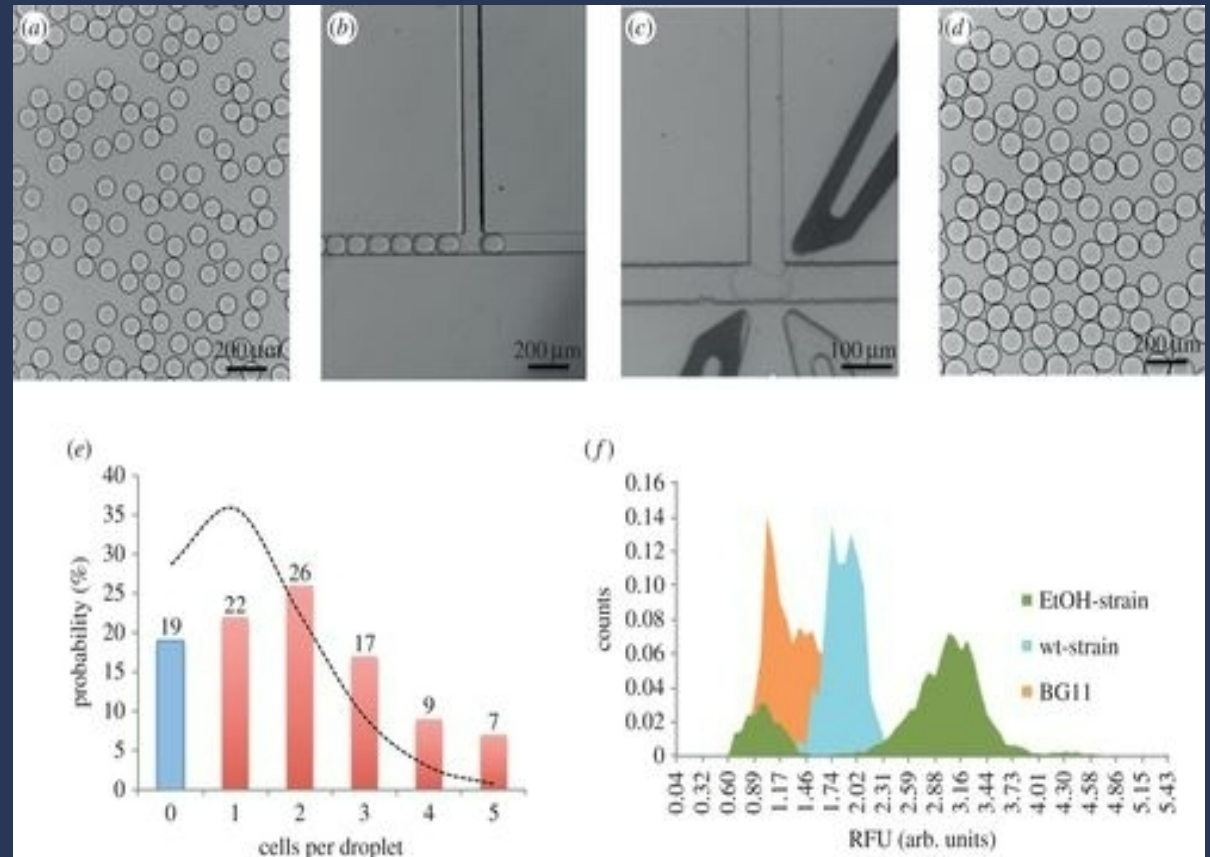


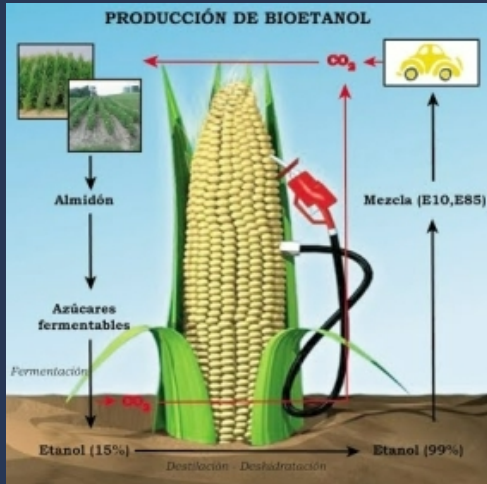
High-throughput detection of ethanol-producing cyanobacteria in a microdroplet platform

