

PRODUCCIÓN DE UN CONCENTRADO CELULAR ESPORULADO DE *Bacillus licheniformis* EMPLEANDO UN REACTOR DE TANQUE AGITADO Y MEMBRANAS DE MICROFILTRACIÓN

Ernestina Cuevas Sánchez, Rogelio Valadez Blanco, Thalía I. Ramírez Reyes, Paula Cecilia Guadarrama Mendoza, Laboratorio de Productos Naturales y Alimentos, División de Estudios de Posgrado, Universidad Tecnológica de la Mixteca, Huajuapán de León, Oaxaca, 69000, pcgm@mixteco.utm.mx.

Palabras clave: producción de biofertilizantes, *Bacillus licheniformis*, reactor de tanque agitado

Introducción. Los biofertilizantes son preparaciones que contienen uno o más microorganismos benéficos cuya función es aumentar la disponibilidad y la absorción de nutrientes, promoviendo el crecimiento de la planta (1). Para la producción de biofertilizantes a nivel industrial, se debe considerar que el producto tenga buena viabilidad, adecuada vida de anaquel y sea de fácil manejo (2). En este sentido, la técnica de microencapsulación contribuye a la liberación gradual del microorganismo en el suelo, a la protección contra agentes bióticos y abióticos, y permite la formulación en polvo, lo que facilita su manejo (3). La esporulación de las células de *B. licheniformis* puede usarse como un medio para preservar la viabilidad de las células durante el encapsulamiento por secado por aspersión (4).

En este trabajo se tuvo como objetivo la producción de un concentrado de células de *B. licheniformis* empleando un reactor de tanque agitado y membranas de microfiltración, para su subsecuente microencapsulación.

Metodología. La primera etapa consistió en determinar la temperatura a la cual se obtuvo la mayor cantidad de biomasa; para lo cual se realizaron cinéticas de crecimiento en frasco a dos temperaturas: 30 y 37 °C, a una velocidad de agitación de 200 rpm por 12 h. La segunda etapa consistió en evaluar la producción de biomasa en un reactor de tanque agitado aireado de 4 L con control de temperatura y velocidad de agitación de 140 rpm. En la tercera etapa se concentró la biomasa empleando un equipo de membranas de microfiltración de flujo tangencial (0.45 µm de tamaño de poro y 0.1 m² de área filtrante), flujo de alimentación de 500 mL/min y un factor de concentración volumétrico de 4. La tercera etapa consistió en la producción de esporas mediante calentamiento a 100 °C durante 2 h. En cada etapa se evaluó la viabilidad de las células de *B. licheniformis* con conteo en placa en medio LB-RC (UFC/mL) y se determinó espectrofotométricamente la densidad óptica a 600 nm (DO₆₀₀).

Resultados. A partir del cultivo de *B. licheniformis* en frasco agitado se determinó que el microorganismo tuvo un mejor crecimiento a 37 °C, con una fase lag 2 h menor y cantidad de células con un orden de magnitud mayor que el cultivo a 30 °C (**Fig. 1**). Con base en estos resultados,

se usó una temperatura de 37 °C para el reactor de tanque agitado obteniendo una concentración de 4.9×10^7 UFC/mL.

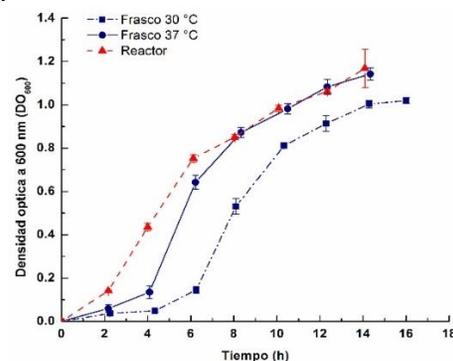


Figura 1. Crecimiento de *Bacillus licheniformis* en frasco agitado a 30 °C y 37 °C, y en reactor de tanque agitado.

En la etapa de microfiltración se observó una reducción de dos unidades logarítmicas de las células viables. Sin embargo, después de inducir la esporulación se mantuvo una cuenta de esporas viables del orden de 10^5 UFC/ml (**Tabla 1**).

Tabla 1. Mediciones de biomasa de *B. licheniformis* en las diferentes etapas del proceso

Parámetros	Reactor	Microfiltración	Esporulación
Células viables (UFC/mL)	$4.93 \pm 0.40 \times 10^7$	$1.58 \pm 0.34 \times 10^5$	$1.70 \pm 0.04 \times 10^5$
DO ₆₀₀	1.126 ± 0.02	1.89 ± 0.00	0.398 ± 0.01

Conclusiones. En el reactor de tanque agitado se alcanzaron concentraciones celulares del orden 10^7 UFC/ml en un tiempo de 14 h. La microfiltración causó la disminución de las células viables, que se pudo deber al flujo volumétrico elevado y al tamaño de poro de la membrana. La cepa presentó viabilidad después de someterla al proceso de esporulación, por lo que este proceso puede ser usado para la microencapsulación de *B. licheniformis*.

Bibliografía.

- Mahanty T *et al.* (2017) *Environ. Sci. Pollut. R.* 24(4):3315-3335.
- Mota-Pacheco LE *et al.* (2019) *Agrociencia* In press.
- Schoebitz M, López MD & Roldán A (2013) *Agron. Sustain. Dev.* 33 (4):751-765.
- Yáñez-Mendizabal V *et al.* (2012) *Biotechnol. Lett.* 34(4):729-735.

