

USO DE LA TREHALOSA COMO CRIOPROTECTOR DE MICROORGANISMOS INMOVILIZADOS EN HIDROGELES POLIMERICOS

Ma. del Carmen Doria S. y Adrián Chavailli R. Universidad Iberoamericana. Prolongación Paseo de la Reforma #880. Col. Lomas de Santa Fé. FAX 50594182. Responsable: carmen.doria@uia.mx

Palabras clave: trehalosa, hidrogel PVA-alginato, crioprotector

Introducción. Se ha estudiado el proceso de remoción de fenol en aguas residuales industriales con un cultivo enriquecido formado principalmente por una levadura, obtenido al aclimatar lodos activados del biorreactor de una planta de tratamiento de aguas residuales municipales a un medio de cultivo que contiene 0.5 g/L de fenol. Este estudio se ha llevado a cabo con microorganismos suspendidos e inmovilizados en un hidrogel sintetizado con alginato de sodio y alcohol polivinílico (PVA). Sin embargo, el tratamiento térmico que asegura el entrecruzamiento del polímero (ciclos de congelación y descongelación) disminuye en 90 % aproximadamente la población de microorganismos dentro de la esfera (1).

Las sustancias crioprotectoras, como la trehalosa, glicerol y sacarosa, protegen a las células tanto procariontes como eucariontes y aumentan el porcentaje de viabilidad después del tratamiento térmico por lo que se utilizan principalmente en la industria farmacéutica y de alimentos.

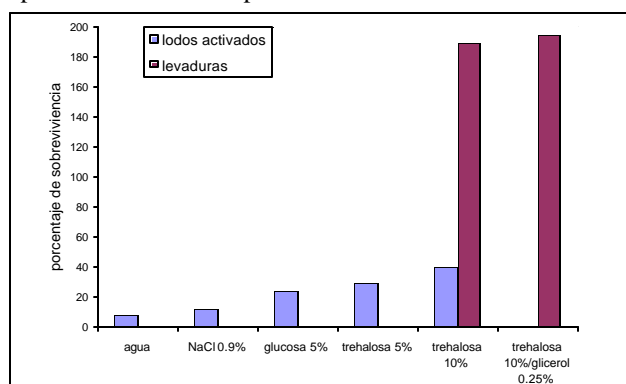
El objetivo de esta investigación es estudiar el efecto de varios medios en la viabilidad de lodos activados y del cultivo enriquecido que remueve fenol para mejorar su desempeño al inmovilizarlos en las esferas de hidrogel de alginato/alcohol polivinílico.

Metodología. Se inmovilizaron dos poblaciones de microorganismos: lodos activados provenientes del reactor aerobio de una planta de tratamiento de aguas residuales municipales, y un cultivo enriquecido capaz de remover 0.5 g/l de fenol. Para la inmovilización, se preparó una mezcla con alginato de sodio (1%) alcohol polivinílico (4%) y una suspensión previamente centrifugada de microorganismos, la cual se goteó en una solución de CaCl_2 0.4M. Las esferas formadas (140 esferas/ml) se lavaron con agua desionizada y se suspendieron en diferentes medios: agua como control, NaCl 0.9%, glucosa 5%, trehalosa 5% y 10%, y trehalosa 10%+glicerol 0.25% (w/v) y se sometieron al tratamiento térmico que consiste en tres ciclos de congelación (-20°C , 12 h.) y descongelación (20°C 12 h.)

Para conocer la viabilidad de los microorganismos, se machacaron 30 esferas, tanto originales como las que han sido sometidas al tratamiento en 10 mL de solución salina 0.9% y se prepararon diluciones en serie; se sembraron alícuotas 10^{-4} a 10^{-7} en agar nutritivo, se incubaron a 22°C durante 72 horas y se contó el número de UFC. Cada experimento se hizo por triplicado; los resultados reportados son el promedio de los datos obtenidos.

Resultados y discusión. El número de UFC presentes en 30 esferas que contienen lodos activados y cultivo enriquecido fue de $3.3?1.3 \times 10^7$ y $5.5?0.5 \times 10^6$ respectivamente.

El porcentaje de supervivencia (%S) se calculó como: $\%S = (X_i / X_f) 100$, donde X_i representa las UFC dentro de las esferas antes de ser sometidas al tratamiento térmico, y X_f representa las UFC después del mismo.



Porcentaje de supervivencia medida como UFC antes y después del tratamiento de congelación-descongelación.

Conclusiones. La gráfica muestra que para el caso de los lodos activados que contienen bacterias principalmente, %S no aumenta de forma significativa en una solución isotónica (NaCl 0.9%); un azúcar sí lo hace, en especial la trehalosa al 10%, donde %S aumenta hasta el 40%. La crioprotección se debe a varios factores, entre ellos a que se afecta la cristalización/vitrificación del agua en la muestra biológica, y se evita el daño causado por sus cristales (2).

En el caso de los experimentos con el cultivo enriquecido que está formado principalmente de levaduras, los medios de trehalosa 10% y trehalosa 10%/glicerol 0.25% permitieron no sólo proteger la biomasa, sino también aumentarla; esto puede deberse a que la levadura contiene trehalosa, lo que le permite usar el crioprotector como fuente de carbono.

Estos resultados permitirán conocer con más certidumbre el número de UFC presentes en los hidrogeles y así comprender la cinética de remoción de fenol con microorganismos suspendidos e inmovilizados.

Bibliografía.

1. Doria M.C., Riva-Palacio G., Ruiz Treviño F.A. and Hernández-Esparza M. (2001) Physical characteristics of poly(vinyl alcohol) and calcium alginate hydrogels for the immobilization of activated sludge. *Biomacromolecules* 2(2) 568-574.
2. Livesy S.A., del Campo A.A., Nag A. (1994) Method of cryopreserving a suspension of biological material. *United States Patent Nov. 15, 1994.*