Abalde-Cela S, Gould A, Liu X, Kazamia E, Smith AG, Abell C. 2015

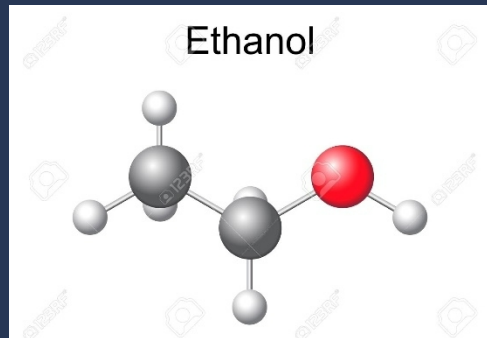
Jairo David Narro Silva



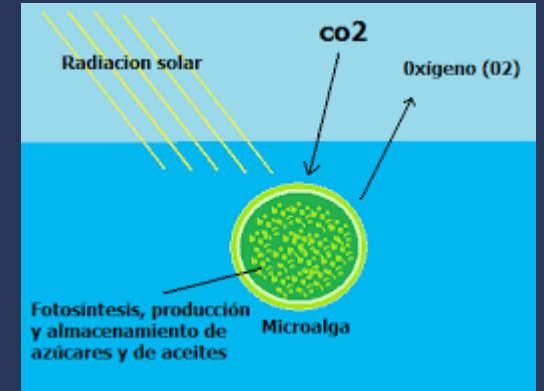
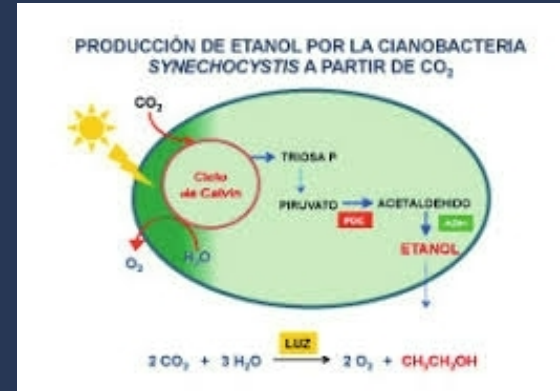
Introducción



El etanol es producido por la fermentación de levadura de azúcares de cultivos con almidón como el maíz o la caña de azúcar.



La producción de etanol por microorganismos es una importante fuente de energía renovable.



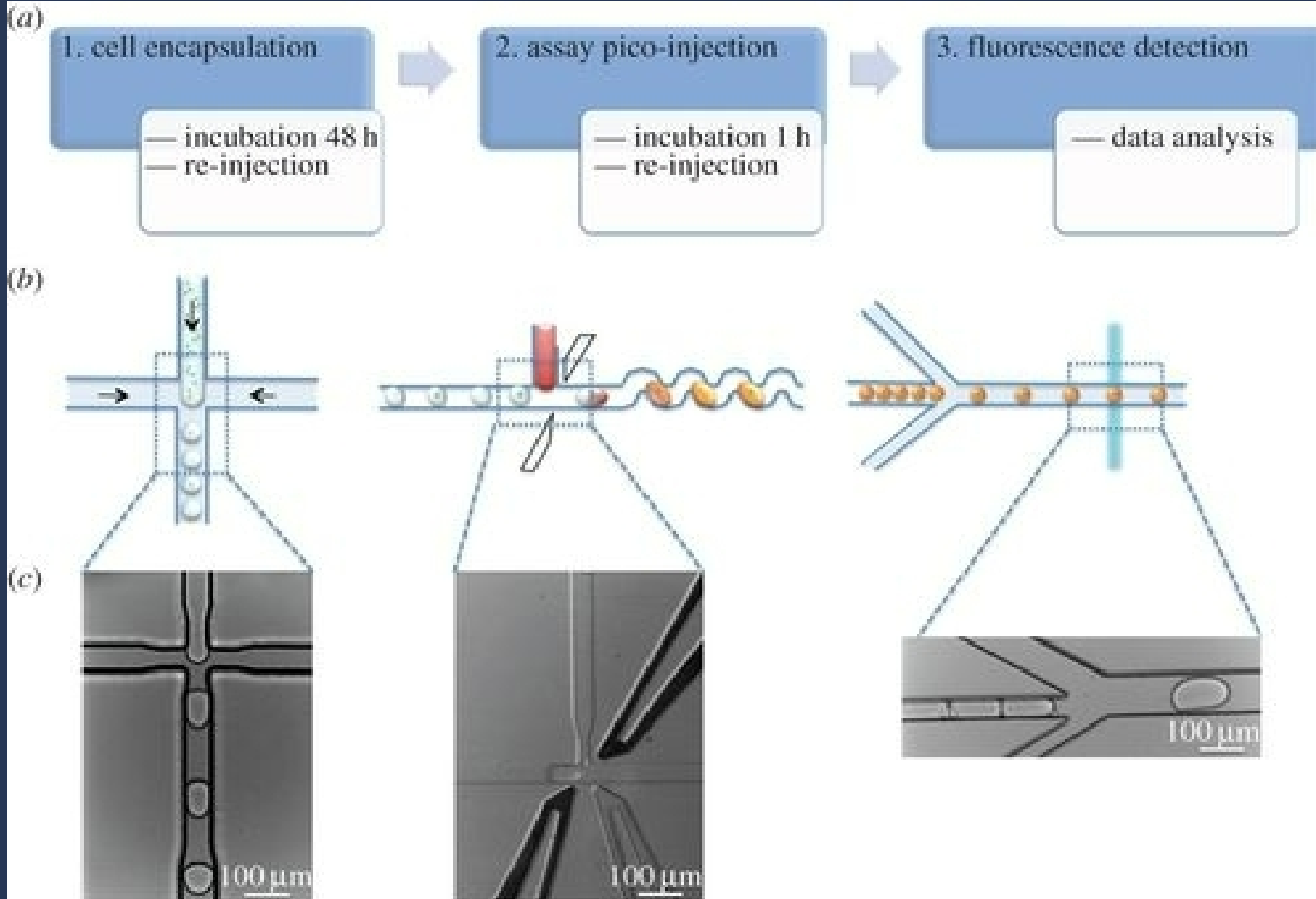
Las microalgas y las cianobacterias son candidatos potenciales para eludir las limitaciones de la producción de etanol a base de cultivos debido a su fotosíntesis oxigenada, mayor productividad reportada y no competencia por tierras cultivables.

