

Efecto de quinolonas tratadas térmicamente sobre el crecimiento de *Kluyveromyces marxianus*

Eluk, D.⁽¹⁾; Ceruti, R.⁽¹⁾; Nágel, O.⁽¹⁾; Molina, M.P.⁽²⁾; Althaus, R.⁽¹⁾

⁽¹⁾Cátedra de Biofísica. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral (UNL).

⁽²⁾Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n (46021) Valencia, España. deluk@fcv.unl.edu.ar

Proyecto CAI+D (PI 501201110152LI) de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Litoral y PICT 2012-455 de la Agencia de Promoción Científica y Tecnológica: “Diseño de un sistema sustentable para el tratamiento de leche contaminada con antibióticos”

Las quinolonas son un grupo de antibióticos (ATBs) sintéticos frecuentemente utilizados para el tratamiento de patologías del ganado vacuno productor de leche. Sin embargo, no siempre son metabolizadas totalmente y pueden ser eliminadas a través de las heces, orina y leche. Por este motivo, los residuos de antibióticos en la leche y lactosuero generan problemas para la industria láctea. Una alternativa interesante para el empleo del lactosuero contaminado con residuos de ATBs es la obtención de levaduras destacándose, debido a su capacidad para fermentar lactosa, *Kluyveromyces marxianus*. Además la biomasa obtenida puede emplearse como un concentrado proteico para la alimentación de ganado. Sin embargo, la presencia de residuos de quinolonas a niveles cercanos a los Límites Máximos de Residuos (LMRs) establecidos por la legislación¹ puede afectar el crecimiento de esta levadura, por lo que su inactivación resulta importante. Por consiguiente, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tiempo (0, 20, 40 y 60 minutos) de calentamiento a 121°C sobre la inactivación de tres quinolonas (ciprofloxacina (CPX), enrofloxacin (EFX), marbofloxacina (MFX)) que afectan el crecimiento de *K. marxianus*. Con este fin se preparó un medio semisintético conteniendo lactosa (4%), extracto de levadura (0,5%) y peptona de caseína (2,5%) a pH=7.5. Para el estudio fermentativo de cada antibiótico se utilizaron cinco alícuotas: “Control” sin antibiótico y sin tratamiento, y alícuotas con ATBs en la concentración correspondiente a sus LMRs ($LMR_{CPX} = 100 \text{ mg L}^{-1}$, $LMR_{EFX} = 100 \text{ mg L}^{-1}$; $LMR_{MFX} = 75 \text{ mg L}^{-1}$). A su vez, las alícuotas conteniendo ATBs se dividieron y trataron térmicamente según el siguiente esquema: “ATB_0” con antibiótico y sin tratamiento, “ATB_20” con antibiótico y tratada térmicamente durante 20 minutos, “ATB_40” con antibiótico y tratada térmicamente durante 40 minutos, y “ATB_60” con antibiótico y tratada térmicamente durante 60 minutos. Se analizó la fermentación de *K. marxianus* (42°C y pH=7,5) durante un tiempo de 12 horas, realizando muestreos cada 2 hs para evaluar el crecimiento celular. En la Figura 1 se presentan las curvas de crecimiento de *K. marxianus* en función del tiempo, para los distintos antibióticos y tratamientos térmicos aplicados. Es interesante resaltar que en todos los casos, la presencia de quinolonas produjo una disminución significativa ($p < 0,05$) en el crecimiento de la levadura. Asimismo se observa que las muestras tratadas térmicamente generan menor inhibición del crecimiento celular con respecto al grupo control y que el tiempo de tratamiento tiene un efecto positivo sobre la inactivación de los ATBs ensayados.

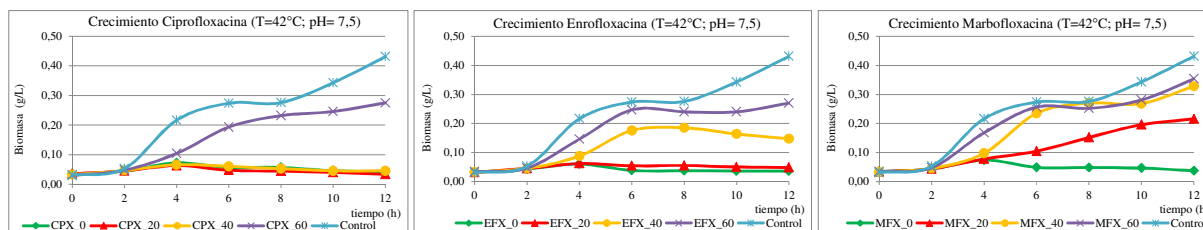


Figura 1: Curvas de crecimiento de *K. marxianus* en función del tiempo. Efecto del tiempo de tratamiento térmico sobre la inactivación de quinolonas.

En Tabla 1 se exponen los porcentajes de crecimiento de *K. marxianus* luego de 12 hs. de ensayo, para los distintos antibióticos y tratamientos térmicos realizados. Se aprecia el efecto positivo del tiempo de tratamiento sobre la inactivación de las quinolonas, el cual se pone de manifiesto como un incremento en la producción de biomasa respecto del grupo sin tratar (ATB_0). Asimismo se observa que el tratamiento a 121°C_20 minutos no es suficiente para inactivar ciprofloxacina y enrofloxacin, pero genera una inactivación del efecto germicida de marbofloxacina del 50%, respecto del control. Igualmente, un tratamiento de 121°C_40 min permitió un incremento en la inactivación de las tres quinolonas, pero aún en porcentajes bajos. Finalmente, el tratamiento térmico de 121°C_60 min produjo la mayor inactivación, obteniéndose un crecimiento celular 64% para ciprofloxacina, 63% para enrofloxacin y 82% para marbofloxacina, respecto del control.

Tabla 1: Crecimiento de *K. marxianus* luego de 12h de ensayo. Efecto del tiempo de tratamiento térmico sobre quinolonas que afectan a dicha levadura.

Control	CPX_0	CPX_20	CPX_40	CPX_60	EFX_0	EFX_20	EFX_40	EFX_60	MFX_0	MFX_20	MFX_40	MFX_60
100%	8%	9%	11%	64%	9%	11%	34%	63%	9%	50%	76%	82%

Se concluye que la presencia de residuos de quinolonas a niveles de admisibles con la legislación (LMRs) afectan al crecimiento de *Kluyveromyces marxianus* y que los tratamientos térmicos aplicados produce una inactivación parcial de las mismas. Por ello, futuros estudios que contemplen otros tipos de procesos como la fotocatalisis solar² deberían ensayarse.

Bibliografía:

- 1- **European Community.** (2009). Council Regulation N°37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. Official Journal of the European Union, 15, 1-72.
- 2- **Sirtori, C., Zapata, A., Malato, S., Gernjak, W., Fernández-Alba, A. R., and Agüera, A.** (2009). Solar photocatalytic treatment of quinolones: intermediates and toxicity evaluation. Photochemical and Photobiological Sciences, 8(5), 644-651.