IMPACTO DE NANOPARTICULAS DE USO COMERCIAL EN MICROORGANISMOS AMBIENTALES.

A. Chávez Calderón, E. Orrantia Borunda, A. Luna Velasco.
Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S.C.

INTRODUCCIÓN:

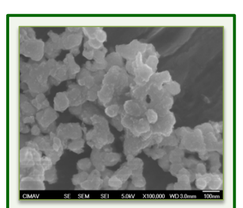
Las nanopartículas (NPs) metálicas como Fe°, Fe_2O_4, CuO tienen diversas aplicaciones industriales, incluyendo tratamiento de aguas residuales, terapia de cáncer, agentes antimicrobianos, entre otras. El amplio uso de las NPs conlleva a su posible liberación en el ambiente, lo cual ha generado gran interés en evaluar su impacto en el medio ambiente, particularmente su efecto en los microorganismos del entorno.

OBJETIVO:

Evaluar el efecto tóxico de NPs de uso comercial en modelos biológicos relevantes en el ambiente.

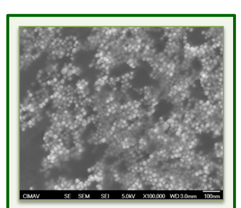
MATERIALES

Nanopartículas:



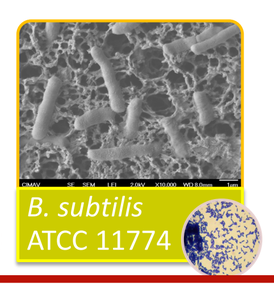
Fe° Esféricas
30-100 nm

Fe_3O_4 Esféricas
25-43 nm



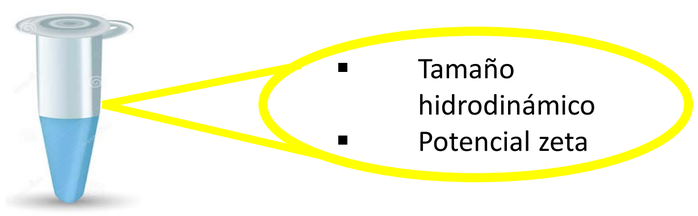
CuO Esféricas
5-10 nm

Modelos biológicos ambientales:



MÉTODOS

Caracterización de dispersiones de NPs



Dispersiones en medio LB, YPD (0.1X)

Viabilidad celular

Conteo celular (Miles-Misra)

- Células 1x 10^9 UFC/ml.
- Medio LB - bacterias
- Medio YPD – levaduras
- NPs (Fe°, Fe_3O_4, CuO).
- Control (células sin exponer)

Inoculo de diluciones seriadas 10 µl en medio sólido por 24 h a 37°C

$$\%\ \textbf{Viabilidad celular} = \frac{\text{Número de células expuestas a NPs}}{\text{Número de células sin exposición a NPs}} * 100$$

Daño a la membrana celular.

- Microscopia electrónica de barrido.

Ionización de NPs.

- Cuantificación del ion Cu^{2+} por Absorción atómica

RESULTADOS:

Características de NPs en los medios de cultivo.

Tabla 1. Tamaño hidrodinámico y potencial zeta de las NPs.

Nanopartículas	Medio LB		Medio YPD	
	Tamaño hidrodinámico (nm)	Potencial zeta (mV)	Tamaño hidrodinámico (nm)	Potencial zeta (mV)
CuO	381.1	-20.8	366.9	-17.7
Fe_3O_4	1479	-20	1459	-26.9
Fe°	2728	-27.0	2999	-26.5

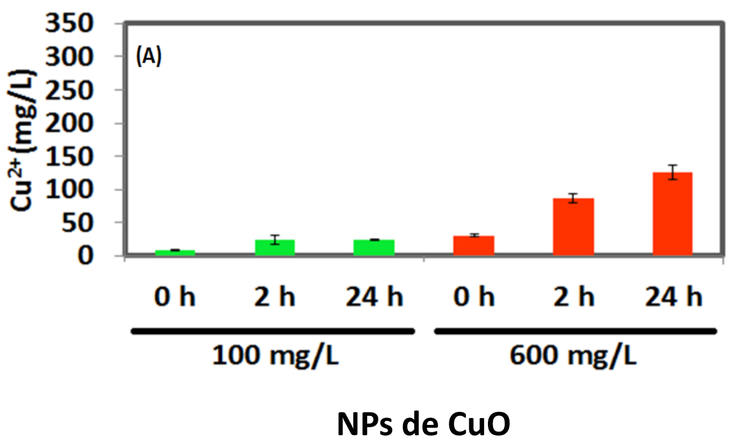
Viabilidad celular

Tabla 2. Porcentajes de inhibición por la exposición a NPs

Nanopartículas	*E. coli*	*B. subtilis*	*S. cerevisiae*
CuO	*20.6% inhibición (24h)	100% inhibición IC50= 497 mgL^{-1} (2h)	----
Fe_3O_4*	----	----	----
Fe°*	----	----	----

- No hay inhibición a concentración máxima de 1000 mgL^{-1}
* Concentración máxima de NPs (600 mgL^{-1}).