Específicamente, las cianobacterias modificadas genéticamente para producir etanol parecen ser los principales candidatos para una industria energética basada en bioetanol sostenible y económicamente eficiente.

Objetivo

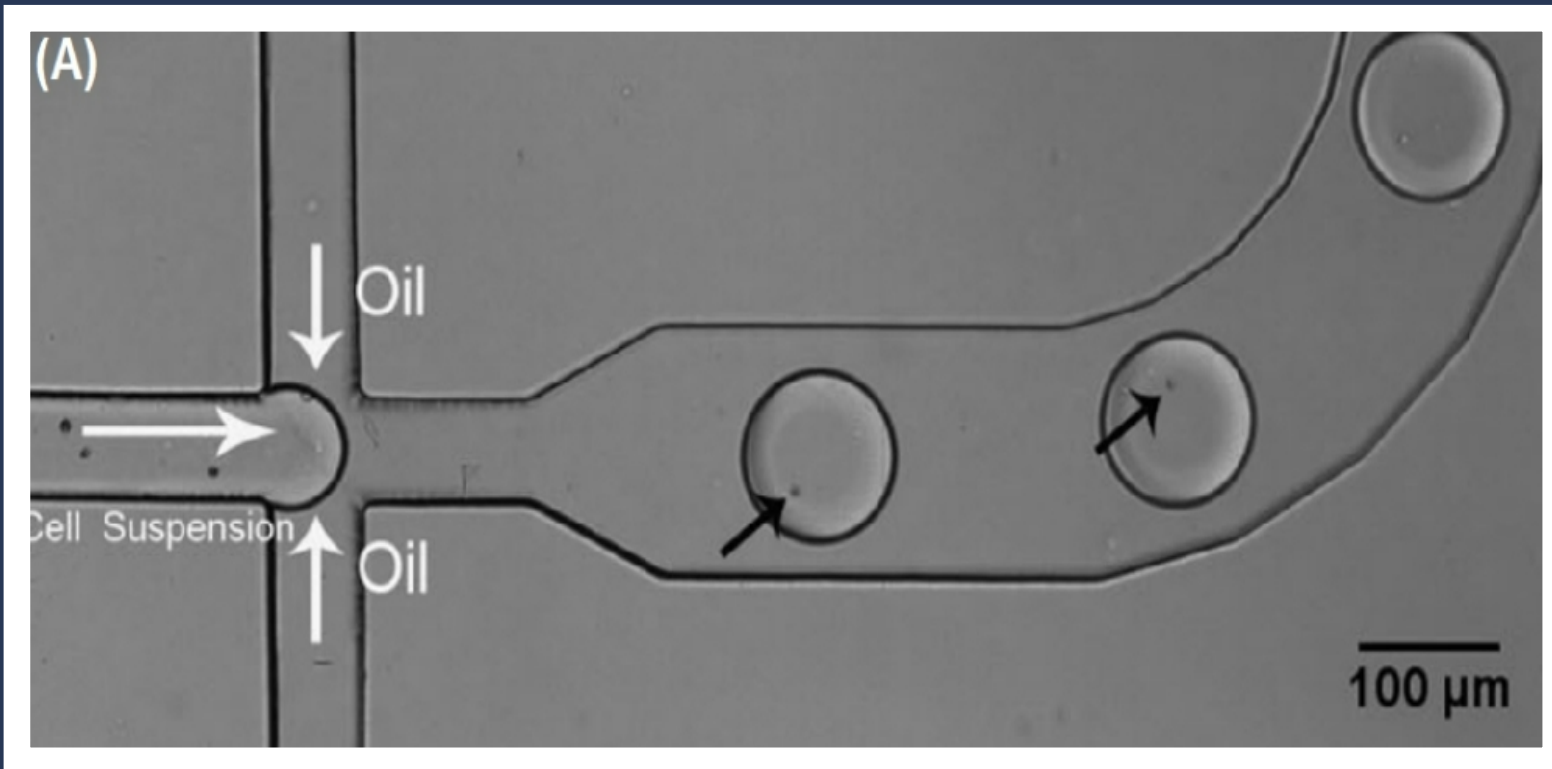
Método de detección cuantitativa de etanol en una plataforma basada en microgotas para detectar cepas de cianobacterias e identificar a aquellas con los niveles más altos de productividad de etanol.

