







## XIX Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería Área VII- Biopolímeros y biomateriales



## Contenido

MICOPLÁSTICO: Ganoderma curtisii COMO SUSTITUTO DEL POLIESTIRENO EXPANDIDO María Fernanda Gutiérrez Pérez, Yarey Maldonado Calixto, Sonia Esmeralda Luna Irineo, Sandra Ivonne Martínez Mejía, Yulma Cinthya Calixto Morales, Andrea Coba de Ita, Aimeé Hernández Acuña, Alberto Hernández Crespo, M.C. Montserrat Vázquez Balbuena, Biól. Eloy Herrera Vázquez y M.I. Carolina Osnaya Gamboa	266
FUNCIONALIZACIÓN SUPERFICIAL DEL PEEK POR PROYECCIÓN TÉRMICA POR PLASMA ATMOSFÉRICO John Henao, Benjamín Ortega, Elmer A. Lugo P., Jorge Corona, Astrid Giraldo, Carlos Poblano	267
CARACTERIZACIÓN DE ANDAMIOS DE ALGINATO-QUITOSANO PARA SU APLICACIÓN EN INGENIERÍA DE TEJIDOS Daniela I. Angeles Cruz, Cinthya González Jacinto, Yenifer Alba Trejo, Emmanuel Francisco Solano, Nohra E. Beltrán Vargas	268
ESTANDARIZACIÓN DE UNA METODOLOGÍA PARA LA OBTENCION DE HIDROGEL MIXTO PARA EL ENCAPSULAMIENTO DE CELULAS DE GLIOBLASTOMA MULTIFORME	
Janette Aguilera, Guadalupe De Dios, Edwin Reza, Alejandro Canales, Pavel Lugo	269
OPTIMIZACIÓN DE UN PROCESO PARA OBTENER ÁCIDO LÁCTICO A PARTIR DE ALMIDÓN	
Denisse Elibeth Ramos Suarez, Norma Angélica Chávez Vela, Gpe. Javier Araiza Arvilla, E. Verónica Moreno Córdova	270
OBTENCIÓN DE POLIHIDROXIALCANOATOS A PARTIR DE CONSORCIOS DE CIANOBACTERIAS PROCEDENTES DE AGUAS RESIDUALES Enrique Romero Frasca, Germán Buitrón	271
CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL DEL MUCÍLAGO DE NOPAL <i>Opuntia ficus indica</i>	
Kenia Itzel Guerrero Téllez, Isadora Martínez Arellano, María Soledad Córdova Aguilar	272
OBTENCIÓN DE RECUBRIMIENTOS POROSOS DE HAP POR HVOF PARA APLICACIONES EN ORTOPEDIA Juan Jamboos, John Henao, Carlos Poblano	273
FABRICACIÓN DE UNA COLUMNA DE FASE ESTACIONARIA MONOLÍTICA PARA CROMATOGRAFÍA DE PROTEÍNAS Elizabeth Pérez Rodríguez, Mirna Lorena Sánchez, José Guillermo González Valdez, Marco Arnulfo Mata Gómez	274
EVALUACIÓN DEL PROCESO DE ELECTROHILADO EN LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE MEMBRANAS ELABORADAS DE BIOPOLÍMEROS Y COMPONENTES VEGETALES	
Karla Katiushka Solís Arévalo, Carlos Solís Rojas, María del Socorro Flores González, Katiushka Arévalo Niño	275



## XIX Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería Área VII- Biopolímeros y biomateriales



DETERMINACIÓN DE LA FUNCIÓN DE DOS NUEVAS PROTEÍNAS PHASIANAS EN LA PRODUCCIÓN DE PLÁSTICOS BIODEGRADABLES EN <i>Azotobacter vinelandii</i> Jessica Ruiz Escobedo, Josefina Guzmán, Soledad Moreno, Alma Reyes González, Guadalupe Espín, Daniel Segura	276
DEL ALMIDÓN MODIFICADO AL ALMIDÓN NATIVO: POSIBILIDAD DE USO POR VÍA NASAL Nathaly Vasquez-Martínez, Pedro Medina-Granados, Daniel Alejandro Guillen-Santos, Roció Casañas-Pimentel, Romina Rodríguez-Sanoja	277
ANALISIS DE LA REGULACIÓN DE LA POLIMERIZACIÓN DE BIOPLÁSTICO POLIHIDROXIBUTIRATO (PHB) POR LAS PROTEÍNAS PhbF y Avin_33510 en Azotobacter vinelandii Thalía Barrientos Millán, Libertad Adaya, Holjes Salgado, Josefina Guzmán, Soledad Moreno, Carlos Peña, Guadalupe Espín, Daniel Segura González	278
CARACTERIZACIÓN DE ALMIDÓN RECUPERADO DE PAPA DE RESIDUO INDUSTRIAL María Diana G. Montoya-Anaya, Claudia Grijalva-Verdugo, César L. Aguirre-Mancilla, J. Tomás Madera-Santana, J. Rubén Rodríguez-Núñez	279
MATERIALES BIOHÍBRIDOS: NANOVESÍCULAS DE LÍPIDOS, PROTEÍNAS Y POLÍMEROS R. Pérez-Isidoro, F.J. Guevara-Pantoja, C. Ventura-Hunter, C. Guerrero-Sánchez, E Saldívar-Guerra	280
BIOSÍNTESIS DE POLIHIDROXIALCANOATOS UTILIZANDO GLICEROL CRUDO COMO FUENTE DE CARBONO Y PSEUDOMONAS Valeria Ramírez, Liliana Cruz, Alejandra. Álvarez, Juan de Dios. Galindo y Vanessa Vallejo	281
APLICACIÓN DE LA TÉCNICA DE ELECTROHILADO EN LA FABRICACIÓN DE ANDAMIOS DE GELATINA José Luis Quijano Mendoza, Nayeli Rodríguez Fuentes, Fernando Hernández Sánchez, Hugo Joel Carrillo Escalante	282



## Memorias Área VII



### MICOPLÁSTICO: Ganoderma curtisii COMO SUSTITUTO DEL POLIESTIRENO EXPANDIDO

María Fernanda Gutiérrez Pérez, Yarey Maldonado Calixto, Sonia Esmeralda Luna Irineo, Sandra Ivonne Martínez Mejía, Yulma Cinthya Calixto Morales, Andrea Coba de Ita, Aimeé Hernández Acuña, Alberto Hernández Crespo, M.C. Montserrat Vázquez Balbuena, Biól. Eloy Herrera Vázquez y M.I. Carolina Osnaya Gamboa. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), Facultad de Ciencias Biológicas, Puebla, Pue. 72570.

maria.gutierrezpere@alumno.buap.mx

Palabras clave: Bioplástico; Micelio; Unicel

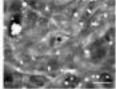
Introducción. El actual uso desmedido de los plásticos de un solo uso ha generado una problemática medioambiental que puede traer consecuencias a futuro. Debido a ello, en los últimos años se ha propuesto la fabricación de materiales biodegradables que funcionen como una alternativa al uso del plástico. Se han utilizado como objetos de estudio el micelio de Agaricus bisporus, Pleurotus Ganoderma ostreatus. lucidum. Pycnoporus sanguineus, Pleurotus albidus y Lentinus velutinus (1,2,3) para la elaboración de materiales de construcción y materiales biodegradables de bajo costo de producción. Sin embargo, aún no se ha explorado el potencial del micelio de Ganoderma curtisii como una alternativa para producir un bioplástico que pueda sustituir al poliestireno expandido (unicel).

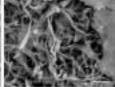
El objetivo de este proyecto fue determinar si cuatro propiedades físicas de los bioplásticos obtenidos a base del micelio de *G. curtisii*, cultivado en paja (grupo control) o sustratos vegetales ricos en celulosa (olote de maíz) o lignina (aserrín de encino), son equiparables a los valores registrados para el poliestireno expandido (EPS).

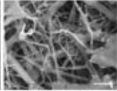
**Metodología**. Se inoculó *G. curtisii* en diferentes sustratos ricos en polisacáridos (lignina o celulosa), se dejó crecer el micelio durante 28 días (4). Posteriormente se les realizaron cuatro pruebas mecánicas (resistencia a la compresión, impermeabilidad, densidad y resistencia térmica), una espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS) y una microscopía electrónica de barrido (SEM). Finalmente, los valores registrados se contrastaron con los del poliestireno expandido.

Resultados. La resistencia a la compresión del bioplástico cultivado en olote (52.86 MPa) fue la más alta de todos los grupos (paja: 22.98 MPa; aserrín: 11.49 MPa); mientras que el unicel presenta una resistencia de sólo 0.132 MPa y una densidad de 0.03 kg/L (5). De forma similar, todos los bioplásticos tuvieron una densidad mayor a la del unicel, aunque el bioplástico crecido en aserrín presentó el valor medio más alto, seguido del olote y la paja (0.246 Kg/L, 0.176 Kg/L y 0.155 Kg/L, respectivamente). En cuanto a la impermeabilidad, los biobasados de paja y aserrín obtuvieron valores (15.72 y 15.13%,

respectivamente) similares a los del unicel (13-17%), mientras que en el olote la impermeabilidad fue baja (7.90%). Por último, en la prueba de la resistencia térmica, todas las muestras no sufrieron alteraciones físicas en temperaturas inferiores a 500°C. El análisis EDS evidenció que las tres muestras tienen una composición similar de C, O, Mg, Cl, y K. Deducimos que el porcentaje de O (paja: 45.2%; aserrín: 47.1%; olote: 48.7%) fue determinante para microestructura de los tres bioplásticos mostrara diferencias en cuanto a la compactación v entrelazado del micelio con la biopelícula formada (Figura 1).







paje B) Grupo ciole C) Erupo seamin

Fig. 1. Microestructura de los plásticos biobasados. En el grupo paja se observa una biopelícula completa y lisa (A), mientras que en el grupo olote se formó una biopelícula incompleta (B) al igual que en el grupo aserrín (C). Imágenes obtenidas por SEM (2000x), barra de escala equivale a 10 μm.

**Conclusiones**. Los bioplásticos obtenidos presentan una mejor resistencia a la compresión y una impermeabilidad similar a las del EPS, por lo que pueden ser utilizados como sustitutos del unicel para la fabricación de materiales de embalaje, de construcción o desechables.

**Agradecimiento**. Al laboratorio del Centro Universitario de Vinculación y Transferencia de Tecnología (CUVyTT) de la BUAP por realizar las pruebas EDS y SEM; y al Laboratorio de Procesamiento de Materiales de la FIQ por ayudarnos con las pruebas físicas. **Bibliografía**.

- 1. Román, J., Luna, F., y Bailón, L. (2014). *Informes de la construcción*. 66 (1): 12-30.
- 2. Haneef, M., Ceseracciu, L., Canale, C., Bayer, I., Heredia, J., y Athanassiou, A. (2017). *Scientific Reports*. 7 (1): 1-11.
- 3. Bruscato, C., Malvessi, E., Brandalise, R. y Camassola, M. (2019). *Journal of Cleaner Production*. 234 (10): 225-232.
- 4. Sheng, Q. (2017). Producción comercial de la seta *Pleurotus spp.*
- 5. Pérez, N., Garnica, P., Peréz, A., Juárez, R y Castro, F. (2016). *Evaluación de las propiedades mecánicas del poliestireno expandido.* Querétaro, México: Secretaría de Comunicaciones y Transporte. 75 pp.





