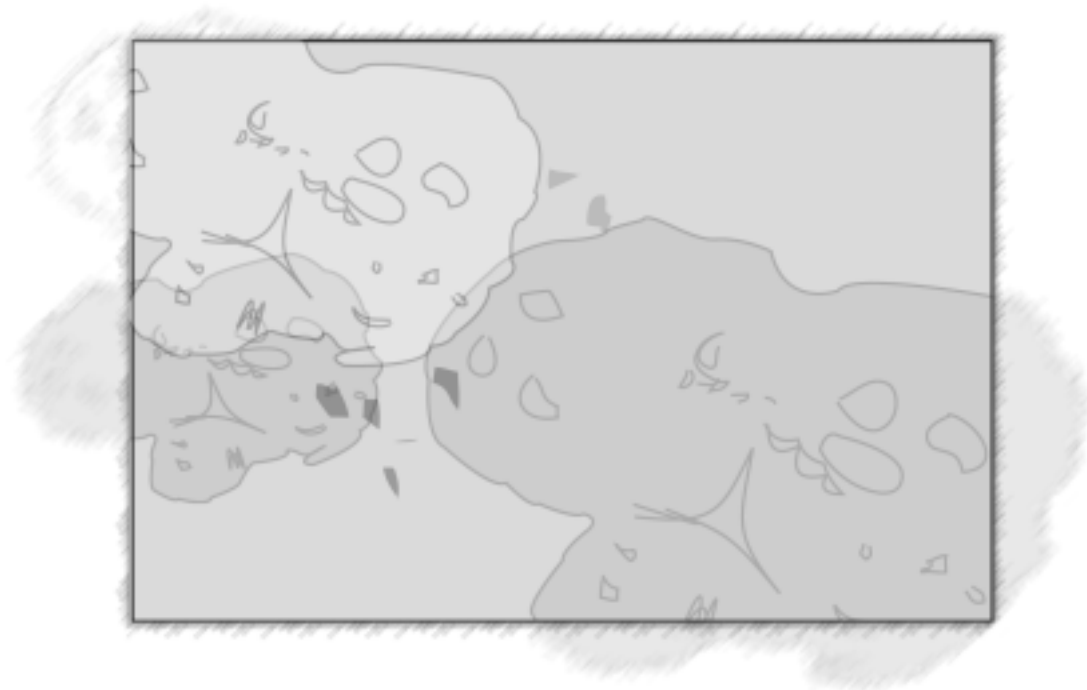


Avances en el uso del Sol-Gel



como material para inmovilizar sistemas biológicos

Ing. Rafael Pérez Bedolla*
y Dra. Ma. Rosario Peralta-Pérez**

En biotecnología podemos definir a la "inmovilización" como un proceso en el que se confinan o localizan enzimas o microorganismos en una región definida del espacio, dando lugar a formas insolubles que retienen la actividad catalítica de dichas sustancias.

Acerca de los autores...

* Profesora-Investigadora del Laboratorio de Catálisis Enzimática del TESE.

** Profesor-Investigador del Laboratorio de Catálisis Enzimática y estudiante de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica



Algunas de las ventajas de la inmovilización son las siguientes:

- Permite mejorar significativamente la estabilidad de la sustancia confinada. Por eso se aplica en la producción industrial de algunos productos químicos, farmacéuticos, en alimentos, en el procesamiento de residuos, así como en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades.
- Se logra conservar la actividad biológica por largo tiempo.
- Las sustancias se pueden reutilizar, por lo que disminuyen los costos del proceso.

Las moléculas inmovilizadas están unidas a un soporte insoluble en agua, restringiendo así su movilidad. Algunos de los soportes utilizados son:

- Resinas de intercambio iónico.
- Geles activados con bromuro de cianógeno.
- Poliacrilamida.
- Acetato de celulosa.
- Agar.
- Gelatina.
- Alginato.
- Sílices (precursores del óxido de silicio).

Hace 15 años, aproximadamente, surgió un proceso denominado sol-gel, éste utiliza alcóxidos metálicos como precursores para llevar a cabo el proceso que ha ganado importancia científica y tecnológica durante los últimos años. Este proceso ofrece un nuevo

acercamiento para la preparación de vidrios, cerámicas y actualmente para materiales con aplicación biológica. Por lo tanto, el sol-gel abre la posibilidad de obtener vidrios homogéneos y cerámicos a bajas temperaturas; la viscosidad que se logra cuando se forma un gel, es particularmente conveniente para recubrimientos.