Proceso de evaluación de la producción de Etanol



1. Encapsulación de cianobacterias en microgotas. El etanol se confina en la gota para el ensayo. Incubación por 48 horas para aumentar los niveles de concentración del etanol.
2. Reacción del etanol con Amplex Red (AR) en el dispositivo pico-inyección para formar la molécula fluorescente RF. Incubación por 1 hora.
3. Las microgotas se reinyectan en un tercer dispositivo para la detección de fluorescencia.

Droplet Generation



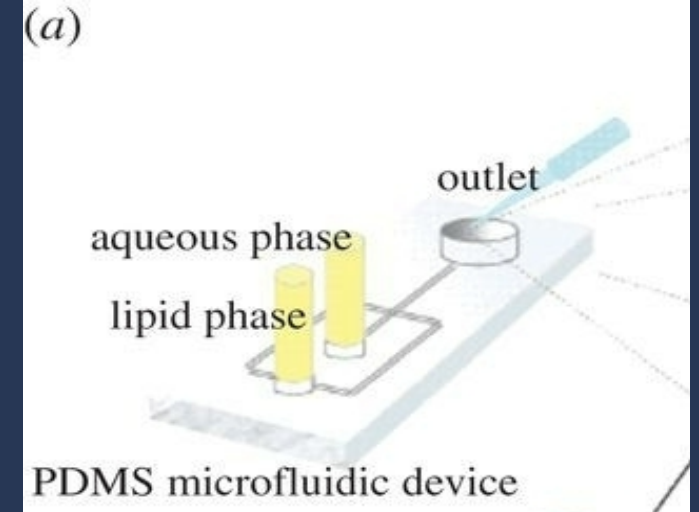
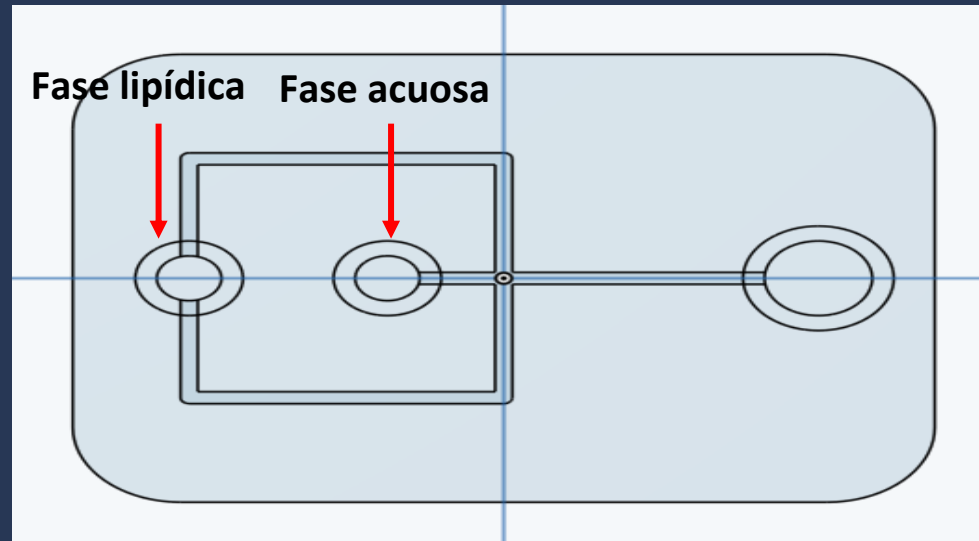
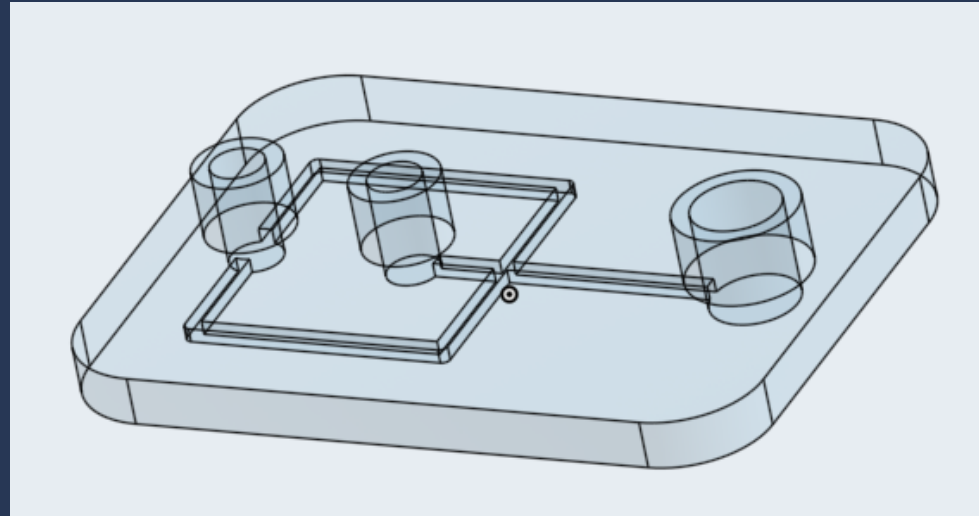
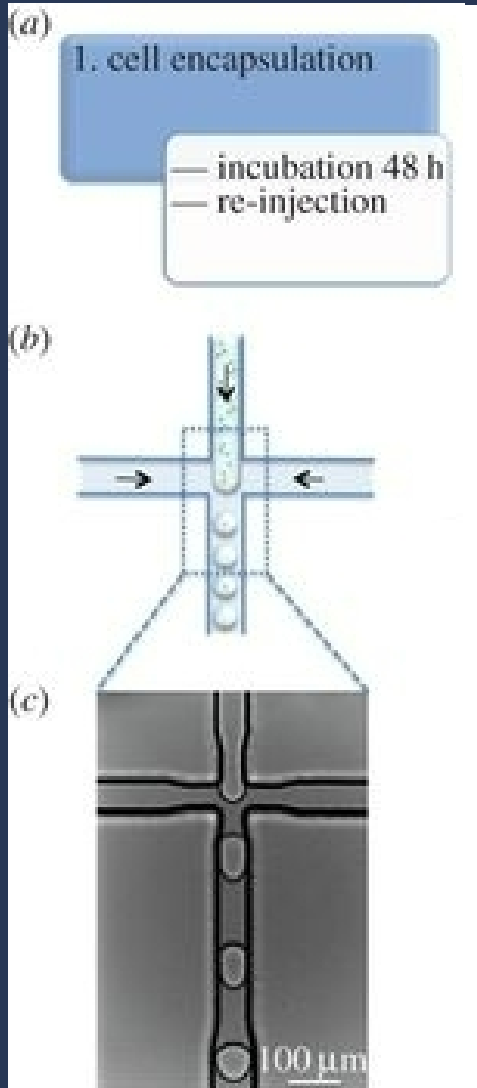
Para la generación de microgotas, por un lado se tiene un fluido hidrófobo (fase dispersa) que atraviesa el canal con una velocidad de flujo alta. Por otro lado, se tiene la solución acuosa que compone las gotas. Esta atraviesa el canal con una velocidad de flujo menor.