## FUNCIONALIZACIÓN SUPERFICIAL DEL PEEK POR PROYECCIÓN TÉRMICA POR PLASMA ATMOSFÉRICO

John Henao\*, Benjamín Ortega, Elmer A. Lugo P., Jorge Corona, Astrid Giraldo, Carlos Poblano

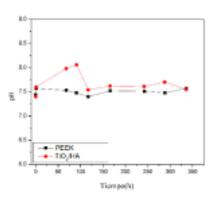
Palabras clave: Bioactividad, Biocompatibilidad, Recubrimiento

Introducción La polieteretercetona (PEEK) posicionado como el material polimérico más empleado en sustitución de componentes metálicos en aplicaciones biomédicas, esto debido en gran medida su módulo elástico (8.3GPa), cercano al del hueso cortical humano (17.7 GPa), el cual es mucho más bajo que el de otros materiales ampliamente utilizados en dichas aplicaciones como son las aleaciones de titanio (116 GPa) y de cromo-cobalto (210 GPa) [1]. En aplicaciones que implican regeneración de tejido óseo, materiales como el PEEK se encuentran limitados por su carencia de bioactividad. Hoy en día existen técnicas para modificar superficialmente diferentes materiales poliméricos con el fin de proveer a éstos de propiedades bioactivas, entre ellos la proyección térmica que consiste en la aplicación de energía térmica y cinética para fundir y acelerar partículas del material a depositar como recubrimiento hacia la superficie de una pieza o dispositivo [1, 2]. En años recientes, se han hecho esfuerzos para recubrir al **PEEK** cerámicos bioactivos con poco éxito debido a las altas temperaturas requeridas para depositar estos materiales [3]. En el presente trabajo se presenta una metodología habilita la fabricación de recubrimientos biocerámicos sobre PEEK para proveerlo de bioactividad superficial.

Metodología. Se empleó dióxido de titanio (Metco 102, Oerlikon Metco) e hidroxiapatita (Captal 30, Plasma Biotal, UK) en polvo de origen comercial, ambos materiales conocidos por su biocompatibilidad bioactividad. El proceso de proyección térmica por plasma (APS) fue empleado para la fabricación recubrimientos. Este proceso permite fundir y provectar hacia la superficie del sustrato (PEEK) las partículas cerámicas a partir de un plasma formado por argón e hidrogeno que alcanza temperaturas entre 5,000 10,000 °C. Para habilitar la formación de los recubrimientos sobre el PEEK, se controló la tasa de calentamiento y enfriamiento del sustrato, así como la de la superficie al plasma. Para evaluar el éxito del método. se realizaron medidas de rayado e inmersión in-vitro. caracterización microestructural así como microscopia electrónica de barrido.

Resultados. Los resultados obtenidos muestran que se requiere mantener una temperatura promedio en la superficie del PEEK inferior a la temperatura de fusión. Cuando esta se supera, produce degradación del polímero y, con ello, produce una caída en la eficiencia de depósito del proceso. En el presente trabajo

se obtuvo un recubrimiento bicapa de óxido de titanio y seis capas de hidroxiapatita sobre PEEK. Los resultados del análisis de la sección transversal de los recubrimientos indican que los recubrimientos con la mayor eficiencia de depósito presentaron un espesor promedio de 85 µm para la primera capa y de 54 µm para la segunda capa, así como una porosidad 3.45% y 2.59%, respectivamente. La caracterización por rayado sobre los recubrimientos permitió calcular el esfuerzo de adhesión necesario para delaminar la capa de recubrimiento. El esfuerzo de adhesión calculado para el recubrimiento bicapa fue de 50 MPa. Finalmente, la caracterización in-vitro sugiere la formación de apatita en la superficie del material recubierto. Las curvas de pH en la Figura 1 muestran una mayor interacción del PEEK recubierto con respecto al que no lo está, el cual permanece a pH casi constante durante los 14 días de prueba.



**Fig. 1.** Curva de pH realizada en los recubrimientos de óxido de titanio/hidroxiapatita en comparación con el PEEK en fluido corporal simulado a 37°C por 14 días.

**Conclusiones**. El control de las condiciones de enfriamiento y calentamiento del PEEK permite la fabricación de recubrimientos sobre este material con propiedades bioactivas y con propiedades mecánicas funcionales para la industria biomédica.

**Agradecimiento**. Programa de Cátedras CONACYT 848 y 881, y al programa nacional de posgrados PNPC, beca 756422.

- 1. Ortega-Bautista B, González H.(2020). *Rev. Col. Ing. De Materiales*. vol (16): 90-103.
- 2. Fauchais P., Montavon G. (2008). Key Eng. Mater, vol (348): 1-59.
- 3.Barillas, L., Testrich, H., Cubero-Sesin, J. M., Quade, A., Vargas, V. I., Polak, M., & Fricke, K. (2018). *IEEE Transactions on Radiation and Plasma Medical Sciences*, 2(5), 520-525.





# CARACTERIZACIÓN DE ANDAMIOS DE ALGINATO-QUITOSANO PARA SU APLICACIÓN EN INGENIERÍA DE TEJIDOS.

Daniela I. Angeles Cruz, Cinthya González Jacinto, Yenifer Alba Trejo, Emmanuel Francisco Solano, Nohra E. Beltrán Vargas, Departamento de Procesos y Tecnología, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Cuajimalpa, Ciudad de México, C.P. 05300.

nbeltran@cua.uam.mx

Palabras clave: hidrogeles, alginato, quitosano

Introducción. Los hidrogeles de alginato-quitosano han sido utilizados en ingeniería de tejidos principalmente en la formación de tejido óseo. La combinación de estos biomateriales mejora sus propiedades mecánicas y las interacciones celulares (Baysal et al., 2013), en el caso de ingeniería de tejidos, el alginato favorece la angiogénesis y lo hace reticulable mientras que, el quitosano da al andamio estructura mecánica y favorece la porosidad. Porcentajes de hinchamiento mayores a 2000% han sido reportados como adecuados para generación de tejidos blandos (Bushkalova et al, 2019). La permeabilidad se relaciona directamente con el grado de interconectividad de los poros ya que controla el flujo de nutrientes a través del andamio hacia las células que migran en su interior, logrando así un crecimiento celular eficiente (Macías et al., 2017). Nuestro grupo ha propuesto la generación de nuevos andamios de 0.75% p/v de alginato v 1.25% p/v de guitosano, para la generación de constructos de tejido cardiaco.

Los objetivos de este trabajo son evaluar diferentes metodologías para generar los andamios, determinar sus propiedades de hinchamiento y permeabilidad e identificar la mejor metodología para el crecimiento de cardiomiocitos.

Metodología. Los andamios fueron mediante el método de liofilización utilizando sonicación o agitación magnética para la mezcla de los biomateriales. En todos los casos el agente entrecruzante fue gluconato de calcio. Se probaron 4 métodos de fabricación: (1) agitación con 15 min de entrecruzamiento, min sonicación 10 15 por con min entrecruzamiento, (3) agitación con 30 min entrecruzamiento, y (4) sonicación por 10 min con 30 min porcentaje de de entrecruzamiento. Se midió el hinchamiento y la permeabilidad en los diferentes métodos de fabricación. Se calculó la porosidad y se hizo un ensayo de viabilidad celular para cada método.

**Resultados**. Los porcentajes de hinchamiento del método (2) fueron menores a 2000 %, mientras que el método (3) llegó a valores superiores a 3000 %. En cuanto a la permeabildiad, el método (2) presenta valores superiores a  $1.5x10^{-8} m^2$  mientras que los otros tres métodos presentan resultados inferiores a  $1x10^{-8} m^2$ .

**Tabla 1.** Porcentajes de porosidad por método de fabricación de los andamios.

Método	% de porosidad
Agitación con 15 min de entrecruzamiento	92.73
Sonicación con 15 min de entrecruzamiento	87.78
agitación con 30 min de entrecruzamiento	93.26
sonicación con 30 min de entrecruzamiento	93.68

Los porcentajes de viabilidad celular fueron superiores al 80% en todos los métodos propuestos, sin embargo, el método (3) de agitación con 30 min de entrecruzamiento fue el de mayor porcentaje de viabilidad. Todos presentan baja toxicidad por lo que pueden ser utilizados en ingeniería de tejidos.

Conclusiones. Se obtuvieron altos porcentajes de hinchamiento, así como altos valores de permeabilidad en comparación a lo reportado a la literatura, esto al evaluarse los diferentes métodos de elaboración de andamios propuestos. Los andamios del método (3) agitación con 30 min de entrecruzamiento, son los presentan mayor porcentaje de hinchamiento, mayor viabilidad celular y tienen altos porcentajes de porosidad y permeabilidad, por lo cual creemos que son los mejores para el crecimiento de células cardiacas.

**Agradecimiento**. El proyecto fue financiado por la Secretaría de Educación, Ciencia, Tecnología e Innovación (SECTEI) de la Ciudad de México.

- 1. Baysal, K., Aroguz, A. Z., Adiguzel, Z., & Baysal, B. M. (2013). Chitosan/alginate crosslinked hydrogels: Preparation, characterization and application for cell growth purposes. *Int J of Biol Macromolecules*, *59*, 342-348.
- 2. Bushkalova, R., Farno, M., Tenailleau, C., Duployer, B., Cussac, D., Parini, A., Girod Fullana, S. (2019). Alginate-chitosan PEC scaffolds: A useful tool for soft tissues cell therapy. *Int J Pharm*, *571*, 118692.
- 3. Macías-Andrés, V. I., Orozco-Sixtos, J. M., Maldonado-Paleo, J., & Aguilar-Reyes, E. A. (2017). Evaluación de la Permeabilidad en Andamios Macroporosos de Bioglass 45S5 para Ingeniería de Tejidos. *Rev mex de ing biomédica, 38*, 273-279



## Memorias Área VII



# ESTANDARIZACIÓN DE UNA METODOLOGÍA PARA LA OBTENCION DE HIDROGEL MIXTO PARA EL ENCAPSULAMIENTO DE CELULAS DE GLIOBLASTOMA MULTIFORME.

Janette Aguilera, Guadalupe De Dios, Edwin Reza, Alejandro Canales, Pavel Lugo.
Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), Departamento de Biotecnología Médica y Farmacéutica, Guadalajara 44270, Pavel Lugo, plugo@ciatej.mx.

Palabras clave: Cultivo 3D, glioblastoma, hidrogel mixto.

Introducción. El glioblastoma multiforme (GBM) es un tumor cerebral altamente agresivo e invasivo que presenta una sobrevida inferior a un año, debido a múltiples factores, entre ellos la limitada disponibilidad de terapias sistémicas (1). El desarrollo de terapias para GBM representa un desafío importante para los científicos, debido a la alta tasa de fracaso observada, la cual representa más del 90% y está relacionada con la ineficiencia de los modelos de evaluación (2).

Derivando en la necesidad de desarrollar modelos que sean capaces de proporcionar datos clínicamente relevantes; Se ha observado que la tecnología de cultivo 3D pueden reducir la brecha entre el cultivo celular y el tejido vivo al imitar características específicas de los tejidos y por ende se presume que este tipo de tecnologías podrían contribuir a disminuir los tiempos y costos de evaluación de nuevas terapias (3).