En este sentido, un estudio pionero fue el realizado por Jonson en 1971, quien llevó a cabo el primer encapsulado enzimático utilizando la tripsina como sistema biológico en una matriz de silicio. Posteriormente Mosbach, en 1985, empleó glucosa oxidasa como sistema biológico y al tetraetoxisilano (TEOS) como precursor para el proceso sol-gel. Pero no fue sino hasta 1990 cuando se desató un torbellino de estudios con sistemas enzimáticos; Avnir y su equipo publicaron una serie de trabajos muy importantes sobre la generalización del sol-gel, basados en el encapsulamiento de enzimas (fosfatasa, tripsina, aspartasa, glucosa oxidasa, anhidrasa carbónica, quitinasa y monoamino oxidasa) en matrices de SiO_2 .

Ellerby y sus colaboradores, reportaron en 1992 la encapsulación de proteínas en geles usando una variación en la metodología sol-gel; asimismo, se reportó la encapsulación de la bacteria *Rodopsina* (BR) en geles, usando un método similar al sol-gel. Los estudios

espectrofotométricos demostraron que las BR mantenían sus propiedades sensitivas a la luz cuando se inmovilizaban dentro del gel y retenían su actividad biológica por largos periodos.

En cuanto a la inmovilización de células en sol-gel, ésta ha sido poco explorada y ya se han reportado usos con resultados positivos. Una nueva tecnología de inmovilización es el empleo de la técnica de sol-gel, como soporte para el crecimiento de microorganismos.

La biotecnología actualmente se ha desarrollado de una forma notable y es una de las disciplinas más importantes de la ciencia. El uso de microorganismos para desarrollar nuevas tecnologías, es un campo que está siendo explotado para dar solución a problemas actuales, pero en algunas ocasiones usa tecnologías caras, requiere de grandes inversiones y trae consigo daños al ambiente.

EL PROCESO SOL-GEL

Esta química produce una variedad de redes inorgánicas a partir de precursores de alcóxidos metálicos. Los más ampliamente usados son los alcóxidos silanos como el tetra-metoxisilano (TMOS) y el tetraetoxisilano (TEOS).

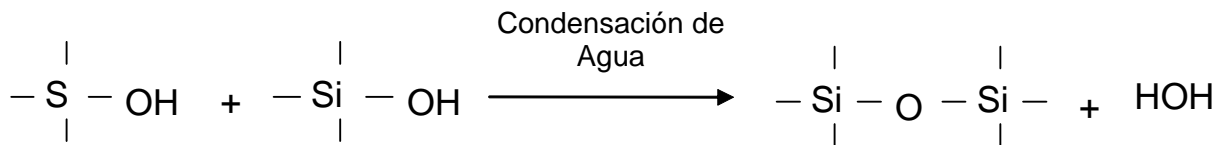
La química sol-gel se basa en reacciones inorgánicas de polimerización para obtener redes inorgánicas; el proceso inicia con la hidroxilación de

alcóxidos metálicos a través de la hidrólisis de grupos alcoxi, y es como sigue:

Dependiendo de las condiciones experimentales, ocurren dos cosas:

1. Olación: La formación de puentes hidroxilo mediante la eliminación de moléculas de solvente:

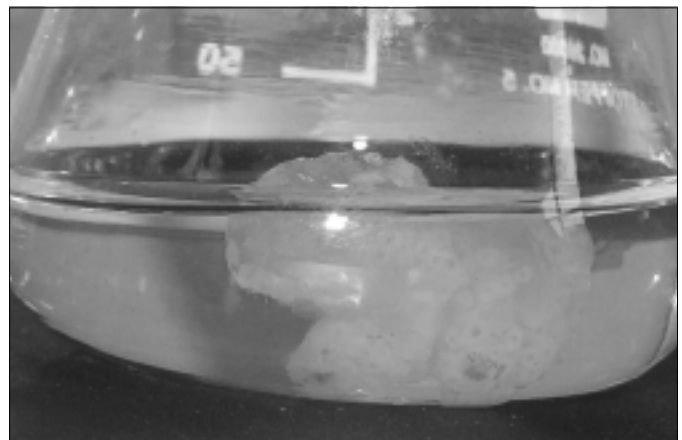
2. Oxolación: La formación de puentes de oxígeno a través de la eliminación de moléculas de agua o alcohol:



Estas tres reacciones (Hidrólisis, Olación y Oxolación) están involucradas en la transformación de alcóxidos metálicos precursores, en redes poliméricas de óxidos metálicos con porosidad definida.

La ruta sol-gel permite la obtención de una red sólida, ya sea inorgánica o híbrida, es decir, orgánica-inorgánica (ORMOSILS), a partir de reactivos en estado líquido que constituyen el sol de partida. Esta red, obtenida por el secado a temperatura ambiente del gel húmedo, se caracteriza por poseer una alta porosidad y superficie específica. Esta alta porosidad constituyó, en un principio, uno de los inconvenientes a superar, cuando en los albores de la tecnología sol-gel, el objetivo principal estaba encaminado a la obtención de vidrios densos. Por el contrario, actualmente la porosidad es un valor añadido de los materiales obtenidos a través de esta vía, ya que en ella se puede albergar una segunda fase, constituyendo un material compuesto.

