

# LA INMOVILIZACIÓN CELULAR COMO HERRAMIENTA PARA LA INOCULACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

**Enrique Durán-Páramo**, Marco A. Brito Arias, José Manuel Muñoz Aguilar y Fabián Robles Martínez.

Departamento de Bioprocesos, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología,

Instituto Politécnico Nacional

Ave. Acueducto s/n, La Laguna Ticomán, 07340 México, D.F. [eduran@acei.upibi.ipn.mx](mailto:eduran@acei.upibi.ipn.mx)

Palabras clave: *inmovilización celular*, *Lactobacillus casei*, *inoculación de medios*.

**Introducción.** La inmovilización de microorganismos en soportes naturales o sintéticos proporciona estabilidad a las funciones celulares. Esta técnica permite alcanzar altas concentraciones celulares en volúmenes reducidos, así como la reutilización del biocatalizador y la implantación de sistemas continuos de producción (1). El presente proyecto involucra la inmovilización de bacterias lácticas en partículas de gel de carragenina. Se pretende desarrollar un sistema continuo de inoculación y prefermentación de medios de cultivo, explotando una de las características de los sistemas de células inmovilizadas que es la liberación controlada de microorganismos de la matriz de inmovilización.

**Metodología.** *Lactobacillus casei var. shirota* se cultivó en medio MRS durante 12 h a 37 °C en un fermentador Applikon de 3 litros. Posteriormente se separó la biomasa por centrifugación a 5000 r.p.m. Se utilizó el método de inmovilización celular por inclusión utilizando carragenina al 2%. Se produjeron de manera estéril partículas de inmovilización esféricas de 3 mm de diámetro. Las partículas se empacaron en una columna por donde fluyó el medio de cultivo por medio de una bomba peristáltica. Se utilizó el método de disolución del material de inmovilización con soluciones de citrato de sodio (0.1M) para liberar la biomasa inmovilizada (2). La evolución del número de unidades celulares formadoras de colonias se realizó por medio de plaqueo en cajas de Petri.

**Resultados.** Con la cepa *Lactobacillus casei var. shirota* se desarrolló el método de inmovilización y el sistema de fermentación continua. El soporte de inmovilización utilizado ( $\kappa$ -carragenina) resultó satisfactorio debido a sus características termogelificantes y su facilidad de manejo. Esta matriz de inmovilización permitió un rápido desarrollo de las colonias de bacterias lácticas inmovilizadas. La Figura No. 1 presenta la evolución de la biomasa inmovilizada y de la biomasa liberada del soporte de inmovilización, que es de particular interés en el presente trabajo. Se puede observar que con una inoculación inicial de 10% correspondiente al  $1 \times 10^3$  bacterias/ml, y después de 3 horas de cultivo el fenómeno de liberación celular es efectivo permitiendo una

inoculación de  $1 \times 10^6$  bacterias/ml. Al cabo de 18 h de cultivo, la biomasa total inmovilizada y la biomasa liberada alcanzan una concentración celular de  $1.5 \times 10^9$  bacterias/ml de medio y  $1 \times 10^{10}$  bacterias/ml de gel, respectivamente. Este sistema permite la inoculación masiva de medios y su prefermentación continua.

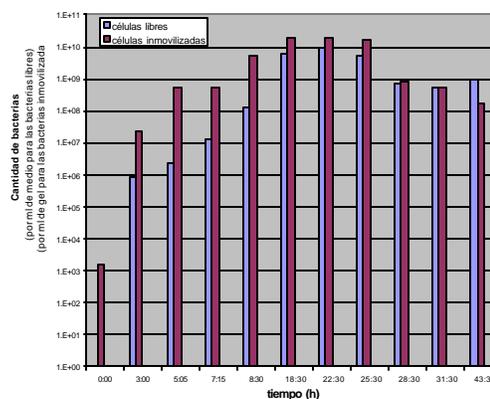


Figura 1.- Evolución de la biomasa libre e inmovilizada.

**Conclusiones.** Los resultados obtenidos con la cepa *Lactobacillus casei var. shirota* confirman que la técnica de inmovilización celular por inclusión puede ser utilizada para el desarrollo masivo de bacterias para la inoculación continua de medios de fermentación. Los soportes de inmovilización inoculados pueden funcionar como semilleros naturales de bacterias lácticas durante períodos prolongados.

**Agradecimientos.** Apoyo financiero de CONACYT proyecto I-29204-B.

## Bibliografía.

- Durán-Páramo, E. *et al* (2000), *Appl. Biochem. Biotechnol.* **84-86**, 479-485.
- Durán-Páramo, E. (1997), PhD thesis, Université de Technologie de Compiègne, France.