Metodología. Se realizó formulación de hidrogel mixto a base de polímeros de origen natural (alginato y gelatina en proporción 1.5:1) en medio mínimo esencial Eagle (EMEM) (4). Se encapsulan 100,000 células U87-MG por cada 700 µL de hidrogel, posteriormente se deposita la mezcla en moldes de silicona, se someten entrecruzamiento °C térmico а 4 entrecruzamiento iónico con una solución de CaCl2 a 150 mM y finalmente se incuban en medio EMEM suplementado a 37 °C, 5% CO2. Se realizó pruebas de reproducibilidad. durabilidad y citotoxicidad.

Resultados. Se analizó la reproducibilidad de metodología, evaluando las dimensiones de la matriz: diámetro y altura. Se observó un porcentaje de variación ≤ 3% en los hidrogeles (Figura 1A), no se encontraron diferencias significativas entre replicas. Se evaluó la durabilidad del hidrogel con y sin células a 37 °C v 5% CO2 observándose estabilidad por un periodo mayor 30 días (Figura 1B); Se determinó el porcentaje de captación de aqua, observando la máxima captación las 24 horas (Figura 1C); finalmente se evaluó citotoxicidad mediante la medición de actividad metabólica con resarzurina/ Alamar blue®, obteniendo un promedio del porcentaje de viabilidad celular dentro del hidrogel del 50% a las 96 horas de incubación (Figura 1D).

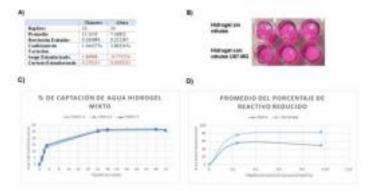


Figura 1. Resultados de evaluación de reproducibilidad (A), durabilidad (B), captación de agua (C) y citotoxicidad (D) de hidrogel mixto.

**Conclusiones.** Se desarrolla una metodología reproducible para la obtención de hidrogeles a base de polímeros naturales, los cuales se observó que presentaron durabilidad estabilidad a través del tiempo. así biocompatibilidad con la línea celular U87-MG, postulándose como un modelo de cultivo 3D apto para desarrollar modelos fisiopatológicos de tumores sólidos como el GBM, con capacidad para su empleo en la evaluación de nuevas moléculas con acción terapéutica.

### Agradecimiento

Este proyecto no tuvo financiamiento para su desarrollo. Se agradece a la beca de posgrados del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

- Chaicharoenaudomrung, N., Kunhorm, P., Promjantuek, W., Heebkaew, N., Rujanapun, N., & Noisa, P. (2019). Fabrication of 3D calcium-alginate scaffolds for human glioblastoma modeling and anticancer drug response evaluation. *Journal of Cellular Physiology*, 234(11), 20085–20097.
- Jensen, C., & Teng, Y. (2020, March 6). Is It Time to Start Transitioning From 2D to 3D Cell Culture? Frontiers in Molecular Biosciences, Vol. 7, p. 33.
- Maeda, H., & Khatami, M. (2018). Analyses of repeated failures in cancer therapy for solid tumors: poor tumor- selective drug delivery, low therapeutic efficacy and unsustainable costs. Clinical and Translational Medicine, 7(1), 1–20.
- Witthayanuwat, S., Pesee, M., Supaadirek, C., Supakalin, N., Thamronganantasakul, K., & Krusun, S. (2018). Survival analysis of Glioblastoma Multiforme. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 19(9), 2613–2617.



## Memorias Área VII



### OPTIMIZACIÓN DE UN PROCESO PARA OBTENER ÁCIDO LÁCTICO A PARTIR DE ALMIDÓN

Denisse Elibeth Ramos Suarez<sup>1</sup>, Norma Angélica Chávez Vela<sup>1</sup>, Gpe. Javier Araiza Arvilla<sup>1</sup>, E. Verónica Moreno Córdova<sup>1</sup>, Universidad Autónoma de Aguascalientes Departamento de Ing. Bioquímica, Aguascalientes CP 20100, elibethr0601@gmail.com.

Palabras clave: Ácido Láctico, Almidón, L. rhamnosus

Introducción. El uso de los polímeros de la petroquímica ha traído muchos beneficios a la humanidad, sin embargo, el ecosistema se daña considerablemente como resultado del uso de materiales no degradables para la fabricación de artículos desechables (Herryman y Blanco, 2005). Uno de los primeros bioplásticos que ayudan con esta problemática es el ácido poliláctico (PLA) que puede ser obtenido por vía biotecnológica este procedimiento está basado en la fermentación de sustratos ricos en carbohidratos por microorganismos que pertenecen familias Streptococcaceae las Lactobacillaceae. (Serna, et al. 2005). Debido a su importancia y a que este se obtiene generalmente por fermentación de lactosa o de glucosa, es deseable obtener el ácido láctico a partir de sustratos baratos y con alto rendimiento como el almidón. En este trabajo se tiene como objetivo optimizar un proceso biotecnológico para obtener ácido láctico a partir de almidón de maíz.

**Metodología.** Para la producción de ácido láctico se probaron tres bacterias lácticas y dos medios de cultivo: medio Man Rogosa y Sharpe (MRS) y un medio mínimo (glucosa 5%, extracto levadura 1%, K2HPO4 0.2%m MgSO4 0.002%, MnSO4 0.002%). La fermentación láctica se realizó en tres días a 37°C una vez terminada la fermentación se precipito el ácido láctico con H2SO4 y se filtró. Se determinó la eficiencia para verificar que el bioproceso se llevara a cabo eficazmente. Se extrajeron azucares con enzimas de soluciones de almidón y estos se midieron por el método de DNS.

**Resultados**. Selección de microorganismo productor de ácido láctico y medio de fermentación. En la Fig. 1 se observa que *L. rhamnosus* fue significativamente la mejor cepa bacteriana para la producción del ácido láctico siendo su máximo de 45.68%.

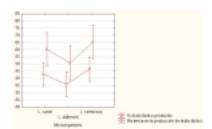
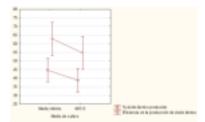


Fig. 1 Gráfica del porcentaje y eficacia de la producción del ácido láctico por las tres cepas bacterianas.

En la Fig. 2 se observa que el mejor medio de fermentación fue el medio mínimo ya que tuvo una diferencia significativa contra el medio MRS.



**Fig. 2** Gráfica del porcentaje y eficacia de la producción de ácido láctico producido en cada medio de fermentación.

Una vez formulado el medio después de la fermentación se obtuvo un rendimiento del 0.46g/g azúcar. El ácido láctico obtenido fue de color blanco, cristalino.



Fig. 3 ácido láctico obtenido de la fermentación de los azucares de almidón.

**Conclusiones**. Ha sido posible obtener ácido láctico a partir de almidón de maíz con un rendimiento de 0.46 gr ácido/gr azúcar por *L. rhamnosus* en el medio mínimo. El medio mínimo utilizado cumple con las características nutrimentales de las bacterias y es de bajo costo. Es recomendable tratar de aumentar el rendimiento, para lo cual se podría usar una fermentación por cultivo continuo.

**Agradecimiento**. A la Universidad Autónoma de Aguascalientes, el laboratorio de Biotecnología.

#### Bibliografía.

- Garcia, C. A., Arrázola, G. S., & Durango, A. M. (2010).
   Producción biotecnológica de ácido láctico biotechnological production of lactic acid. Temas agrarios 15(2)
- Herryman Munilla, M; Blanco Carracedo, G; (2005). Ácido láctico y poliláctico: Situación actual y tendencias. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, XXXIX() 49-59.

Serna-Cock, L. Rodríguez de Stouvenel, A. (2005). Producción biotecnológica de ácido láctico: estado del arte. Cienc. Tecnol. Aliment. Vol. 5 (1) pp 54-65





# OBTENCIÓN DE POLIHIDROXIALCANOATOS A PARTIR DE CONSORCIOS DE CIANOBACTERIAS PROCEDENTES DE AGUAS RESIDUALES

Enrique Romero Frasca, Germán Buitrón, Instituto de Ingeniería, Unidad Académica Juriquilla, UNAM, Querétaro, 76230, gbuitronm@iingen.unam.mx

Palabras clave: Biopolímeros, Microalgas, Polihidroxibutiratos

Introducción. Los plásticos biodegradables se han planteado como una solución para reducir descargas de plásticos sintéticos en rellenos sanitarios y ecosistemas acuáticos (1). Los polihidroxibutiratos (PHB) representan uno de los bioplásticos más importantes por su abundancia en naturaleza, fácil mineralización, renovabilidad y propiedades termomecánicas similares a los plásticos sintéticos la producción de PHB (2).Comúnmente, realiza empleando cultivos axénicos en sustratos refinados ricos en carbono, proceso que llega a representar hasta 50% del costo total de producción (3). En vista de lo anterior, el empleo de consorcios nativos productores de PHB junto con sustratos de crecimiento más económicos y con mayor disponibilidad resulta de gran interés para mejorar la sustentabilidad del proceso disminuir los gastos asociados operación, producción y procesamiento.

El objetivo del presente estudio es determinar los parámetros de operación que promuevan la generación de polihidroxialcanoatos en cultivos mixtos de cianobacterias empleando fotobiorreactores tipo panel plano alimentados con aguas residuales.

**Metodología**. Para el desarrollo del presente trabajo, la fase experimental se divide en tres etapas como se observa en la figura 1.



 $\textbf{Fig. 1}. \ \textbf{Esquema resumen de la metodolog\'{i}a experimental}$ 

La síntesis de PHB se verifica de manera cualitativa e *in situ* mediante tinción con Azul Nilo A durante la propagación (4) mientras que la producción de PHB se cuantifica durante la optimización por medio de cromatografía de gases (5) en biomasa previamente liofilizada y solubilizada en solvente orgánico (metanólisis ácida + cloroformo).

Resultados. Se obtuvieron comunidades granulares cianobacterias (filamentosas У esféricas). bacterias, algas eucarióticas y diatomeas a partir de lodos activados en efluente primario. Luego de 3 días de operación en medio BG-11, las comunidades granulares fueron dominadas por cianobacterias y en menor medida, algas eucarióticas y bacterias heterotróficas. En el día 8, la presencia de cianobacterias en el consorcio nativo superó (>90%) al de otros microorganismos. Los resultados indican que las especies obtenidas son productoras de PHB (Fig. 2). Sin embargo, se requieren estudios complementarios para optimizar la producción de este polímero en efluentes municipales.

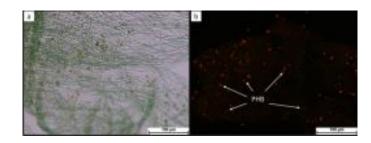


Fig. 2. Observación al microscopio de consorcio nativo de cianobacterias. (a) Imagen en contraste de fases, (b) Imagen tinción con Azul Nilo A.

**Conclusiones.** Las cianobacterias productoras de PHB pueden obtenerse a partir de consorcios mixtos procedentes de lodos activados y dominar los mismos por medio de limitación de nutrientes esenciales como nitrógeno y fósforo.

**Agradecimiento**. Este trabajo es parte del programa SEP CONACYT-ANUIES-ECOS NORD (México 296514/Francia M18A01). E. Romero Frasca agradece el financiamiento otorgado por el Programa de Becas CONACYT-OEA AMEXCID (no. 855766).