Los materiales sol-gel presentan un gran potencial como plataformas para sensores químicos, debido a varias razones. El procesado a temperatura ambiente permite la incorporación de moléculas o agentes sensibles a la temperatura,



Organismo inmovilizado

en una matriz porosa sin necesidad de modificaciones químicas. Además, los materiales sol-gel tienen otras propiedades interesantes, como la transparencia óptica en el visible y en el infrarrojo cercano, la estabilidad térmica, la baja reactividad química y, lo más importante, se pueden hacer modificaciones en el procesado, que permitan ajustar sus propiedades fisicoquímicas de acuerdo con las necesidades de la aplicación.

La transparencia de los geles obtenidos con la técnica sol-gel, su estabilidad y su habilidad para atrapar grandes moléculas de proteínas y pequeñas moléculas orgánicas e inorgánicas, así como su gran superficie, los hacen únicos para equipos de diagnóstico de fotodetección, así como la preparación de catalizadores industriales.

Los trabajos efectuados reportan resultados con enzimas y proteínas, pero un sistema poco explorado es la inmovilización de hongos; estos juegan un papel ecológico importante, en particular el basidiomiceto *P. chrysosporium* que pertenece al grupo de los llamados "hongos de la pudrición blanca" y posee una gran capacidad degradativa, gracias que produce enzimas extracelulares, lo cual le permite degradar lignina y una gran diversidad de compuestos tóxicos.

P. chrysosporium actualmente es objeto de estudios, que se pueden complementar con el uso de nuevas tecnologías y realizar desarrollos tecnológicos, como por ejemplo la "tecnología sol-gel". Una posibilidad es el uso del sol-gel para la inmovilización del hongo y obtener un polímero de sílice que preserve la bioactividad y pueda aplicarse a sistemas como la biorremediación.

¿Qué se hace en el Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec?

El área de la biorremediación es objeto de estudio por parte de los grupos de investigación del TESE.

Actualmente se está concluyendo un trabajo de investigación en el cual se utiliza el proceso sol-gel para inmovilizar al hongo filamentoso *P. chrysosporium* A594 como sistema biológico y el tetrametoxisilano (TMOS) como precursor; éste fue financiado por el Consejo del Sistema Nacional de Educación Tecnológica, con la Clave 1017.03-P.

El basidiomiceto *P. chrysosporium* es un hongo filamentoso con capacidad para degradar lignina y una gran diversidad de fenilpropanos relacionados a componentes poliméricos de la madera. Estos organismos también degradan un rango verdaderamente sorprendente de compuestos xenobióticos utilizando enzimas intra y extracelulares. Como ejemplos, el hongo tiene la capacidad de degradar benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos (también llamados compuestos BTEX); compuestos clorados, tales como 2,4,5-tricloroetileno (TCE), y triclorofenoles. Como podemos ver, el hongo *P. chrysosporium* posee una gran capacidad degradativa.

Una nueva tecnología de inmovilización es el empleo de la técnica de sol-gel con microorganismos, con la finalidad de que a futuro se estudie la producción de sus enzimas en este sistema inmovilizado. En la literatura se ha trabajado con encapsulación de enzimas y proteínas, pero no hay trabajos que indiquen la encapsulación o inmovilización de hongos filamentosos.

Este tipo de tecnología nos permite tener una visión más amplia del futuro del sol-gel en la biotecnología, la intención de este estudio es que con el tiempo se obtengan resultados que puedan ser aplicados a la naturaleza y al sector productivo.

1. H. H. Weetall; B. Robertson; D. Cullin; J. Brown and M. Walch, "Bacteriorhodopsin immobilized in sol-gel glass", *Biochim. Biophys. Acta*, 1142, 1993, pp. 211-213.

