

MICROINJERTOS CATIONICOS DE p(GMA) EN HDPE. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN POLÍMERO PARA INMOVILIZACIÓN BACTERIANA

Flavia Y. Quiroga y Mariano Grasselli

Laboratorio de Materiales Biotecnológicos, Dpto. de Ciencia y Tecnología (Universidad Nacional de Quilmes – IMBICE), Roque Sáenz Peña 352, (B1876BXD) Bernal, Argentina.
fquiroga@unq.edu.ar

Introducción

El empleo de técnicas de inmovilización celular puede presentar ventajas en la economía de un bioproceso al simplificar los métodos de separación y aumentar la estabilidad, viabilidad, reciclado y reutilización de la biomasa¹. Las técnicas de inmovilización más comunes implican el atrapamiento de los microorganismos en hidrogeles no tóxicos². Sin embargo, la aplicación de estas tecnologías puede limitarse debido a la baja resistencia química y mecánica de los materiales ante la agitación del reactor, y la disminución en la velocidad de transferencia de masa entre el medio de reacción y la célula³.

Los polímeros sintéticos termoplásticos poseen propiedades mecánicas que pueden ser aprovechadas para diseñar soportes de inmovilización celular. Dado que las bacterias son de superficie hidrofílica y en condiciones de pH fisiológico poseen una carga neta negativa⁴, la cationización de superficies y/o el aumento de su hidrofobicidad puede permitir el diseño de materiales en donde la biomasa esté confinada al soporte sin perder el contacto directo con el medio de reacción.

La técnica de polimerización de injertos inducida por radiación (RIGP) ha sido ampliamente empleada para la modificación de polímeros inertes. Esta técnica permite modificar materiales en una amplia variedad de formas y diseñar de manera controlada la densidad y tamaño de los injertos incorporados⁵.

El objetivo de este trabajo fue la síntesis y caracterización de HDPE modificado superficialmente con microinjertos cationizados que permitan inmovilizar bacterias. Se estudió la capacidad de adsorción e inmovilización de *Escherichia coli* sobre las superficies obtenidas, y se correlacionó este comportamiento con la información fisicoquímica y estructural de los materiales.

Metodología

Se modificó superficialmente HDPE por RIGP. Para ello se sumergió el polímero base en una solución etanólica de glicidilmetacrilato (GMA) al 3% v/v, y se irradió en una fuente de ⁶⁰Co (dosis total absorbida: 10 kGy). Posteriormente, los injertos epoxídicos de pGMA se derivatizaron con tres concentraciones de etilendiamina (EDA). Estos pasos fueron controlados por FTIR-ATR. Se determinó la morfología de la superficie y el espesor del injerto por microscopía electrónica de barrido con cañón de emisión de campo (FE-SEM). Por otra parte, se cuantificó la incorporación de grupos aminos mediante una adaptación de la técnica de *Fluorescence Labeling Of Surface Species* (FLOSS)⁶, que permite detectar fluoróforos en cantidades menores a 10⁹ moléculas/cm². Para ello se empleó fluoresceína y fluoresceína-5-isotiocianato (FITC) como marcadores de grupos aminos totales y primarios, respectivamente. Se midió la fluorescencia sobre la superficie del material adaptando un espectrofluorómetro de fibra óptica (*Nanodrop 3300*). Además,

se calculó el potencial zeta (ZP) de las superficies a distintos pH con el equipo *ZetaSpin*⁷. Se determinaron las componentes de tensión superficial e hidrofobicidad superficial (ΔG_{sws}) por medición de ángulo de contacto estático de acuerdo a van Oss *et al*⁸. Finalmente, se estudió la cinética de adsorción de una cepa recombinante de *E. coli*, determinando la cantidad de biomasa adsorbida al material a distintos tiempos, durante 300 minutos.

Resultados y discusión

La incorporación de los injertos de pGMA sobre el HDPE por RIGP y su posterior derivatización con EDA permitió obtener tres tipos de superficies diferentes (llamadas EDA2, EDA5 y EDA7). Las imágenes de FE-SEM mostraron en la superficie del HDPE injertos $< 3 \mu\text{m}$. La derivatización con EDA fue confirmada por FTIR-ATR y por fluorometría. La adaptación de la técnica de FLOSS permitió cuantificar grupos amino en un área de 0.1256 mm^2 . La densidad de grupos aminos totales se encontró entre los 6 a 96 pmol/cm^2 , y las aminas primarias entre 3 a 40 pmol/cm^2 . Estos resultados muestran que las condiciones de derivatización empleadas poseen una alta tasa de hidrólisis de los grupos epóxido, estimados en $150 \pm 15 \mu\text{mol/cm}^2$. El ZP de las superficies modificadas se incrementó, respecto al HDPE comercial, en 25 mV para EDA2 y EDA5, y en 87 mV para EDA7, en concordancia con la densidad de grupos aminos sobre el material. Por otra parte, la hidrofobicidad de la superficie aumentó considerablemente para EDA7 (ΔG_{sws} : -105.0 mJ/m^2) respecto al HDPE (ΔG_{sws} : -69.0 mJ/m^2), mientras que disminuyó para EDA2 y EDA5 (ΔG_{sws} : $-49,9 \text{ mJ/m}^2$ y $-34,5 \text{ mJ/m}^2$ respectivamente).

Las cinéticas de adsorción de *E. coli* mostraron un aumento en la velocidad y capacidad adsorptiva de los materiales modificados respecto al HDPE comercial. En particular, EDA7 tuvo la mayor capacidad de adsorción, lo cual se corresponde a un aumento en el potencial de superficie y de la hidrofobicidad, dos factores que favorecen la interacción con microorganismos.

Conclusiones

El RIGP permitió modificar la superficie de HDPE con un cepillo de microinjertos cationizados. Los materiales modificados presentaron las propiedades esperadas de adsorción de biomasa en el término de min-h. Se pudo correlacionar este comportamiento con un aumento en las interacciones electrostáticas e hidrofóbicas entre los materiales y las células. Estas propiedades los hacen interesantes para su estudio como potencial soporte de inmovilización para procesos bioprocesos con células enteras.

Referencias

1. P. Tufvesson *et al* (2010) *Food Bioprod. Process.* 88: 3-11.
2. K. Meena, T.K. Raja, (2006) *World J. Microbiol. Biotechnol.* 22: 651-653
3. B. Rosche *et al* (2009) *Trends Biotechnol.* 27: 636-642.
4. K. Hori, S. Matsumoto, (2010) *Biochem. Eng. J.* 48: 424-434
5. M Grasselli *et al* (2003) *J. Appl. Polym. Sci.* 87: 1646-1653
6. Y Xing, E Borguet (2007) *Langmuir* 23: 684-688
7. PJ Sides *et al* (2006) *Langmuir* 22: 9765-9769
8. C.J. van Oss *et al* (1988) *Langmuir* 4: 884-891.

F.Y.Q agradece al CONICET por subsidiar sus estudios de doctorado. M.G. es miembro del CONICET. Este trabajo fue parcialmente subsidiado por la UNQ, IAEA y el MINCyT.