- 1. Geyer, R. (2020). Production, use, and fate of synthetic polymers. En: *Plastic Waste and Recycling*. Letcher, T. M. Associated Press, EE.UU., 13-32.
- 2. Zhang, C., Show, P., Ho, S. (2019). *Bioresour. Technol.* 289: 1-6.
- 3. Yadav, B., Pandey, A., Kumar, L. R., Tyagi, R. D. (2020). *Bioresour. Technol.* 298: 1-10.
- 4. Sánchez, A. I., Rojas, U., Meraz, M., Álvarez, J., Salazar, M., Fajardo, C. (2021). J. Water Process. Eng. 40(March): 1-10.
- 5. Rueda, M., García-Galán, M. J., Díez-Montero, R., Vila, J., Grifoll, M., García, J. (2020). *Bioresour. Technol.* 295: 1-10





## CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL DEL MUCÍLAGO DE NOPAL Opuntia ficus indica.

Kenia Itzel Guerrero Téllez, Isadora Martínez Arellano, María Soledad Córdova Aguilar, Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología - UNAM, Ciudad Universitaria, CDMX, 04510.

marisol.cordova@icat.unam.mx

Palabras clave: mucílago de nopal, funcionalidad, vida de anaquel

Introducción. El mucílago de nopal es muy relevante para las industrias alimentaria, química y farmacéutica. Está bien definido como un polisacárido complejo, que contiene diversas proporciones de L-arabinosa, D galactosa, Lramnosa y D-xilosa, así como también ácido D-galacturónico, que es el que le confiere las propiedades como espesante (1). Es un polímero que tiene una alta capacidad de absorción de agua, es soluble en agua, produce soluciones coloidales con alta viscosidad, es formador de geles, agente emulsificante, mejorador de textura, estabilizador de suspensiones así como formador de películas y cubiertas comestibles (2). En este trabajo se propone la caracterización tecnofuncional y estabilidad del mucílago de nopal de desecho obtenido por extracción mecánica para definir si la naturaleza del mucílago cambia con respecto a sus condiciones originales durante su almacenamiento, distribución y/o manipulación.

Metodología. Se adquirió residuos derivados de la práctica de la poda de nopal Opuntia ficus indica de Milpa Alta, CDMX. El mucílago se obtuvo por extracción mecánica (3) y el mucílago seco se obtuvo en un secador por atomización Niro Atomizer (GEA, Alemania). Las partículas secas fueron empacadas al vacío en una máquina de envasado Webomatic (D-44866, Alemania) en bolsas Polietileno/Nylon. El almacenamiento se evaluó en dos condiciones ambientales: 27±2 °C / 45% HR, y en una cámara climática (ICAT, UNAM) a 37±0.1 °C / 56±2 % HR. La estabilidad fisicoquímica de producto se evaluó en los días 1, 30, 45, 60 y 75 días, determinando pH, solubilidad, acidez titulable, actividad de agua (aw), humedad relativa, color, textura, grados Brix, viscosidad, potencial Z, índice de refracción, densidad, análisis por espectroscopia infrarroja en la región de 1200 cm<sup>-1</sup> y 800 cm<sup>-1</sup>. La evaluación microbiológica se hizo por Método de Cuenta en Placa y las metodologías indicadas en la NOM-111, 092 y 113- 1994 correspondiente a hongos y levaduras, mesófilos y coliformes totales.

**Resultados**. En la tabla 1, se observa que en condiciones de almacenamiento aceleradas, la actividad del agua aumenta, pero la humedad disminuye, logrando que el mucílago muestre atributos de textura indeseables como es dureza, sequedad y endurecimiento. El mucílago a temperatura ambiente no presenta cambios.

Muestra	Mucílago Poda		
	27±2°C	27±2°C	37°C
Parámetro	D1	D	30
Aw	0.1602	0.1776	0.2494
	±0.0078	±0.0018	±0.0035
Humedad (%)	3.43	3.15	3.17
	±0.23	±0.35	±0.08
pН	4.37	4.03	4.04
	±0.19	±0.01	±0.01
Acidez (%)	48.620	53.933	55.965
	±0.567	±0.228	±3.818
Índice de refracción	1.349	1.348	1.348
	±0.000	±0.000	±0.000
° Brix	10.6	10.0	10.0
	±0.1	±0.0	±0.0
Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	0.578	0.570	
	±0.050	±0.078	•
Solubilidad (%)	9.907	12.464	8.050
	±0.444	±1.347	±1.739

**Tabla 1.** Caracterización fisicoquímica de las partículas secas de mucílago del día 1 y a los 30 días de almacenamiento

No se observa crecimiento de coliformes totales pero si hay ligero incremento de mesófilos aerobios. El espectro de infrarrojo no presenta cambios considerables en el paso del tiempo en ambas condiciones de almacenamiento.

**Conclusiones**. En condiciones ambientales el mucílago seco presentó mejores características de estabilidad que a condiciones aceleradas, donde se observan cambios antes de los 30 días. La vida de anaquel podrá ser mayor a 45 días en condiciones de 27  $\pm$  2 °C / 45 % HR.

**Agradecimiento**. Financiamiento de proyecto SECTEI 097/2017. Se agradece al Ing. Abel Blancas Cabrera, Unidad de Bioprocesos del Instituto de Investigaciones Biomédicas-UNAM por soporte técnico en la extracción y secado del mucílago.

- Stintzing, F.C., Carle, R. (2005) Molecular nutrition & food research 49, 175-194.
- 2. El-Mostafa K. et al. (2014) Molecules 19(9): 14879- 14901.
- 3. Reyes, I., Córdova, M., Guzmán, G., Blancas, A., Ascanio, G. (2019) Journal of food Processing Engineering. 42 (1):1-9





# OBTENCIÓN DE RECUBRIMIENTOS POROSOS DE HAP POR HVOF PARA APLICACIONES EN ORTOPEDIA

Juan Jamboos, John Henao, Carlos Poblano

Palabras clave: Recubrimiento, Porosidad, Hidroxiapatita, Bioactividad

Introducción. La hidroxiapatita (HAp), de composición química Ca10(PO4)6(OH)2, es el constituyente inorgánico principal de los tejidos óseos en todos los vertebrados <sup>1</sup>. La HAp sintética es un fosfato de calcio con una composición química muy similar a la del hueso humano, lo cual la hace biocompatible con los tejidos vivos. La biocompatibilidad posibilita su uso en variadas aplicaciones médicas <sup>2</sup>. La HAp se utiliza como recubrimiento de implantes metálicos de titanio para permitir su osteointegración al hueso que actúa de soporte como en las prótesis totales de cadera o los tornillos para restauraciones en pacientes edéntulos <sup>3</sup>.

Por otro lado, estudios experimentales han demostrado que el recubrimiento de hidroxiapatita mejora la fijación de implantes articulares inestables no cementados cuando hay espacios entre el hueso y el implante <sup>4</sup>. La HAp aunado a la presencia de porosidad en el recubrimiento facilita aun más superar los problemas de aflojamiento y movimientos que experimentan estos implantes los cuales alcanzan tasas de hasta el 70% <sup>5</sup>.

Metodología. En la fabricación de los recubrimientos se empleó titanio (Ti) como sustrato y dióxido de titanio (TiO2) como bond coat para facilitar el anclaje de la hidroxiapatita (HAp). Estos dos últimos se usaron en polvo de origen comercial, ambos materiales conocidos por su biocompatibilidad y bioactividad. El proceso se realizó por Proyección Térmica de Alta Velocidad por combustión de Oxígeno (HVOF - High Velocity Oxygen Fuel), que permite fundir y proyectar hacia el sustrato las partículas cerámicas de HAp y del polímero (poliester) a partir de la combustión de oxígeno, alcanzando los 2500 °C. El polímero se usó en polvo que se mezcló con la HAp para obtener relaciones diferentes en peso de la mezcla HAp/polímero (70/30, 80/20 y 90/10) y una más que consistió en 100% de HAp. Se realizó el rociado a tres diferentes distancias (160 mm, 200 mm y 260 mm) y luego se hizo con cinco ángulos de proyección diferentes (50º, 60°, 70°, 80° y 90°), buscando generar porosidad en la capa externa de HAp para su posterior caracterización mediante DRX.

**Resultados**. La Difracción por Rayos X (DRX) muestra que la HAp y el poliéster no experimentan cambios de fase en las diferentes distancias de rociado consideradas.

Sin embargo, independientemente de la distancia de rociado, los recubrimientos obtenidos con la mezcla más baja de poliester en la relación HAp/polímero (90/10) resultó ser la que mejor conservó las propiedades de los compuestos junto con la 80/20, mientras que la relación 70/30 presentó signos de degradación del polímero. Por otro lado, los recubrimientos obtenidos a diferentes ángulos solo con HAp muestran desfase en la mayoría de los picos del DRX en el recubrimiento obtenido con el ángulo de 80°, lo que hace suponer que hubo un cambio de fase de la HAp por razones que aun se investiga.

Conclusiones. requiere Se continuar la experimentación para definir el rango angular, de distancia y de temperatura para la optimización y control del proceso que permita generar porosidad de alrededor de las 150 µm e interconectada conservando las propiedades de adherencia, dureza y resistencia a Se espera que la presencia fractura. polímero aunado al ángulo de proyección sean variables más relevantes que la velocidad de rociado, temperatura de la flama o incluso la distancia de proyección, en la búsqueda de porosidad óptima.

**Agradecimiento**. Grupo de investigación de Plásticos y Materiales Avanzados. CIATEQ A.C.

- 1. María Esperanza López, Alejandro Echavarría, Ricardo Suárez, Natalia Herrera (2003). Rev. Fac. de Ingeniería No. 30. pp. 109-124.
- 2. Marta Elena Londoño, Alejandro Echavarría, Francenith De La Calle (2006). Rev. EIA, ISSN 1794 1237 Número 5 p. 109-118.
- 3. Riaño B. Carlos, Echavarría V. Alejandro, Noreña G. Antonio (2016). HA sintética de porosidad inducida Comparación con el hueso calcinado. Revista Facultad de Ingeniería. Universidad de Antioquia.
- 4. Ingemar Onsten, Anders Nordqvist, " Ake S. Carlsson, Jack Besjakov,  $^\circ$  Susan Shott. (1998). J Bone Joint Surg [Br]; 80-B:417-25.
- 5. Beckmann N.A., Bitsch R.G., Gondan M., Schonhoff M., Jaeger S. (2018). Bone Joint Res. 7:282–288





# FABRICACIÓN DE UNA COLUMNA DE FASE ESTACIONARIA MONOLÍTICA PARA CROMATOGRAFÍA DE PROTEÍNAS.

<u>Elizabeth Pérez Rodríguez</u>, Mirna Lorena Sánchez, José Guillermo González Valdez, Marco Arnulfo Mata Gómez Tecnológico de Monterrey, Departamento de Ciencias, Puebla, Puebla 72453,

A01420789@itesm.mx

Palabras clave: cromatografía, intercambio iónico, ácido 4-guanidino butírico

Introducción. La cromatografía adsortiva es un proceso muy utilizado en la industria biotecnológica para recuperación de proteínas. La fase estacionaria juega un papel indispensable en este tipo de técnicas, debido a esto, es necesario el desarrollo de nuevos materiales con el objetivo de mejorar la eficiencia de la purificación de las proteínas. Los monolitos, materiales poliméricos porosos, han adquirido gran interés en el desarrollo de fases estacionarias para cromatografía de proteínas debido a su estabilidad mecánica y química, así como la característica de poseer una mayor tasa de transferencia de masa comparada a resinas de cromatografía tradicionales (1). La modificación química de monolitos con ligandos novedosos es un área que sigue con la finalidad de generar soportes cromatográficos con un mejor desempeño. En ese sentido, se propone la fabricación de un monolito a base de metacrilatos dentro de una columna de polipropileno impresa en 3D y su posterior modificación con ácido yguanidino butírico (Gnd) para generar un adsorbente cromatográfico de intercambio aniónico. Este ligando tiene una estructura resonante de grupos amino cuyo pKa de 12.07 permite que esta molécula se mantenga cargada positivamente en un amplio rango de pH (2). Por lo tanto, esta estrategia permite generar un adsorbente de intercambio aniónico funcional en un amplio rango de pH.