Dispositivo Droplet Generation. Imagen disponible en:
https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-66322018000401163&lang=es#B74

Fase dispersa: Aceite fluorado HFE-7500 (3M) (2000 $\mu\text{l/h}$)

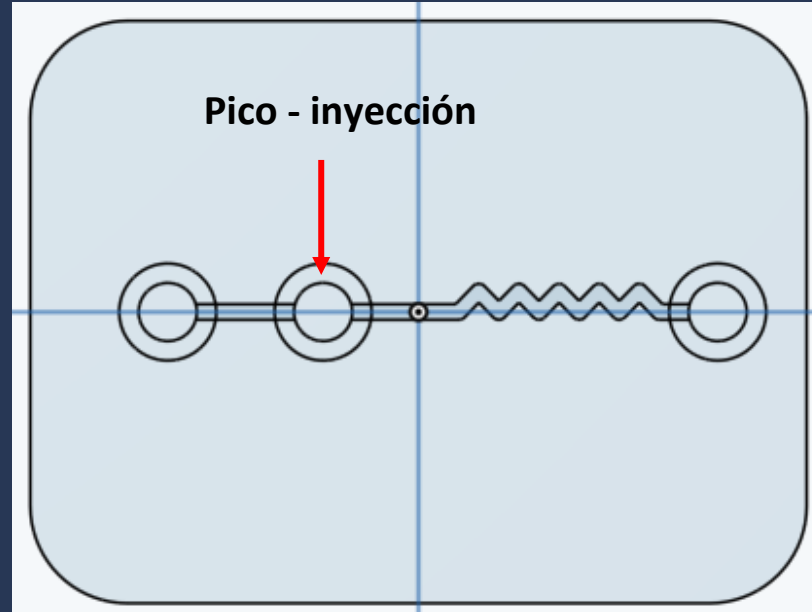
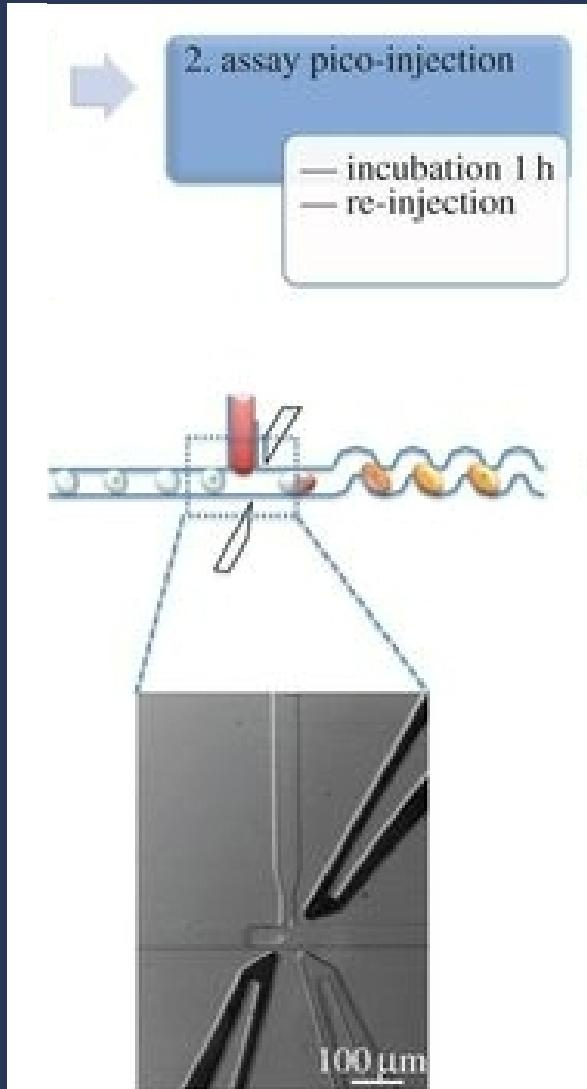
Fase acuosa: Concentración de cultivos de cianobacterias (250 $\mu\text{l/h}$)

Paso N°1 – Generación de gotas



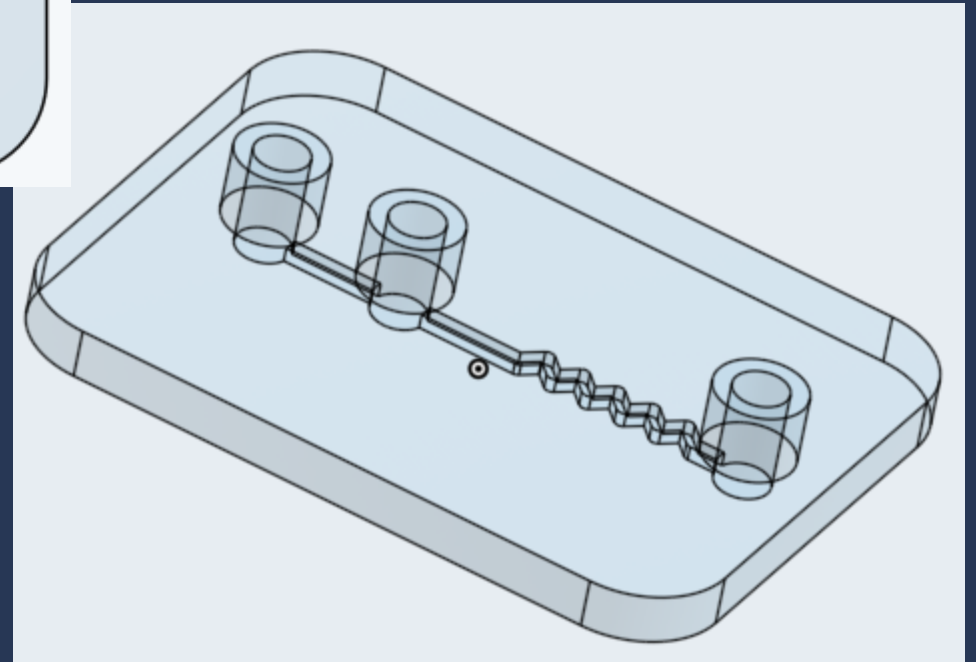
Dispositivo Droplet Generation para la generación de células artificiales. Imagen disponible en: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsfs.2016.0011>

