



REPORTE 1

Variables ambientales sobre el crecimiento microbiano

Nicolás Garrido Calderara

J. Patricio Parada Gutiérrez

Coordinador: Dr. José Antonio Reyes Suárez
Encargado trabajos prácticos: Yerko Argandoña Vargas

FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA CIVIL EN BIOINFORMÁTICA
PROCESOS BIOINDUSTRIALES

23 DE SEPTIEMBRE DE 2021

1. Introducción

El crecimiento de un cultivo de bacterias están asociados a muchas variables que permiten la duplicación de estos organismos unicelulares como lo es la *E. coli*. Dentro de aquellos factores se encuentran la temperatura, pH, y los nutrientes del medio. Por lo tanto dependiendo de las diferentes condiciones a las que están expuestas, presentarán diferenciación tanto fenotípica como de crecimiento del cultivo.

Es posible obtener distintos crecimientos en distintos tipos de ambientes de incubación o crecimiento en varios tipos de medios de cultivo tanto sólido como líquido. Estos son los principales factores de crecimiento de las bacterias ya que en base a la abundancia de alimento que tengan, será su competitividad y desarrollo de la colonia. Sin embargo mayor cantidad de nutrientes no significa mayor crecimiento. Donde es necesario mantener una relación de volumen en la solución debido a la posibilidad de estresar las colonias reprimiendo su desarrollo por exceso de nutrientes.

Para analizar y obtener el cálculo de microorganismos presentes en una muestra, existen una gran variedad de métodos, los cuales permiten obtener tanto su volumen, masa y cantidad de células. Dentro de ellas es posible considerar la cantidad de biomasa midiendo el peso su peso, o bien determinar su biovolumen a través de microscopía fotónica o epifluorescencia. Sin embargo un método menos costoso de realizar corresponde a espectrofotometría la cual mide los haces de luz que atraviesa el medio de cultivo y calcula su densidad

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

- Medio estéril y medio LB estéril.
- Matraz Erlenmeyer de 50 mL con 10 mL de medio de cultivo.
- Glucosa, glicerol y sacarosa (sucrosa) estéril.
- Micropipetas.
- Placas multipocillos.
- Espectrofotómetro de placas.
- Agitador orbital con temperatura controlada.

2.2. Métodos

2.2.1. Primera parte

Durante la primera parte se buscó establecer una aproximación para obtener valores de células viables a partir del registro de absorbancia a 600 nm.

- A partir de un cultivo cuyo número de células viables es conocido (UFC mL^{-1}), se generaron 10 diluciones seriadas en base a potencias de dos, las cuales fueron sometidas al espectrofotómetro a 600 nm.
- El experimento se realizó en triplicado.

2.2.2. Segunda parte

Desde un cultivo

3. Resultados

3.1. Curva de calibración

Los datos obtenidos de densidad óptica desde una muestra con número de células viables de detalla en la tabla 1

	Dilución en relación a muestra original							Blanco
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	
	0.905	0.537	0.307	0.183	0.110	0.077	0.061	0.044
	0.905	0.537	0.303	0.178	0.111	0.077	0.059	0.042
	0.918	0.542	0.310	0.180	0.113	0.077	0.061	0.041
Promedio	0.909	0.539	0.307	0.180	0.111	0.077	0.060	0.042

Tabla 1: Densidad óptica muestras con UFC mL⁻¹ conocida (datos en bruto)

Se ajustaron los datos para obtener la densidad óptica de la muestra, ya que la presentada en la tabla 1 indica la densidad óptica tanto del organismo como del medio de cultivo, lo que son presentado en la tabla 2

	Dilución en relación a muestra original						
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
	0.861	0.493	0.263	0.139	0.066	0.033	0.017
	0.863	0.495	0.261	0.136	0.069	0.035	0.017
	0.877	0.501	0.269	0.139	0.072	0.036	0.02
Promedio	0.867	0.496	0.264	0.138	0.069	0.035	0.018

Tabla 2: Densidad óptica muestras con UFC mL⁻¹ conocida (datos corregidos)

Dado que el inocuo inicial contenía 4.5×10^9 UFC mL⁻¹, los títulos de las diluciones seriadas están totalmente determinado y se adjuntan en la siguiente tabla

Dilución	Título ($\times 10^9$ UFC mL ⁻¹)
1:2	2.25
1:4	1.12
1:8	0.562
1:16	0.281
1:32	0.141
1:64	0.0704
1:128	0.0352

Tabla 3: Título diluciones

Entonces, a partir de los datos experimentales detallados previamente, es que se construyó una *curva de calibración* que relaciona la densidad óptica (DO) medida con la cantidad de células viables (UFC mL⁻¹), la que ilustra en la figura 1

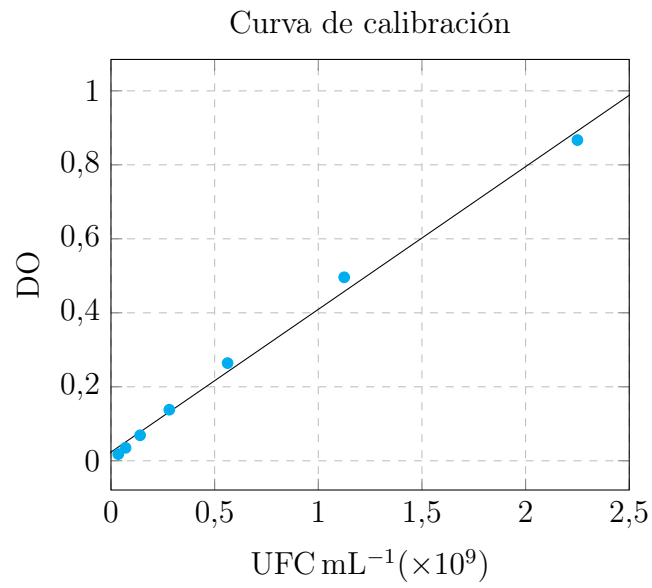


Figura 1: Curva de calibración

4. Discusión

5. Conclusión