Metodología. La columna cromatográfica (5 mm d.i. x 20 mm altura) se diseñó en AutodeskAutoCAD 2021. La impresión del diseño se llevó a una impresora Ultimaker S5 usando filamento de polipropileno reforzado con 30% fibra de vidrio (BASF Black Ultrafuse, PPGF 30). Los monolitos fueron fabricados dentro de la columna usando glicidil dimetacrilato co polimerizado con dimetacrilato de etilenglicol (GMA-co EDMA). La pared de la columna de PPGF 30 fue silanizada y después modificada con 3-(trimetoxisilil) propil metacrilato (v-MAPS) Posteriormente, el y MAPS de la pared de la columna se coopolimerizo con GMA y EDMA (GMA-co-EDMA) (4). Para la incorporación del ligando Gnd, primero se hizo recircular una solución de etilendiamina (EDA, 50% v/v) a 60 °C por 12 h a través de la columna usando microbombas de jeringa (20uL/min), seguido de recirculación de una solución de 1-etil-3-(3dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) 0.1M conteniendo Gnd (10mg/mL) a temperatura ambiente. Se evaluó el desempeño del monolito modificado con guanidino (M-Gnd) para adsorber proteína. Para esto, se hizo pasar una solución de BSA (2.5 mg/mL) a través de la columna

monolítica modificada con GnD y la no modificada (GMA-co-EDMA), previamente equilibradas con buffer Tris pH 8.5, 10 mM, a un flujo de 250 uL/min. La desorción se realizó con NaCl 1M y se determinó el porcentaje de retención de proteína.

#### Resultados.



Fig.1 (A) Modelo CAD de la columna (5mm ID x 20 mm largo). (B) Columna impresa en polipropileno reforzado con fibra de vidrio (PPGF 30). (C) Vista transversal de la columna impresa en PPGF 30, flecha roja señala monolito polimerizado en el canal.

**Tabla 1.** Porcentaje de retención de BSA en el monolito modificado (M Gnd) y no modificado (GMA-co-EDMA).

Fase estacionaria	Proteína adsorbida	Porcentaje de retención
GMA-co-EDMA	0.37 mg	7.4%
M-Gnd	1.57 mg	34%

Conclusiones. Se logró sintetizar y modificar un monolito funcional de GMA-co-EDMA con el ligando ácido 4-guanidino butírico en columnas de polipropileno impresas en 3D (Fig. 1) con el objetivo de obtener una fase estacionaria de intercambio aniónico para la separación de proteínas. El monolito fabricado M-Gnd mostró una capacidad de adsorción de proteína BSA de 34%, mientras que el monolito no modificado retuvo poca cantidad de proteína, 7%, Tabla 1. Por lo tanto, la adsorción se debe a la presencia del ligando GnD. La columnas será caracterizada químicamente y se evaluará su desempeño cromatográfico a detalle.

**Agradecimiento**. Los autores agradecen el financiamiento de CONACyT (beca No. 1048547) y del GIEE en Bioprocesos del Tecnológico de Monterrey.

- Lynch, K. B., Ren, J., Beckner, M. A., He, C., & Liu, S.(2018). Anal. Chim. Acta, 1046: 48-68
- David, C. (2019). Chemical synthesis of an anion exchange adsorbent using γguanidinobutyric acid as a ligand for the separation of proteins. Tesis de maestría en Ciencias en Biotecnología. Tecnológico de Monterrey, Monterrey.
- Abdulhussain, N., nawada, S., Currivan, S., Passamonti, M., & Schoenmakers, P. (2020). J. Chromatogr A, 1623 (461159)
- 4. Lin, L., Chen, H., Wei, H., Wang, F., Lin, J.-M. (2011). Analyst 136(20):4260-4267



## Memorias Área VII



# EVALUACIÓN DEL PROCESO DE ELECTROHILADO EN LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE MEMBRANAS ELABORADAS DE BIOPOLÍMEROS Y COMPONENTES VEGETALES

Karla Katiushka Solís Arévalo, Carlos Solís Rojas, María del Socorro Flores González, <u>Katiushka Arévalo Niño</u>, Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Ave. Pedro de Alba S/N, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

katiushka.arevalonn@uanl.edu.mx

Palabras clave: nanofibras, Hamamelis virginiana, Salvia hispanica.

Introducción. Entre los principales microorganismos causantes de infecciones asociadas a la atención de la salud (1) se encuentran: Staphylococcus aureus (13 %), Pseudomonas spp. (13 %) y Candida spp. (5 %) (2). El electrohilado permite obtener fibras a escala micrométrica o nanométrica con mayor superficie de contacto y poros que permite adicionar agentes biológicos en su estructura. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antimicrobiana de membranas electrohiladas a base de polímeros como: a) schizophyllan y b) acetato de celulosa incorporadas con Hamamelis virginiana (Hv) y aceite de Salvia hispanica L. (ASH), respectivamente, contra Staphylococcus aureus, Candida albicans y Pseudomonas aeruginosa.

Metodología. Se elaboraron membranas electrohiladas a partir de una mezcla de alcohol polivinílico al 8% con una concentración final de 3% de schizophyllan y concentración mínima inhibitoria previamente determinada de Hv (membranas Hv). Las condiciones para generar nanofibras con características homogéneas fueron 20 cm de distancia de aguja-colector. 20 kV y 0.3 mL/h de flujo de solución. De igual manera, se elaboraron membranas electrohiladas a partir de una mezcla de acetato de celulosa (AC) 15% p/v en acetona y tres veces la CMI del ASH (membrana ASH) para evitar la pérdida de actividad observada en el experimento anterior. Los parámetros de electrohilado establecidos fueron 15 cm de distancia de aguja-colector, 13 kV y 1 mL/h de flujo de solución para obtener nanofibras homogéneas como se observa en la Figura 1.

Resultados. Para las membranas Hv, se observó pérdida de actividad antimicrobiana por las condiciones de electrohilado de alto voltaje utilizado (20 kV) (3). En el caso de las membranas ASH, se observó pérdida de actividad antimicrobiana contra los tres microorganismos en cuestión. Sin embargo, ambas soluciones sin previo procesamiento por electrohilado mostraron una inhibición de crecimiento de los microorganismos similar, como se observa en la Tabla 1.

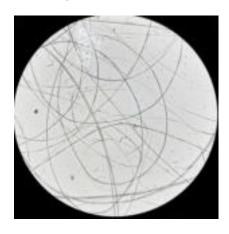


Fig. 1. Morfología de las nanofibras homogéneas obtenidas

Solución	S. aureu s	P. aeruginos a	C. albica ns
Solución control	16 ± 3	24 ± 5	16 ± 2
Solución ASH	16 ± 3	23 ± 5	10 ± 1
Control positivo (amikacina / fluconazol)	11 ± 1	7 ± 0	0

Tabla 1. Halos de inhibición en mm

Conclusiones. Con base a estos resultados, se considera que una variante del electrohilado como puede ser el electrohilado tipo coaxial puede ser una alternativa para evitar la pérdida de actividad en componentes cuya composición puede verse afectada por los parámetros de procesamiento del electrohilado de aguja simple.

- 1. Rincón León, H. A., Navarro Fuentes, K. R. (2016). Rev Med del Inst Mex del Seg Soc. 54(1): 32-41.
- 2. Arias Flores, R., Rosado Quiab, U., Vargas Valerio, A., Grajales Muñiz, C. (2016). Rev Med del Inst Mex del Seg Soc. 54(1): 20-24.
- 3. DeSimone, E., Aigner, T. B., Humenik, M., Lang, G., Scheibel, T. (2020). *Mat Sci and Enqi C*. 106: 110- 145



## Memorias Área VII



# DETERMINACIÓN DE LA FUNCIÓN DE DOS NUEVAS PROTEÍNAS PHASIANAS EN LA PRODUCCIÓN DE PLÁSTICOS BIODEGRADABLES EN Azotobacter vinelandii

<u>Jessica Ruiz Escobedo</u>, Josefina Guzmán, Soledad Moreno, Alma Reyes González, Guadalupe Espín, Daniel Segura. Instituto de Biotecnología / UNAM, Av. Universidad # 2001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, C.P. 62210. Tel. 52 (777) 329 1629.

daniel@ibt.unam.mx.

Palabras clave: phasinas, polihidroxibutirato, metabolismo

Introducción. El polihidroxibutirato (PHB) es un poliéster natural sintetizado por Azotobacter vinelandii, como reserva de carbono y energía. Industrialmente se utiliza como plástico biodegradable (1). El PHB se acumula intracelularmente en la bacteria como gránulos de polímero cuando hay abundancia de la fuente de carbono, pero se degrada cuando se agota la fuente de carbono. Los gránulos de PHB se encuentran rodeados por proteínas involucradas en el metabolismo de PHB, ya sea en su síntesis o en su degradación (2). Existen otras proteínas asociadas con los gránulos PHB, denominadas phasinas, que constituyen el componente proteico mayoritario de los gránulos, aunque no tienen actividad catalítica en el metabolismo de PHB (3). Sin embargo, algunas phasinas pueden actuar modulando las enzimas de síntesis o degradación de PHB. Para las phasinas minoritarias no se ha determinado cuál es su función.

Este trabajo se centra en determinar la función de las proteínas PhbP2 y PhbP3 en el metabolismo de PHB de *Azotobacter vinelandii*.

**Metodología**. Se realizaron cinéticas de acumulación de PHB con las cepas mutantes, complementadas y sobreexpresantes de los genes *phbP2* y *phbP3*, comparándolas con la cepa silvestre OP. Se analizó la morfología de los gránulos de PHB de las cepas mutantes, comparándolas con la cepa silvestre OP en el microscopio de contraste de fases.

**Resultados**. Para determinar el efecto de la interrupción de los genes *phbP2* y *phbP3* sobre la morfología del gránulo de PHB de *A. vinelandii*, se observaron al microscopio de contraste de fases, células en medio líquido PY sacarosa 2%. A las 48 h se observaron diferencias en la morfología de los gránulos de PHB de la cepa silvestre OP comparada con las cepas mutantes OP-PhbP2 y OP-PhbP3.