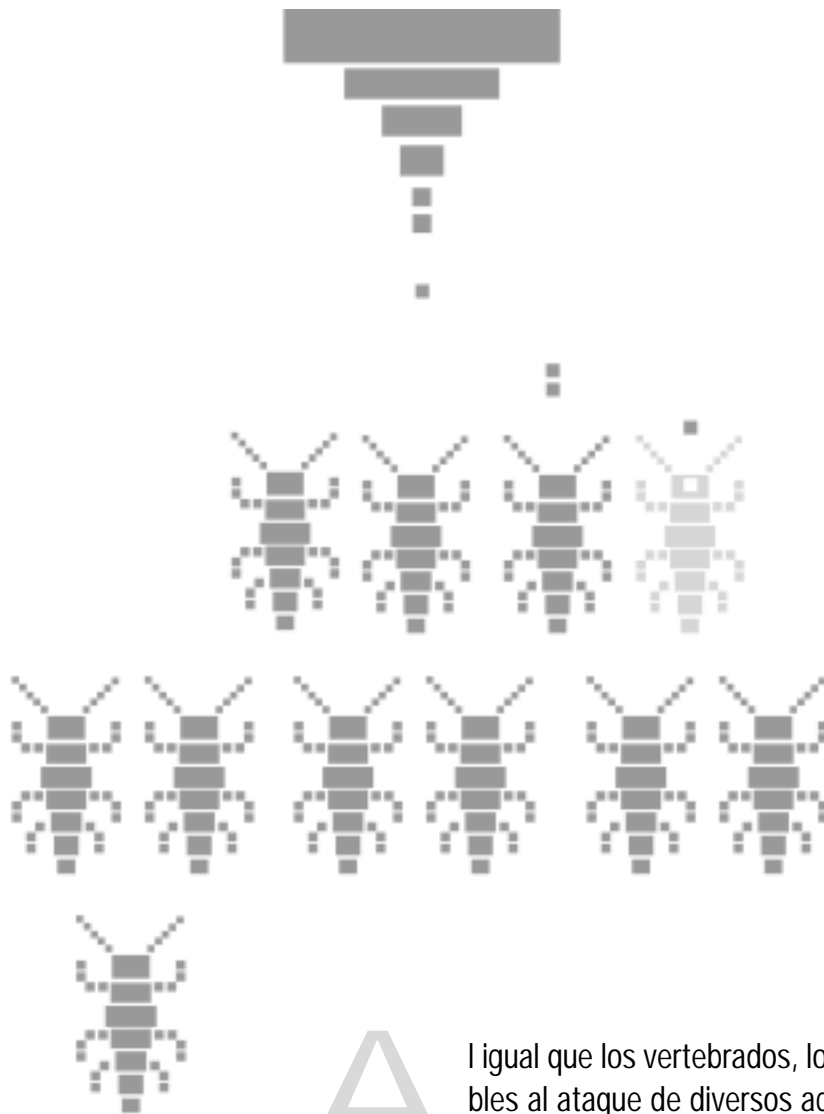
2. Jyh-Ping Chen, Wei-Shin Lin, "Sol-gel powders and supported sol-gel polymers for immobilization of lipase in ester synthesis", *Enzyme and Microbial technology* 32, 2003, pp. 801-811.

3. L. M. Ellerby; C.R. Nishida; F. Nishida; S. A. Yamanaka; B. Dunn; J. S. Valentine and J. I. Zink, "Encapsulation of proteins in transparent porous silicate glasses prepared by the sol-gel method", *Science*, 255, 1992, pp. 1113-1115.

4. M. T. Reetz, "Entrapment of Biocatalysts in Hydrophobic Sol-Gel Materials for Use in Organic Chemistry", *Adv. Mater.* 1997, 9, No.12, pp. 943-954.

5. P. Audebert; C. Demaille and C. Sanchez, "Electrochemical probing of the activity of glucose oxidase embedded sol-gel matrices", *Chem. Matter.*, 5, 1993, pp. 911-913.

6. Shuguang Wu; Lisa M. Ellerby; J. S. Cohan; Bruce Dunn; M.A. El-Sayed; J. Selverstone, Valentine and Jeffrey I. Zink, "Bacteriorhodopsin Encapsulated in Transparent Sol-Gel Glass: A New Biomaterial", *Chem. Matter.*, 5, 1993, pp. 115-120.



Al igual que los vertebrados, los insectos son también susceptibles al ataque de diversos agentes patógenos, entre éstos se cuenta a diversos organismos infecciosos, tales como virus, bacterias, hongos, protozoarios, nemátodos, etcétera. El conocer que este amplio espectro de organismos tienen la posibilidad de causar enfermedad y muerte dentro de las poblaciones de insectos, ha permitido plantear estrategias de control y combate natural (*control biológico*) sobre diversas especies, que en algún momento se hayan constituido en plagas dañinas.

Lograr el combate de algún insecto-plaga mediante control biológico, requiere propiciar el contacto entre el agente microbiano entomopatógeno y el insecto hospedero, posibilitando así la enfermedad y muerte de este último. Este contacto suele darse en forma natural en un pequeño porcentaje de la población de insectos, pudiendo ocurrir un decremento importante de individuos cuando ocurre una epidemia. Sin embargo, el control de plagas no puede estar supeditado a que en un momento determinado suceda una epidemia natural, por lo que el control efectivo de insectos-plaga, sólo puede lograrse con la liberación masiva y periódica de agentes entomopatógenos obtenidos en cultivos *in vitro*.

Acerca de los autores...

- 1 Profesor de la División de Posgrado de Ingeniería Química e investigador en el Laboratorio de Biotecnología Ambiental.
- 2 Profesor de la División Posgrado de Ingeniería Bioquímica e investigador en el Laboratorio de Biotecnología Ambiental.