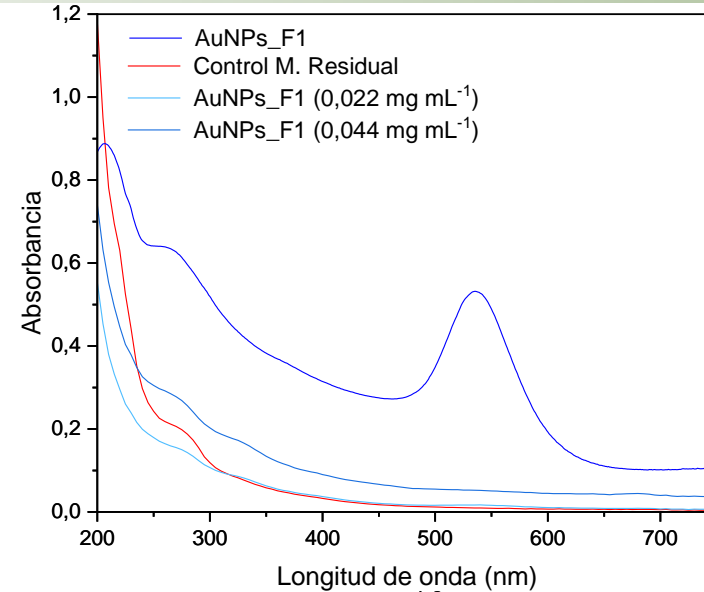



ESPECTROSCOPIA UV-VIS (AgNPs)



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ESPECTROSCOPIA UV-VIS (AuNPs)






Introducción

Objetivos

Materiales y métodos

Resultados y discusión

 **Conclusiones**

Recomendaciones

Agradecimientos

- ✓ Los cultivos de *F. muscicola* en el medio de BG11o han registrado altas cantidades de heterocistos
- ✓ 25% más de biomasa respecto a cultivos en medio BG11.

CULTIVO CELULAR

CINÉTICA DE CRECIMIENTO

- ✓ Los tratamientos con AgNPs_F2 y AuNPs_F2 en concentraciones de $0,022 \text{ mg mL}^{-1}$, mantuvieron un crecimiento exponencial con variaciones de 11,2 % y 13,3 % respecto al control.

- ✓ El mejor tratamiento para la generación de energía corresponde a los híbridos con AgNPs_F2 ya que, la cianobacteria viva posee $3,14 \pm 0,94 \text{ eV}$; con un HOMO de $-4,74 \text{ eV}$ cercano al electrodo de ITO.

CARACTERIZACIÓN morfológica y eléctrica de los híbridos

CARACTERIZACIÓN del medio residual

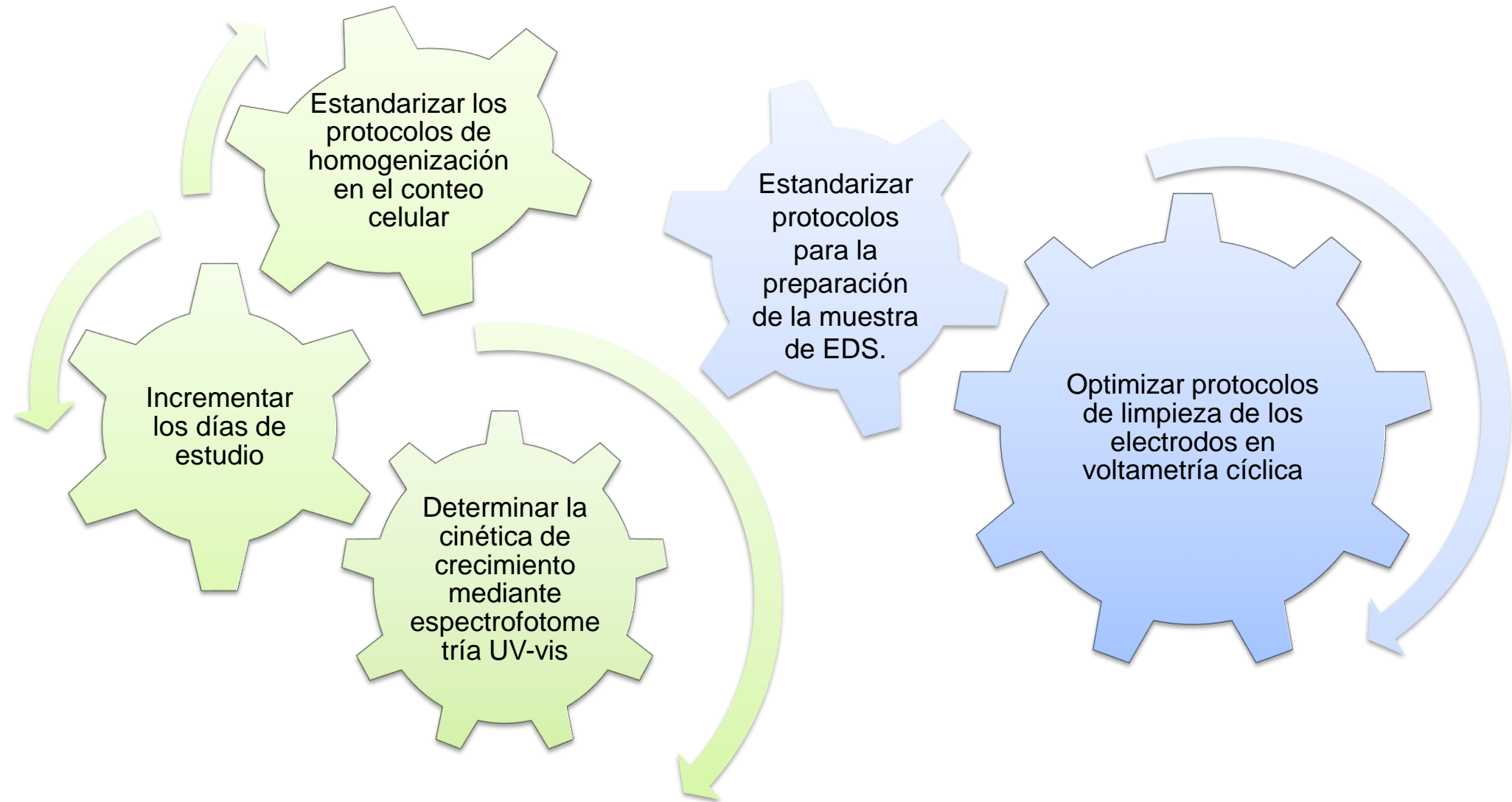
- ✓ El híbrido que se adaptó a la presencia de NPs fue el tratamiento con AgNPs_F2 con 0,099 % de Ag en el medio residual.





- Introducción
- Objetivos
- Materiales y métodos
- Resultados y discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones**
- Agradecimientos







Yolanda del Rocío Angulo Paredes, Ph.D.
Director del proyecto



Andrés Izquierdo, Ph.D.
Laboratorio de Microbiología Ambiental



FAMILIA Y AMIGOS

Totus Tuus