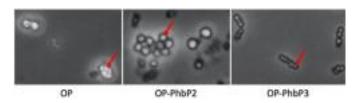


Fig 1. Microscopía de contraste de fases de células de la cepa silvestre OP y las cepas mutantes OP-PhbP2 y OP-PhbP3. Las flechas rojas señalan a los gránulos de PHB.

Con el objetivo de determinar los efectos de la interrupción, complementación y sobreexpresión de los genes *phbP2* y *phbP3* sobre el crecimiento y acumulación de PHB en *A. vinelandii* OP, se realizaron cinéticas de crecimiento en condiciones de limitación de fuente de carbono. El PHB acumulado en la cepa OP PhbP2 fue mayor en comparación al acumulado en la cepa OP a las 48 y 72 h (p< 0.05). Estos resultados concordarían con una degradación de PHB disminuida por una baja actividad de la(s) PHB depolimerasa(s), dada por la ausencia del gen *phbP2*.

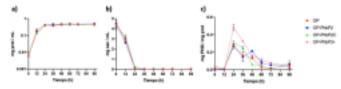


Fig 2. Curva de crecimiento (a), consumo de sacarosa (b) y acumulación de PHB (c) de las cepas OP, OP-PhbP2, OP-PhbP2C y OP-PhbP2+.

El PHB acumulado en la cepa OP-PhbP3 a las 48 h (p< 0.05) fue menor al PHB acumulado en la cepa OP, lo que concordaría con una síntesis de PHB disminuida por una baja actividad de la PHB sintasa, dada por la ausencia del gen *phbP3*. Estos resultados coinciden con los obtenidos al sobreexpresar la PhbP3 en *E. coli*.

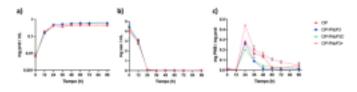


Fig 3. Curva de crecimiento (a), consumo de sacarosa (b) y acumulación de PHB (c) de las cepas OP, OP-PhbP3, OP-PhbP3C y OP-PhbP3+.

**Conclusiones**. Las phasinas PhbP2 y PhbP3 están involucradas en el metabolismo de PHB de *A. vinelandii*.

**Agradecimiento**. Trabajo apoyado por el proyecto CONACyT 255158 y UNAM-PAPIIT IG200219. **Bibliografía**.

- 1. González, Y., Meza, J. C., González, O., & Córdoba, J. A. (2013). *Rev. Int. Contam. Ambient.* 29(1), 77–115.
- 2. Galán, B., Dinjaski, N., Maestro, B., de Eugenio, L. I., Escapa, I. F., Sanz, J. M., García, J. L., & Prieto, M. A. (2011). *Mol. Microbiol.* 79(2), 402–418.
- 3. Wieczorek, R., Pries, A., Steinbüchel, A., & Mayer, F. (1995). J. Bacteriol. 177(9), 2425–2435



## Memorias Área VII



### DEL ALMIDÓN MODIFICADO AL ALMIDÓN NATIVO: POSIBILIDAD DE USO POR VÍA NASAL

Nathaly Vasquez-Martínez<sup>1</sup>, Pedro Medina-Granados<sup>2</sup>, Daniel Alejandro Guillen-Santos<sup>3</sup>, Roció Casañas-Pimentel<sup>4</sup>, Romina Rodríguez-Sanoja<sup>5</sup>. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Investigaciones Biomédicas<sup>12,3,5</sup>. Ciudad de México. AP70228. Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada<sup>4</sup>. Ciudad de México. CP11500.

romina@iibiomedicas.unam.mx

Palabras clave: almidón nativo, mucosa, mucoadhesión

Introducción. ΕI almidón modificado fisicoquímicamente (AM) ha sido ampliamente utilizado en la industria farmacéutica y como adyuvante en la vacunación; sin embargo, se ha evitado el uso del almidón es su forma nativa. Previamente demostramos el potencial como adyuvante de vacunas del almidón nativo (AN) luego de la administración vía mucosa (1-2), así como el potencial inmunoestimulante como refuerzo a la vacunación con BCG (3). El objetivo de este trabajo fue evaluar el tiempo de retención del AN en los tejidos mucosos y su alcance a sitios inductores de la respuesta inmune mucosa luego de la administración nasal, así como la adhesión in vitro a la mucina, como paso inicial en su caracterización

Metodología. Se realizó la caracterización del AN utilizando el Zetasizer Nano ZS. Se administró AN teñido con FITC (AN-FITC) mediante goteo por vía nasal a ratones hembra Balb/c de 10-14 semanas. Se evaluó el tiempo de retención del AN en cavidad nasal junto con la presencia/ausencia en tejido linfoide asociado a nariz (NALT). La visualización se hizo mediante CLSM y sistema de imágenes in vivo IVIS Lumina XR III. Se determinó la adhesión in vitro del AN a la mucina porcina gástrica (PGM) y a la mucina submaxilar bovina (BSM) por fluorimetría.

**Resultados**. Tras la administración nasal de una dosis única de AN-FITC (2.5  $\mu$ m, índice de polidispersión: 1.0, potencial- $\zeta$ : -13.8), se observó la retención del almidón hasta por 8 horas en la cavidad nasal de los ratones (Fig. 1A).

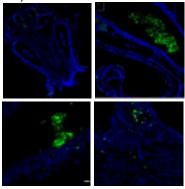
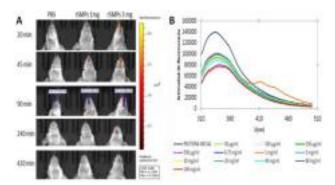


Fig. 1. Localización del AN en la cavidad nasal de ratones Balb/c. Imágenes de microscopía confocal de barrido laser (CLSM) de A. Cavidad nasal; B. Retención de AN en la luz de la cavidad nasal a las 8 horas; C. Traslocación del AN desde la luz, a través del epitelio; D. Alcance del AN al NALT.

El AN se localizó predominantemente en la luz del pasaje nasal (Fig. 1B) y sobre el epitelio mucoso de los cornetes nasales (Fig. 1C). El AN se translocó desde la luz de la cavidad nasal a través del epitelio de mucosa (Fig. 1C). El AN se depositó en el NALT entre 2 y 4 horas pos administración. La retención del AN en cavidad nasal a lo largo del tiempo fue confirmada en los experimentos *in vivo* (Fig. 2 A-B).

Se observó una disminución gradual de la intensidad de fluorescencia de la BSM no unida tras la adición de concentraciones crecientes de AN en el ensayo de adsorción (Fig 3). El porcentaje de unión con la BSM fue de 16.6-47.8 % a pH 5.8 y 12.3-35 % a pH 6.8.



**Fig. 2.** A. Imágenes de fluorescencia *in vivo* de ratones Balb/c luego de la administración nasal de 1 y 3 mg de AN. B. Espectro de fluorescencia de BSM tras la adsorción de concentraciones crecientes de AN

Conclusiones. El almidón nativo se retiene en cavidad nasal y alcanza el principal sitio inductor de respuesta inmune de mucosa en roedores, gracias a sus propiedades de mucoadhesión. Se proporciona nueva evidencia de la posibilidad de usar el almidón nativo en desarrollos biotecnológicos biomédica y farmacológica

**Agradecimiento**. Nathaly Vasquez Martínez es parte del programa de Maestría y Doctorado en Ciencías Bioquímicas y tiene apoyo de una beca personal del Conacyt. El proyecto fue financiado por DGAPA-UNAM.

- 1. S, Rodríguez-Sanoja R (2014). Carbohydr. Polym. 112: 210-215.
- 2. Moreno-Mendieta S, Guillén D, Espitia C, Hernández-Pando R, Sánchez S, Rodríguez-Sanoja R (2014). *Int. J. Pharm.* 474(1-2): 241-248
- 3. Moreno-Mendieta S, Barrios-Payán J, Mata-Espinosa D, Sánchez S, Hernández-Pando R, Rodríguez-Sanoja R (2017). *Vaccine*. 35(38): 5123-5130.



## Memorias Área VII



# ANALISIS DE LA REGULACIÓN DE LA POLIMERIZACIÓN DE BIOPLÁSTICO POLIHIDROXIBUTIRATO (PHB) POR LAS PROTEÍNAS PhbF y Avin\_33510 en *Azotobacter vinelandii*.

<u>Thalía Barrientos Millán</u>, Libertad Adaya, Holjes Salgado, Josefina Guzmán, Soledad Moreno, Carlos Peña, Guadalupe Espín, Daniel Segura González, Universidad Nacional Autónoma de México (Instituto de Biotecnología), Cuernavaca, Morelos 62210. thalia.barrientos@ibt.unam.mx.

Palabras clave: polihidroxibutirado, depolimerasas, regulación

Introducción. Los polihidroxialcanos (PHA) son poliésteres producidos por bacterias como reserva de energía, carbono y poder reductor, y son acumulados en gránulos intracelulares insolubles. Además, se utiliza para fabricar plástico biodegradable. A. vinelandii es una bacteria capaz de producir un PHA llamado polihidroxibutirato (PHB) y aunque se conocen algunos reguladores de genes biosintéticos de PHB, apenas se han descrito dos posibles reguladores de genes de PHB depolimerasas, involucradas en degradación, PhbF y Avin\_33510.

El objetivo de este trabajo es caracterizar el papel de estos reguladores recién descritos sobre el proceso de degradación de PHB (movilización).

**Metodología.** La participación de ambos reguladores, PhbF y Avin\_33510, en el control de la movilización fue demostrado por análisis fenotípicos en las cepas silvestres UW136 y OP, y en las mutantes UW136phbF y OP33510, crecidas en medio mínimo Burk-Glucosa 30 mM (BG) y PY-Sacarosa 2% (PYS). El análisis de la expresión de los genes phbZ1 y phbZ3 se realizó mediante RT-qPCR, y fusiones transcripcionales con el promotor de los genes anteriores y el gen reportero qusA.

Resultados. Al realizar una cinética de producción de PHB en medio BG, se observó una disminución en la acumulación de PHB en la mutante UW136phbF con respecto a la cepa silvestre UW136 (Figura 1A), lo que corresponde con el aumento en la expresión de la PHB depolimerasa phbZ1 (Figura 1B).

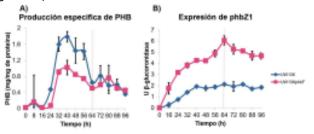


Fig. 1. Cinética de producción específica de PHB (A) y de expresión de la fusión phbZ1-gusA (B) en las cepas UW136 y UW136phbF crecidas en medio BG.

Al analizar la producción de PHB en las cepas OP y OP33510 no se observaron diferencias en la acumulación de PHB entre ambas cepas al crecerlas en medio BG (Figura 2A), pero sí al crecerlas en medio PYS (Figura 2B)

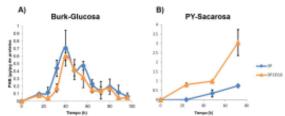
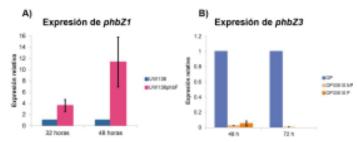


Fig. 2. Cinética de producción específica de PHB en medio BG (A) y en medio PYS (B) de las cepas OP y OP33510.

El análisis los transcritos de phbZ1 (Figura 3A) y phbZ3 (Figura 3B) mostró un aumento y una disminución, respectivamente, al mutar el regulador correspondiente.



