

## Inmovilización de células bacterianas en criogel de alcohol polivinílico

\*Diego Zaragoza Contreras, †Jorge Romero García, \*Luis Fernández Linares

\*Instituto Mexicano del Petróleo, Eje Central Lázaro Cárdenas #152 Col. San Bartolo Atepehuacan, México, D. F., C.P 07730. Fax 30037705, e-mail [dzarago@imp.mx](mailto:dzarago@imp.mx). †Centro de Investigación en Química Aplicada, Enrique Reyna 140, Saltillo, Coah.

Palabras clave: *Inmovilización de células, Biocatálisis.*

**Introducción.** El alcohol polivinílico (PVA) ha sido, en los últimos años, uno de los materiales más utilizados en la preparación de criogel para inmovilizar células. Los criogel de PVA son materiales viscoelásticos que se hinchan en contacto con el agua, su naturaleza microporosa y macroporosa los hace ser una de las mejores opciones para encapsular diversos tipos de microorganismos<sup>1</sup>. Se preparan a partir de soluciones concentradas de alcohol polivinílico en medio acuoso someténdolas a ciclos repetitivos de congelamiento-descongelamiento<sup>2</sup>. Se han reportado un gran número de publicaciones donde exitosamente han funcionado como soporte de inmovilización<sup>3</sup>. Sin embargo, para su aplicación adecuada en un sistema específico, existe un número de parámetros que hay que establecer antes de tratar de inmovilizar un microorganismo determinado.

Con base en lo anterior el objetivo de este trabajo fue encontrar las condiciones óptimas de preparación de criogel de alcohol polivinílico para inmovilizar células bacterianas de *Rhodococcus rhodochrous*.

**Metodología.** Se trabajó con polímeros de PVA de diferente peso molecular, diferentes concentraciones, diferentes números de ciclos y diferentes grados de hidrólisis. Se evaluó su comportamiento respecto a la rigidez, grado de hinchamiento, estabilidad de las células en el soporte y la morfología de su encapsulamiento.

**Resultados y discusión.** El grado de hidrólisis del PVA debe ser mayor al 96% de lo contrario la solución de polímero no gelifica. Se observó que la rigidez del gel depende de la concentración del polímero más que de su peso molecular, figura 1. El peso molecular del PVA juega un papel muy importante en la disolución; a mayor peso molecular menor es la disolución, esto significa que con polímeros de alto peso molecular sólo se pueden preparar disoluciones de baja concentración y por lo tanto no se alcanzan altos grados de rigidez.

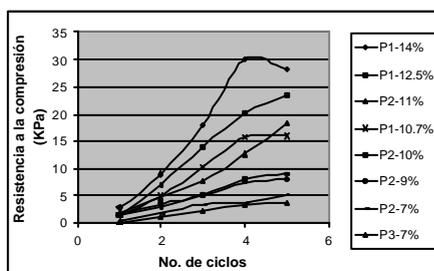


Figura 1. Curvas de rigidez a diferentes pesos moleculares y diferentes concentraciones. P1= Mv 51000; P2= Mv 62140; P3= Mv 132598.

El grado de hinchamiento de los gels en agua es un factor importante ya que predice el comportamiento del gel en un sistema de reacción acuoso. El grado de hinchamiento del gel depende de la temperatura, del número de ciclos criogénicos del gel y del sistema de reacción donde se va a incorporar el gel. El hinchamiento se probó en agua a 22, 30, 44 y 55°C. De esta prueba se observó lo siguiente: a 55°C los gels de PVA son inestables, el calor los desintegra. A 44 y 30°C son más estables, pero el fenómeno de envejecimiento es más notable que a temperatura ambiente. A 22°C los gels son muy estables y se hinchan en mayor proporción que a 30°C. También se observó que a 22°C el grado de hinchamiento disminuye al aumentar el número de ciclos del gel. Respecto a la fuga de células del soporte, se hizo una prueba de lavado de células en agua a 30°C y 180 rpm, por 9 días. Se utilizaron para la prueba criogel de PVA de peso molecular viscosimétrico de 51000, con una concentración de 10, 12 y 14% en peso, y con 1, 2 y 3 ciclos criogénicos. Se observó que sólo el 7% de la biomasa depositada se perdió del gel. La carga celular en el gel puede ir desde 4 hasta 10 g/dL en la solución polimérica, sin embargo, aún la concentración más baja afecta las propiedades mecánicas del gel, volviéndolo más frágil.

**Conclusiones.** Los criogel con mejores propiedades, se obtuvieron con el PVA de peso molecular viscosimétrico de 51000 con concentraciones entre 10.7 y 12.5% en peso y con 2 a 3 ciclos criogénicos. Bajo estas condiciones se obtuvieron criogel con buenas propiedades mecánicas, grandes tamaños de poro y una alta eficiencia de encapsulamiento. La concentración celular puede ir de 4 a 10g/dL pero tendrá que someterse a evaluación en cada caso específico.

**Agradecimiento.** Se agradece al Instituto Mexicano del Petróleo por su financiamiento y al Centro de Investigación en Química Aplicada por el uso de sus instalaciones.

### Bibliografía.

- 1.- Rainina, E., Pusheva, M. Ryabokon, A. (1994). Microbial cells immobilized in poly (vinyl alcohol) cryogel: Biocatalytic reduction of CO<sub>2</sub> by thermophilic homoacetogenic bacterium. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 19, 321-329.
- 2.- Stauffer, S., Peppas, N. (1992). Poly (vinyl alcohol) hydrogels prepared by freezing-thawing cyclic processing. *Polymer*. 33, 3932-3936.
- 3.-Lozinsky, V. I., Plieva, F.M. (1998). Poly (vinyl alcohol) cryogel employed as matrices for cell immobilization. 3. Overview of recent research and developments. *Enzyme and Microbial technology*. 23, 27-242.