



## INMOVILIZACIÓN DE MICROORGANISMOS EN NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS RECUBIERTAS DE QITOSAN

Sócrates Palacios<sup>1</sup>, Héctor A. Ruiz<sup>1</sup>, Cristóbal N. Aguilar<sup>1</sup>, José Martínez<sup>1</sup>, Elda Segura<sup>1</sup>, Miguel Aguilar<sup>2</sup>, Olga Sánchez<sup>3</sup>, Anna Iliná<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Coahuila, Grupo de Nanobiociencia y Departamento de Investigación en Alimentos, Saltillo, 25280, <sup>2</sup> Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV-IPN), Ramos Arizpe, 25903, <sup>3</sup> Universidad Politécnica José Antonio Echeverría (ISPJAE), Facultad de Ingeniería Química, Marianao, 127.

\*E-mail: [anna\\_ilina@hotmail.com](mailto:anna_ilina@hotmail.com).

*Palabras clave:* Inmovilización, microorganismos, nanopartículas magnéticas.

**Introducción.** La interacción entre sistemas biológicos y materiales nanoestructurados puede ser aplicada en la búsqueda de soluciones alternativas biotecnológicas para la obtención de complejos enzimáticos y bioetanol. El uso de sistemas superparamagnéticos como lo son las nanopartículas magnéticas recubiertas de quitosán (NPMQ), las cuales han sido reportadas en procesos de inmovilización de enzimas y otras proteínas (1), encontrándose limitados trabajos enfocados a la inmovilización de microorganismos. Una ventaja de estos sistemas es el poder recuperar el material inmovilizado una vez cumplida su función para volver a ser aplicado. La información acerca de la caracterización de variables que intervienen en el proceso de inmovilización de microorganismos es limitada. El objetivo del presente trabajo fue definir el efecto de diferentes variables sobre el proceso de interacción de una cepa de hongo del género *Trichoderma* sp. para producción de enzimas y la cepa de levadura *Kluyveromyces marxianus* para producción de bioetanol con la matriz de NPMQ.

**Metodología.** Las NPMQ se obtuvieron de acuerdo al método reportado previamente (2). Para la inmovilización de los microorganismos, se planteó un diseño exploratorio Plackett-Burman con 7 variables a 2 niveles: concentración de inóculo de 1E+06 y 1E+07 esporas/mL, suspensión de NPMQ de 10 y 100 µL, cantidad del medio de 5 y 10 mL, velocidad de agitación de 100 y 200 rpm, temperatura de 25 y 30 °C, tiempo de contacto de esporas de hongo de 0 h y 1.5 h, tiempo de contacto con la levadura de 0 h y 0.5 h, valor de pH de 5 y 7. Las esporas del hongo se obtuvieron a partir de medio PDA después de 7 días de crecimiento a 28 °C. El inóculo de la levadura se obtuvo en matraz con 100 mL de medio YPD, después de 17 h de crecimiento a 37 °C y 150 rpm. Las esporas y biomasa se resuspendieron y se mezclaron con NPMQ en solución salina (3) bajo las condiciones del ensayo. Se realizó el estudio cinético de adsorción de esporas o levadura durante 3 h bajo las mejores condiciones reveladas en el diseño exploratorio planteado (4). El monitoreo del proceso de adsorción se realizó cuantificando las esporas y células antes y después de la inmovilización mediante la cámara de Neubauer. El análisis estadístico de los resultados, se realizó usando un paquete estadístico STATISTICA 7 y Microsoft Excel.

**Resultados.** La Figura 1 demuestra que las variables que significativamente influyen en el proceso de adsorción de las esporas son: cantidad de inóculo, cantidad de NPMQ y agitación, mientras que en el caso de la levadura: cantidad de inóculo, cantidad de NPMQ, agitación, medio y tiempo. Las cinéticas de inmovilización demuestran que la inmovilización se lleva a cabo en un tiempo cercano a 30 min y 1.5 h para levaduras y esporas de hongo, respectivamente (Figuras 1 y 2).

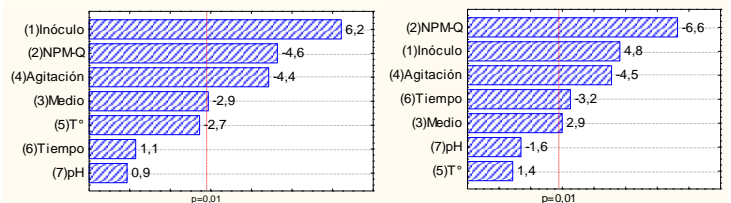


Fig. 1. Gráfica de Pareto de efectos de las variables consideradas en el ensayo de la inmovilización de las esporas de hongo (izquierda) y células de levadura (derecha).

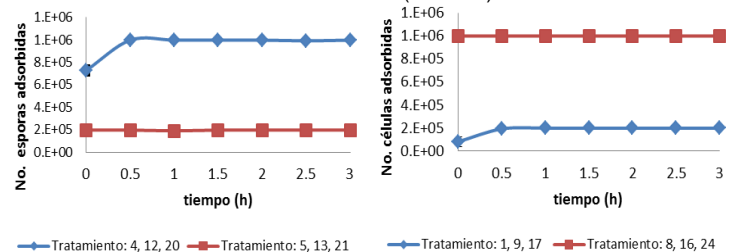


Fig. 2. Cinética de adsorción de esporas de *Trichoderma* sp. (izquierda) y levadura *Kluyveromyces marxianus* (derecha) en NPMQ.

**Conclusiones.** El proceso de inmovilización de las esporas de *Trichoderma* sp. y células de levadura *Kluyveromyces marxianus* en NPMQ es afectado por: cantidades de inóculo y NPMQ, así como velocidad de agitación. El tiempo de inmovilización cambia en función de estos factores.

**Agradecimiento.** Al CONACYT de México: proyecto PDCPN 2013-01-213844 y beca de postgrado.

### Bibliografía.

- Sánchez-Ramírez J, Iliná A, Segura-Ceniceros EP, Contreras-Esquivel JC, Medina-Morales MA, Aguilar CN, Martínez-Hernández JL. (2014). *Química Nova*, QN, 37 (3): 504-512
- Osuna Y, Gregorio-Jauregui KM, Gaona-Lozano JG, de la Garza-Rodríguez IM, Ilyna A, Barriga-Castro E, Saade H, López RG. (2012). *J Nanomater.* 2012: 1- 7, doi:10.1155/2012/327562.
- Peng Q, Liu Y, Zeng G, Xu W, Yang C, Zhang J. (2010). *J. Hazardous Mater.* 177: 676-682
- Dada A, Olalekan A, Olatunya A, Dada O. (2012). *J. Appl. Chem.* 3: 38-45.