**Fig. 3.** Expresión relativa de phbZ1 (A) y phbZ3 (B) en la cepa silvestre UW136 y OP, y en las mutantes UW136phbF y OP33510, respectivamente.

Conclusiones. En la mutante UW136phbF la disminución en la cantidad de PHB acumulado y el aumento en la expresión de phbZ1 indican que PhbF es un regulador negativo de la expresión de esa depolimerasa. Por otra parte, Avin\_33510 parece ser un regulador positivo del gen de la PHB depolimerasa phbZ3, ya que la cantidad de PHB incrementa y los transcritos de phbZ3 disminuyen en la mutante OP33510 con respecto a la cepa silvestre OP. Además, parece que PhbZ1 y PhbZ3 actúan cada una en distinta condición.

**Agradecimiento**. Proyectos CONACyT 255158 y PAPIIT-UNAM IG200219.

- 1. Pötter, M. & Streinbüchel, A. (2005) Poly(3-hydroxybutirate) granule associated proteins: Impacts on poly(3-hydroxybutyrate) synthesis and degradation. Biomacromolecules (6): 552-560.
- 2. Yen, Y. B., Wu, Q. & Zhang, R. Q. (2000) Dynamic accumulation and degradation of poly(3-hydroxyalkanoate) in living cells of Azotobacter vinelandii UWD characterized by 13C NMR. FEMS Microbiology Letters (193): 269-273.
- 3. Adaya, L., Millán, M., Peña, C., Jendrossek, D., Espín, G., Tinoco Valencia, R., Guzmán, J., Pfeiffer, D. & Segura, D. (2018) Inactivation of an intracelular poly-3-hydroxybutyrate depolymerase of Azotobacter vinelandii allows to obtain a polymer of uniform high molecular mass. Applied Microbiology and Biotechnology (102): 2693-2707



## Memorias Área VII



### CARACTERIZACIÓN DE ALMIDÓN RECUPERADO DE PAPA DE RESIDUO INDUSTRIAL

<u>Diana G. Montoya-Anaya</u><sup>1</sup>, Claudia Grijalva-Verdugo<sup>1</sup>, César L. Aguirre-Mancilla<sup>1</sup>, J. Tomás Madera-Santana<sup>2</sup>, J. Rubén Rodríguez-Núñez<sup>3</sup>

División de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México/IT de Roque, Celaya, Guanajuato, 38110, México, <sup>2</sup> Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo, C.A. CTAOV, AP 1735, Hermosillo, Sonora, 83304, México, <sup>3</sup> Programa de Biotecnología, Universidad de Guanajuato. Mutualismo #303, Colonia La Suiza, Celaya, Guanajuato, C.P. 38060, México dianamontoya1504@gmail.com

Palabras clave: FTIR, SEM, EDS

Introducción. La papa (Solanum tuberosum) es un alimento de importancia mundial, con una producción de 370 millones de toneladas en 2019 (1), el 29% se destina a la industria y genera de 100-120 kg/t de residuos, que no son aprovechados adecuadamente (2). El almidón recuperado de estos residuos se utiliza ampliamente en sectores industriales, como empaques biodegradables, alimentos y textiles (3).

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar almidón de papa residual, mediante pruebas instrumentales para su posible aplicación en empaques biodegradables.

Metodología. Se extrajo almidón de papa de variedad Fiana procedente de una empresa procesadora de papa, mediante el método de decantación (4), los grupos funcionales del almidón obtenido fueron identificados mediante Espectroscopia FTIR, mientras que el tamaño de partícula y composición fueron determinadas mediante Micrografía electrónica de barrido (SEM) y Análisis Elemental (EDS) (5).

**Resultados**. Los rendimientos del almidón de papa fueron de  $4.14\% \pm 0.92$ , mientras que la figura 1 muestra los espectros FTIR del almidón, atribuidos a los diferentes grupos funcionales que forman parte de su estructura.

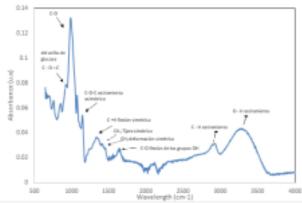


Fig. 1. Espectro FTIR de almidón de papa.

La figura 2 muestra los gránulos de almidón de papa de forma oval con superficie lisa, se observaron algunos conglomerados y en cuanto a tamaño, estos oscilaron entre 14-69 µm. La microscopía electrónica de barrido con detector de energía dispersiva (EDS) muestra la composición elemental del almidón (tabla 1).

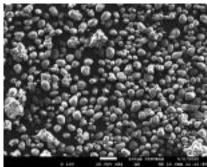


Fig.2. Microscopía electrónica de almidón de papa.

Tabla 1. Composición elemental del almidón de papa

Elemento	Peso%	Atómi co %
СК	47.11	54.39
ОК	52.46	45.46
кк	0.43	0.15
Total	100.00	

**Conclusiones**. Los rendimientos pueden mejorar adecuando el proceso de extracción. Se caracterizó el almidón de papa residual, comprobado la composición del almidón y el potencial de productos de bajo valor agregado, lo cual es de suma importancia para decidir las posibles aplicaciones del almidón.

**Agradecimiento**. El equipo de trabajo agradece al Laboratorio Nacional de Nano y Biomateriales (LANNBIO), Mérida, Yucatán, por el apoyo brindado para el uso del equipo instrumental.

- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistics Division. https://www.fao.org/faostat/es/#data/ QC (2020). Acceso 02/11/2020.
- 2. Mejía Méndez, G., y Castellanos Suárez, J. A. (2018). RMCA 9(8): 1661
- Maniglia, B. C., Castanha, N., Le-Bail, P., Le-Bail, A., and Augusto, P. E.(2020. CRFSN: 1-24.
- Vargas, G., Martínez, P., y Velezmoro, C.. (2016). SA, 7(spe), 223-230.
- Acosta-Ferreira, S., Castillo, OS, Madera-Santana, JT, Mendoza García, DA, Núñez-Colín, CA, Grijalva-Verdugo, C., y Rodríguez Núñez, JR (2020). IB, 28, e00554





### MATERIALES BIOHÍBRIDOS: NANOVESÍCULAS DE LÍPIDOS, PROTEÍNAS Y POLÍMEROS

R. Pérez-Isidoro<sup>a</sup>, F.J. Guevara-Pantoja<sup>b</sup>, C. Ventura-Hunter<sup>a,c</sup>, C. Guerrero-Sánchez<sup>c</sup>, E. Saldívar-Guerra<sup>a</sup>

aCentro de Investigación en Química Aplicada, Blvd. Enrique Reyna 140, Saltillo, Coahuila 25294, México. bCINVESTAVMonterrey. Jena Center for Soft Matter, Friedrich-Schiller-University.

perezisidoror@gmail.com

Palabras clave: liposomas, copolímeros, microgotas

Introducción. En los últimos años se han propuesto sistemas innovadores para la liberación controlada de fármacos. Estos son elaborados a partir de materiales que incluyen lípidos, proteínas o polímeros (1). Tales compuestos tienen un gran potencial en esta área (1). Sin embargo, el estudio de las propiedades de dichos materiales de manera conjunta aprovechando el potencial de cada uno, es un área en desarrollo (2). En este trabajo, se presenta: 1) una metodología para ensamblar películas biohíbridas compuestas de dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), lisozima (LYZ), v copolímeros anfifílicos de acrilato de etilenglicolmetileter (PEGA), acrilato de butilo (BuA) y acrilato de dodecilo (LA); 2) la formación de nanovesículas biohíbridas; y 3) una caracterización fisicoquímica de tales sistemas. Estos nanobiohíbridos podrían tener un gran potencial para ser usado en nanofarmacología.

Metodología. Copolímeros de PEGA-BuA y PEGA-LA con carácter anfifílico fueron sintetizados por adición, fragmentación y transferencia reversible de cadena (RAFT). Películas biohíbridas de DMPC, lisozima, y copolímeros fueron ensamblados sin el uso de solventes orgánicos, por medio de un proceso de evaporación de microgotas sobre una superficie hidrófoba. A partir de películas biohíbridas se formaron liposomas unilamelares de 100 nm por medio de extrusión mecánica. Los sistemas biohíbridos fueron utilizando caracterizados microscopía óptica, calorimetría diferencial de barrido (DSC) y dispersión dinámica de luz (DLS).



Fig. 1. Micrografía de una película de DMPC/LYZ/PEGA<sub>9</sub>LA22 formada por por el secado de microgotas sobre una superficie de polipropileno. Perfil de densidad radial del patrón obtenido por la gota evaporada

**Resultados. 1)** Por medio de una metodología libre de solventes orgánicos se logró el ensamble de sistemas biohíbridos compuestos por DMPC, lisozima y copolímeros de PEGA-BuA y PEGA-LA.

- **2)** Los sistemas que contienen BuA tienden a desestabilizar a la membrana aumentando el índice de polidispersidad.
- **3)** La transición de fase gel-fluido de DMPC es desplazada hacia temperaturas más altas cuando parte de lisozima se incorpora en la membrana.

Este efecto es potenciado por la presencia de los

copolímeros y aumenta a mayor número de unidades de BuA o LA.

4) La temperatura de transición correspondiente a la desnaturalización de la lisozima no se ve modificada, sin embargo, el cambio en la entalpía de ésta si disminuye, indicando que parte de la proteína se adsorbe en la membrana.

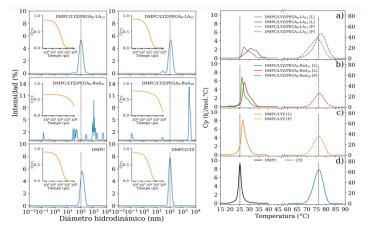


Fig. 2. Tamaño de vesículas de DMPC/LYZ/Copolímeros y función de correlación obtenidos por dispersión dinámica de luz (DLS)

Fig. 3. DSC de vesículas biohíbridas. Transiciones de fases gel-fluido para lípidos (T>50 °C) y desnaturalización de la proteína (T<50 °C)

Conclusiones. El diseño y caracterización de nuevos materiales biohíbridos es un área de vital importancia en nanofarmacología. En este trabajo presentamos que la dinámica de flujos en un proceso de evaporación de microgotas permite ensamblar biomateriales híbridos. La caracterización de dichos sistemas por medio de DSC y DLS reflejan que tanto la lisozima como los copolímeros de PEGA-BuA y PEGA-LA interaccionan con las membranas lipídicas aumentando la cohesión de esta misma y favoreciendo la formación de dominios. El sistema DMPC/LYZ/PEGA-LA, es más estable que DMPC/LYZ/PEGA-BuA, por lo que es un potencial candidato como sistema de acarreo de fármacos.

**Agradecimiento.** RPI agradece al Programa de Estancias Posdoctorales-CONACYT 2020 por el soporte para el desarrollo de este trabajo.

- (1) Krywko-Cendrowska A., Di-Leone S., Bina M., Yorulmaz-Avsar S., Palivan C.G., Meier W. (2020). Polymers. 12(5), 1003.
- (2) Meyer C.E. Abram S.L., Craciun I., Palivan C.G. (2020). Phys.Chem.Chem.Phys. (22) 11197-11218



## Memorias Área VII



# BIOSÍNTESIS DE POLIHIDROXIALCANOATOS UTILIZANDO GLICEROL CRUDO COMO FUENTE DE CARBONO Y PSEUDOMONAS

<u>Valeria Ramírez</u><sup>1</sup>, Liliana Cruz, Alejandra. Álvarez, Juan de Dios. Galindo y Vanessa Vallejo. Facultad de Ingeniería, División de Investigación y Posgrado, Universidad Autónoma de Querétaro, Centro Universitario Cerro de las Campanas, Querétaro, Qro., C.P. 76010, México.