Paso N°2 – Pico - inyección

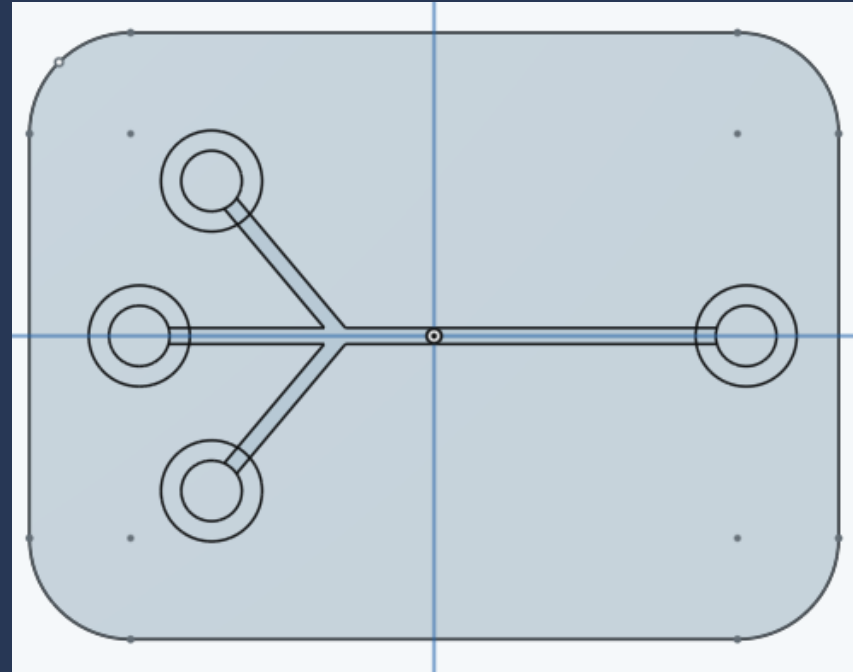
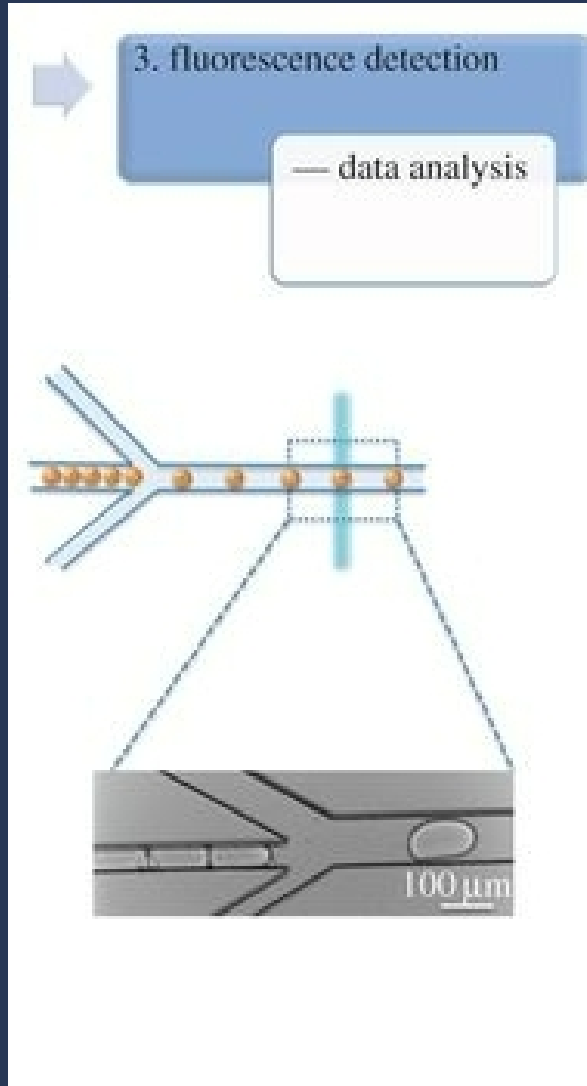


Las microgotas preformadas que encapsulaban las células se reinyectaron a 200 $\mu\text{l/h}$ y se espaciaron con aceite fluorado HFE-7500 que fluía a 2000 $\mu\text{l/h}$.

