

# **PRODUCCIÓN DE MICROESFERAS DE QUITOSANO PARA SU UTILIZACIÓN COMO “CARRIERS” DE AGENTES BIOTECNOLÓGICOS DE INTERÉS PARA LA INDUSTRIA**

**A. Olivera<sup>1\*</sup>, M. Lopretti<sup>2,3</sup>, Carolina Ottati<sup>3</sup>, Agustín Damboriarena<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias, UdelaR.

<sup>2</sup>Departamento de Bioquímica y Biotecnología, C.I.N., Facultad de Ciencias UdelaR.

<sup>3</sup>Departamento de Bioprocesos y Biotecnología, LATU, Uruguay

\*alvarobq@fcien.edu.uy

Los biopolímeros son materiales de interés por su disponibilidad y características en distintas aplicaciones, entre ellas la producción de biofilms y microcápsulas[1].

El quitosano ( $\beta$ -1-4-glucosamina) es un biopolímero policatiónico con excelentes propiedades biológicas, entre ellas su biocompatibilidad, su bioadsorptividad y su poder bacteriostático[2]

Esto lo ha llevado a ser objeto de estudio para su aplicación en la industria biomédica y alimenticia.

En el presente trabajo se ha realizado la puesta a punto de técnicas que permiten la obtención de microesferas que sirven como “vehículos” para la entrega localizada y/o descarga controlada de fármacos, ADN [3], enzimas [4][5], protección de probióticos [6] y otras células.

Se realizaron microesferas de quitosano al 3% por emulsión, utilizando glutaraldehído al 25% o paraformaldehído al 30% como agente entrecruzante. Posteriormente se decantaron y lavaron con éter de petróleo.

Para la aplicación de microscopía confocal [7], se cargaron estas microesferas con seroalbúmina bovina (BSA) marcada con tioisocianato de fluoresceína (FITC).

Las microcápsulas así obtenidas se evaluaron por distintos métodos:

- a) espectrofotometría: para determinar el rendimiento de la microencapsulación y ensayos de liberación y permanencia.
- b) microscopía de barrido confocal láser (CLSM): para determinar la distribución de carga de una proteína reportera fluorescente dentro de los microvehículos. Método que además permite cuantificar el material cargado.
- c) citometría de flujo: permite el recuento y separación en poblaciones de distinto tamaño.
- d) microscopía electrónica de transmisión: para analizar ultraestructuralmente la configuración interna del polímero y su carga.
- e) microscopía electrónica de barrido: para determinar la topografía tridimensional de las microesferas en su interior y superficie

Se analizó la estabilidad de las microesferas mediante ensayos de permanencia y liberación de los materiales incorporados; proteínas, aceites esenciales y ADN.

De los resultados obtenidos en estos primeros ensayos podemos concluir que se obtuvieron esferas de entre 1 y 20 micras, lográndose una buena incorporación de los materiales biológicos testeados.

Los ensayos de permanencia y liberación mostraron un comportamiento heterogéneo, dependiendo de la naturaleza del material microencapsulado y las condiciones de pH y temperatura a las cuales se sometieron las microesferas.

El Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU) con la cooperación del Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas (COLPOS) y la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, dentro del marco de el Programa Mexicano de Cooperación Internacional para el Desarrollo de la Secretaría de Relaciones Exteriores (SRE), a través de la Unidad de Relaciones Económicas y Cooperación Internacional de la Dirección General de Cooperación Técnica y Científica (DGCTC), han comenzado en septiembre del corriente año un proyecto conjunto basado en las técnicas de este trabajo, con el objetivo de microencapsular un biocompuesto con actividad potencialmente anticancerígena para uso en humanos.

[1] Eric Allémann, Robert Gurny, Eric Doelker, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 39 (5) (1993) 173-191.

[2] J. Berger, M. Reist, J.M. Mayer, O. Felt, N.A. Peppas, R. Gurny, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 57 (2004) 19-34.

[3] Suna Özbas-Turan, Cenk Aral, Levent Kabasakal, Meral Keyer-Uysal, and Jülide Akbuga, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 6(1) (2003) 27-32.

[4] Ruey-Shin Juanga, Feng-Chin Wub, Ru-Ling Tsengc, *Advances in Environmental Research* 6Ž (2002)171-177.

[5] Senay Akku,s Çetinus, H. Nursevin Öztop, *Enzyme and Microbial Technology*, 32 (2003) 889–894.

[6] Wunwisa Krasaekoopt, Bhesh Bhandari, Hilton C. Deeth, *LWT*, 39 (2006) 177–183.

[7] Yi-Yan Yang, Tai-Shung Chung, Ngee Ping, *Biomaterials*, 22 (2001) 231-241.