<sup>1</sup> valeriamonserratrq@gmail.com

Palabras clave: Polihidroxialcanoatos, Pseudomona, Glicerol Crudo

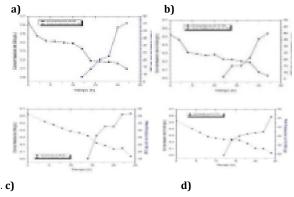
Introducción. La producción mundial de resina y fibra aumentó de 2 millones de toneladas en 1950 a 380 millones de toneladas en 2015 [1], [2]. Además de la crisis de los combustibles fósiles, la investigación y el desarrollo de sustitutos químicos/materiales alternativos es fundamental para reducir la dependencia de los recursos humanos fósiles, así como de los polímeros. Uno de los posibles candidatos como sustitutos polihidroxialcanoatos (PHA). biodiésel genera aproximadamente un 10% (p/p) de glicerol como principal subproducto. El exceso de glicerol generado puede convertirse así en un problema medioambiental, de esta forma, una de las aplicaciones potenciales es su uso como fuente de carbono y energía para el crecimiento microbiano [4], además de que se afirma que es una alternativa económica y ambientalmente atractiva [5]. En este estudio utilizando Pseudomona putida y Pseudomona Aeruginosa, la síntesis de PHA se llevó a cabo a partir de glicerol de grado reactivo y glicerol crudo obtenido de la síntesis de biodiesel. Este estudio demuestra que la producción de PHA a partir de glicerol crudo tiene un nivel similar de acumulación obtenido del grado de reactivo de glicerol en ambas cepas.

#### Metodología.

Inoculación, incubación, extracción y purificación de PHA se realizó como se describió anteriormente en la literatura [6], [7].

#### Resultados.

- a) Curvas de crecimiento de P. aeruginosa y P. putida A partir de las curvas de crecimiento para la cepa P. putida y aeruginosa, se observó que la fase exponencial aparece en ambos casos cerca de las 10 horas transcurridas. El crecimiento de células en glicerol crudo fue el más rápido en las primeras 12 h.
- b) Evaluación de la producción de PHA en las diferentes cepas de P. aeruginosa y P. putida En la figura 1 se muestra el consumo de Gli y Cr-Gli y la producción de PHA durante 24 horas, donde la producción máxima de PHA comienza alrededor de la hora 18 en ambas cepas, metabolito secundario.
- c) Análisis termogravimétrico. A partir del Análisis Termogravimétrico y el Análisis Térmico Diferencial, los resultados obtenidos del análisis de las curvas se compilan en la Tabla 1.



**Fig. 1** Tasa de consumo del sustrato en negro, glicerol (fig. a y c), glicerol crudo (fig. b y d) y la producción de biopolímero en azul de las cepas *P. aeruginosa* (fig. 3 a y b) y *P. putida* (fig. 3 c y d).

Tabla 1. Datos TGA / DTG correspondientes a PHA-Cr-Gli y PHA-Gli

Característi ca	Ton, ℃	T10%, ℃	Tmax, °C	rPHA600 %,℃
Muestra				
PHA-Cr-Gli	201.22	219.70	285.06	28.16
PHA-Gli	204.05	224.05	292.23	28.4

- d) Calorimetría diferencial de barrido. A partir de las curvas de calentamiento de PHA a partir de glicerol crudo (PHA-Cr-Gli) y de glicerol puro (PHA-Gli). La muestra de PHA Gli presenta su temperatura de transición vítrea (Tg) a 67.13 °C, mientras que la muestra de PHA-Cr-Gli tiene dos Tg diferentes, a 57.33 °C y 159.78 °C, por lo que la PHA-Cr-Gli exhibe una mayor flexibilidad a temperatura ambiente.
- e) Difracción de Rayos X. El espectro XRD del PHA-Gli se muestra en la figura 6 exhibió bandas anchas alrededor de 2θ = 20.10°, 30.24° y 39.91°, probablemente por la contribución tanto del pico cristalino del mcl-PHA La señal cerca de 20,10°, así como la joroba a 30,26°, se pueden atribuir al patrón XRD del poli (3-hidroxibutirato) (P(3HB)) [8].

Conclusiones. Se sintetizaron con éxito PHA a partir de glicerol crudo y de glicerol de grado reactivo por *P. aeruginosa*,así como con *P. putida*. La producción de PHA es un metabolito secundario para ambas cepas bacterianas. La estabilidad térmica y la temperatura máxima de degradación obtenidas deambas muestras fueron muy similares, por lo que PHA-Cr-Gli al tener propiedades físicas similares al PHA-Gli nos brinda la posibilidad de implementar la producción a partir de una fuentemás sustentable y mantener las aplicaciones ya conocidas del PHA reduciendo el costo del sustrato, de la misma manera incrementando la rentabilidad del proceso.

- [1] E. PlasticsEurope, Plastics Europe. Brussels Belgium, 2016.
- [2] E. PlasticsEurope and E. EPRO, Plastics Europe Belgium, 2008.
- [3] G. Y. A. Tan et al., Polymers (Basel)., vol. 6, no. 3, pp. 706–754, 2014, doi: 10.3390/polym6030706.
- [4] G. Paulo, M. Mack, and J. Contiero, Biotechnol. Adv., vol. 27, no. 1, pp. 30–39, 2009, doi: 10.1016/j.biotechadv.2008.07.006.
- [5] J. D. Guthrie, 1949.
- [6] M. Franco-Correa, D. Gómez-Méndez, N. Castro-Medina, and M. Rendón-Ruiz, Rev. Peru. Biológia, vol. 16, no. 1, pp. 115–118, 2009.
- [7] N. Jacquel, C. W. Lo, Y. H. Wei, H. S. Wu, and S. S. Wang, Biochem. Eng. J., vol. 39, no. 1, pp. 15–27, 2008, doi: 10.1016/j.bej.2007.11.029.
- [8] A. N. Frone et al., 2020, doi: 10.3390/nano10010051



## Memorias Área VII



# APLICACIÓN DE LA TÉCNICA DE ELECTROHILADO EN LA FABRICACIÓN DE ANDAMIOS DE GELATINA

José Luis Quijano Mendoza, Nayeli Rodríguez Fuentes, Fernando Hernández Sánchez, Hugo Joel Carrillo Escalante Centro de Investigación Científica de Yucatán, Unidad de Materiales, Mérida, Yucatán, C.P. 97205 jose lux15@hotmail.com

Palabras clave: Andamios, Electrohilado, Gelatina

Introducción. Actualmente. los sustitutos dérmicos comerciales disponibles en el mercado conllevan ciertos inconvenientes en su uso y, en muchos casos, implican dilemas éticos y morales debido a su fuente de origen [1]. Para evitar dichos problemas, es importante recurrir al uso de estructuras tridimensionales denominadas andamios, ya que suministran el soporte que necesitan las células para adherirse, proliferar y mantener sus funciones específicas [2]. Entre los materiales idóneos para fabricar andamios con aplicaciones dermatológicas, destaca la gelatina entrecruzada debido a sus propiedades fisicoquímicas [3]. Dichas características, permiten elaborar andamios de gelatina entrecruzada mediante la técnica de electrohilado [4]. Bajo este panorama, el presente trabajo se enfoca en producir estructuras de gelatina utilizando la técnica antes mencionada, para posteriormente emplearlas como andamios con posible aplicación dérmica.

**Objetivo.** Elaborar andamios electrohilados de gelatina entrecruzada, cuyas propiedades fisicoquímicas sean adecuadas para posibles aplicaciones dérmicas.

**Metodología**. Los andamios fueron fabricados mediante la técnica de electrohilado a partir de una solución de gelatina en 2,2,2-Tifluoroetanol [4] y, posteriormente fueron entrecruzados con glutaraldehído (GTA) a distintos tiempos de entrecruzamiento. Los andamios obtenidos fueron caracterizados mediante las técnicas de microscopía óptica (MO), microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectroscopia de infrarrojo (FTIR-ATR). Aunado a esto, también fueron sometidos a una prueba de hemólisis (como ensayo de biocompatibilidad).

Resultados. La caracterización con MO permitió establecer los parámetros de electrohilado (mostrados en la Tabla 1) necesarios para elaborar los andamios y a la vez, medir el tamaño de las redes fibrilares. El análisis FTIR-ATR permitió constatar que se llevó a cabo el entrecruzamiento entre los grupos funcionales de la gelatina y el GTA, ya que se observó un crecimiento en picos ligados a las reacciones entre el carbono y el hidrógeno, así como la formación de uno relacionado a un enlace C=O. No obstante, estos cambios significativos sólo fueron detectados en los andamios con el mayor tiempo de entrecruzamiento. En el caso del resto de los andamios entrecruzados, se puede asegurar que dicha reacción se llevó a cabo de manera cualitativa, ya que los andamios, originalmente blanquecinos, se tornaron más amarillentos a mayor tiempo de exposición con el agente entrecruzante. Esta coloración se relaciona con la aparición de enlaces imina entre el GTA y los enlaces amina de la gelatina. De igual manera, mediante la prueba SEM se midió el diámetro de las fibras

de gelatina y, además, se observó que, a mayor tiempo de entrecruzamiento, los andamios de gelatina tienden a preservar su estructura morfológica. Los resultados obtenidos mediante la prueba de hemólisis arrojaron que todos los andamios son hemocompatibles y no hemotóxicos, según la Norma ISO 10993-4.

**Tabla 1.** Parámetros de electrohilado utilizados durante la elaboración de andamios de gelatina.

Voltaje	Gasto	Distancia de aplicación	Diámetro interno de la aguja
12.25 kV	0.3 ml/h	18 cm	0.90 mm

Conclusiones. La técnica de electrohilado permitió elaborar andamios de gelatina, los cuales posteriormente fueron entrecruzados con glutaraldehído para mejorar sus propiedades fisicoquímicas. Considerando el tamaño del diámetro las fibras obtenidas y los resultados obtenidos en la prueba de hemólisis, es posible concluir que estos andamios son biocompatibles, y, por lo tanto, buenos candidatos para aplicaciones dermatológicas.

**Agradecimiento**. A la Unidad de Materiales del Centro de Investigación Científica de Yucatán, por permitirme el uso de sus instalaciones y equipos.

#### Bibliografía

- 1. Vig K, Chaudhari A, Tripathi S, Dixit S, Sahu R, Pillai S et al. (2017). Int. J. Mol. Sci. 18(4):789.
- 2. Dhandayuthapani B, Yoshida Y, Maekawa T, Kumar D. (2011). *Int. J. Polym. Sci.* 2011:1-19.
- 3. Kang H, Tabata Y, Ikada Y. (1999). Biomaterials. 20(14):1339-1344.
- 4. Zhang Y, Venugopal J, Huang Z, Lim C, Ramakrishna S. (2006). *Polymer*. 47(8):2911-2917

BioTecnología, Año 2021, Vol. 25 No. 4