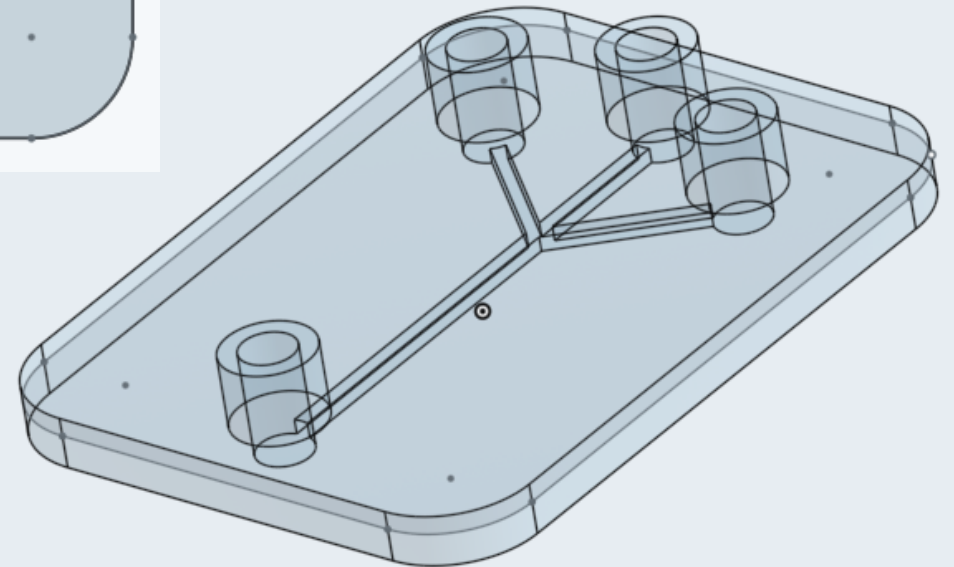
Incubación por una hora para permitir que se produzcan las reacciones enzimáticas.



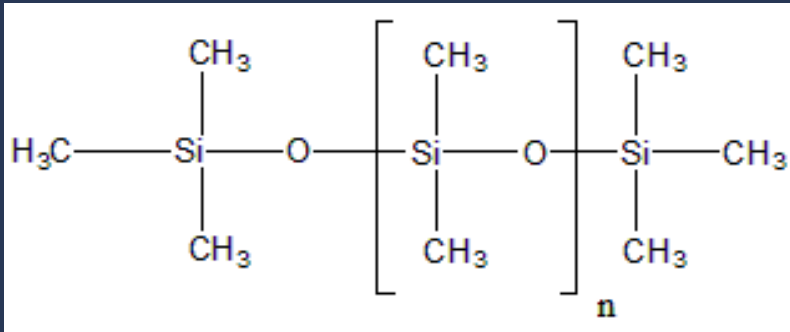
Paso N°3 – detección de fluorescencia inducida por láser (LIF)



Una entrada para las gotas reinyectadas que fluyen a 100 $\mu\text{l/h}$ y dos entradas para espaciar el portador de aceite fluorado HFE-7500 inyectado a un caudal de 500 $\mu\text{l/h}$

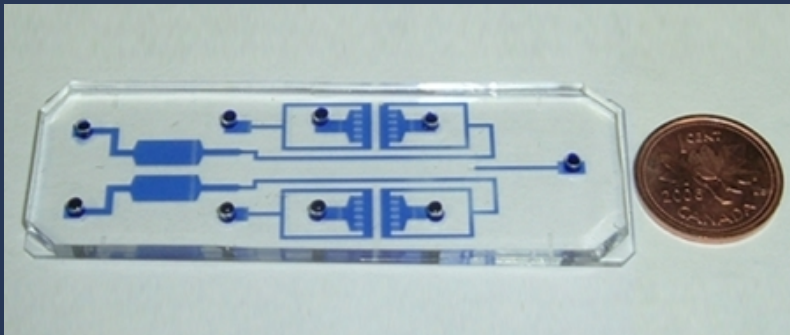


Fabricación de los chips microfluídicos



Se utilizó **Polidimetilsiloxano (PDMS)**:

Barato y muy flexible para aplicaciones. Buena claridad óptica. Fácil de trabajar y permite reducir el tiempo de fabricación. Permeable a los gases. No tóxico. Bajo módulo elástico que permite la integración.



Métodos de Litografía suave o blanda.

Replicación de un patrón a microescala por el curado de un polímero elastomérico sobre una estructura 3D.

Usado generalmente para construir características medidas en escala micrométrica o nanométrica.

Bibliografía

- Abalde-Cela S, Gould A, Liu X, Kazamia E, Smith AG, Abell C. (2015). High-throughput detection of ethanol - producing cyanobacteria in a microdroplet platform. J. R. Soc. Interface 12. Recuperado de: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsif.2015.0216>
- Martino C, deMello AJ. (2016). Droplet-based microfluidics for artificial cell generation: a brief review. J. R. Soc. Interface Focus. Recuperado de: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsfs.2016.0011>
- Prado R, Borges E. (2018). Microbioreactors as engineering tools for bioprocess development. Brazilian Journal of Chemical Engineering. Recuperado de: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-66322018000401163&lang=es#B74