Liberación de Cu^{2+} en los medios biológicos



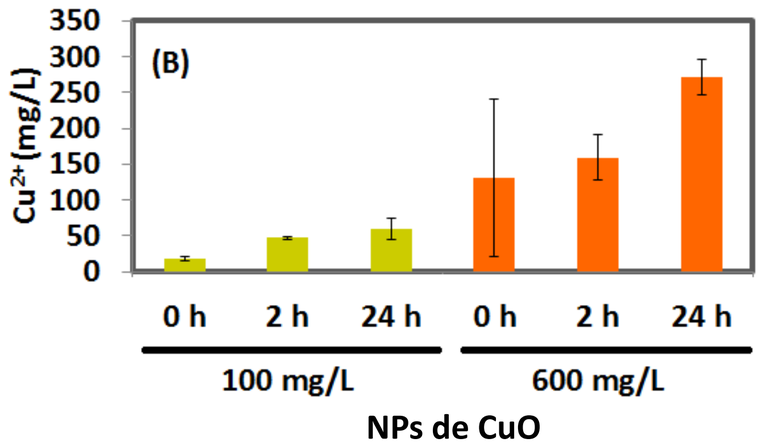


Figura 1. Ionización de las NPs de CuO en medio LB **(A)** y YPD **(B)**

Daño a la membrana celular

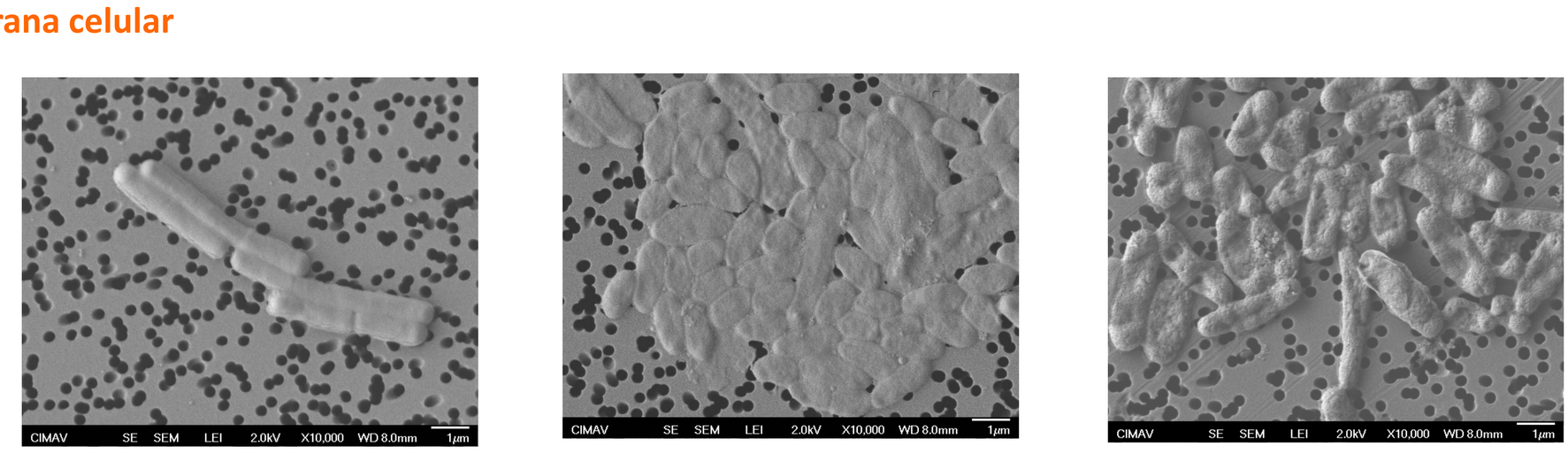


Figura 2. Micrografías de *células de B. subtilis* sin exponer a NPs **(A)**; y células de *B. subtilis* **(B)** y *E. coli* **(C)** expuestos a NPs de CuO (600 mgL^{-1})

CONCLUSIONES:

- ✓ Las NPs de Fe°, Fe_3O_4 (200-1000 mg/L) no presentaron ningún tipo de daño en *S.cerevisiae, B. subtilis* y *E. Coli,* lo cual coincide con NPs con tamaños hidrodinámicos mas grandes.
- ✓ Las NPs CuO afectaron la viabilidad de la bacteria. En las levaduras no se observó este efecto.
- ✓ Las NPs CuO causaron daño a la membrana celular de las bacterias y la solubilización del ión Cu^{2+}.

REFERENCIAS:

1. Hajipour M., Fromm K., Ashkarran A. (2012)Antibacterial properties of nanoparticles Trends in Biotechnology, Vol. 30, No. 10
2. Lanje, A,S. Sharma S., J. (2010) Synthesis and optical characterization of copper oxide nanoparticles Advances in Applied Science Research, 1 (2): 36-40
3. Jiang, W., H. Mashayekhi and B. Xing (2009). "Bacterial toxicity comparison between nano- and micro-scaled oxide particles." Environmental Pollution **157**(5): 1619-1625.

AGRADECIMIENTOS:

Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y al Centro en Investigación en Materiales Avanzados S.C. (CIMAV), por el apoyo en la realización del proyecto