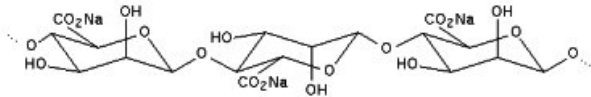


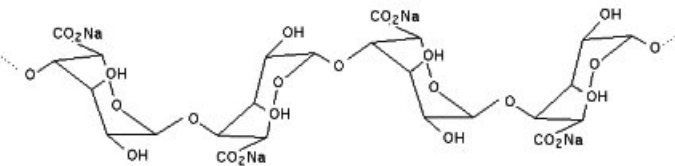
Immobilizzazione di cellule di lievito in un gel di alginato

L'alginato

L'alginato è un co-polimero lineare di acido β -D-Mannuronico e acido α -L-Guluronico prodotto da numerose specie vegetali (alghe e piante). Il rapporto tra i due zuccheri acidi può variare a seconda della specie e delle condizioni di crescita per cui è possibile distinguere nel polimero blocchi ricchi in acido mannuronico e blocchi ricchi in acido guluronico.

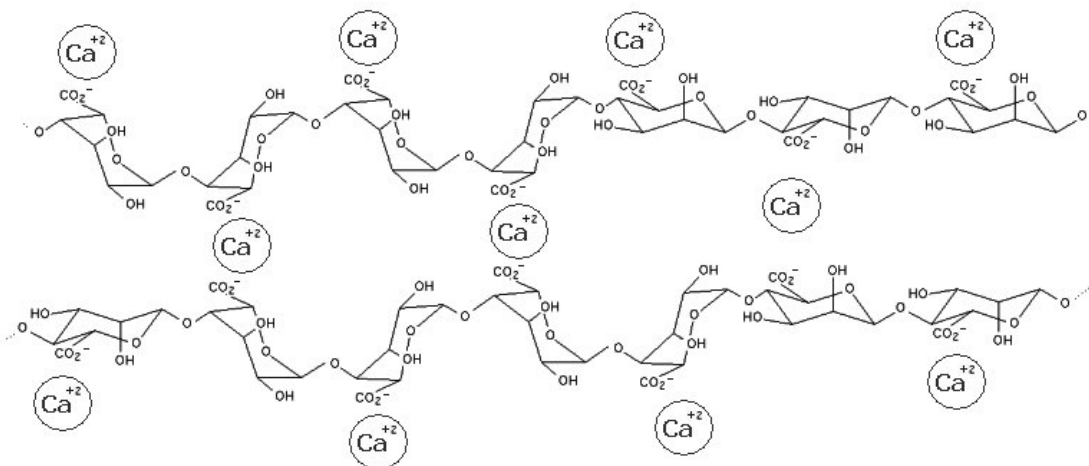


Sale sodico dell'acido poli-mannuronico



Sale sodico dell'acido poli-guluronico

La presenza di zuccheri acidi conferisce alla molecola la capacità di legare cationi bivalenti, in particolare ioni Calcio. Questi ioni possono formare legami crociati interagendo con i residui carbossilici di zuccheri non adiacenti appartenenti a molecole diverse. Il prodotto risultante è un gel con una struttura più o meno rigida all'interno della quale è possibile intrappolare molecole di varie dimensioni. La diffusione all'esterno del gel delle molecole intrappolate è in funzione della grandezza delle molecole stesse e del grado di cross-linking del polimero, questo ultimo influenzato dalla concentrazione dell'alginato, la sua composizione e la concentrazione di ioni calcio.



Alginato di calcio

I blocchi ricchi in acido poli-guluronico sono in grado di legare gli ioni calcio in maniera più efficiente dei blocchi ricchi in acido poli-mannuronico, anche se la formazione dei legami crociati è fortemente influenzata dalla distribuzione dei differenti blocchi di zuccheri all'interno del polimero. Sebbene formino gel più rigidi gli alginati ricchi in acido guluronico trovano impiego solo nell'alimentazione di animali, mentre l'alginato utilizzato nell'industria alimentare e farmaceutica ha bassi contenuti in acido guluronico.

Materiali

Alginato di sodio 4% (4 grammi in 100 ml di acqua)
Cellule di lievito (10 grammi in 100 ml di acqua)
CaCl₂ 2% (2 grammi in 100 ml di acqua)
Soluzione di saccarosio

Procedura

Mescolare in parti uguali la sospensione di cellule (5 ml) e la soluzione di alginato (5 ml) e trasferire il contenuto della miscela in una siringa da 10 ml. Con l'ausilio della siringa gocciolare, sempre sotto agitazione magnetica, la sospensione omogenea precedentemente ottenuta in 100 ml di una soluzione al 2% di CaCl₂ in acqua. Quando le gocce raggiungono la soluzione di CaCl₂ l'alginato reagisce con gli ioni Ca²⁺ e gelatinizza, formando delle sferette del diametro di 2-3 mm. Controllare che l'agitazione non sia troppo intensa altrimenti si ottengono particelle di forma non regolare. Una volta terminata l'aggiunta continuare ad agitare le sferette di alginato per altri 15 -20 minuti e quindi lavarle più volte con acqua, decantando il liquido di lavaggio.

Se necessario, le sferette possono essere passate in un bagno di indurimento costituito da 100 ml di una soluzione acquosa 0.1 M di Al₂(SO₄)₃. Lasciare le sferette in questa soluzione sotto agitazione magnetica per 15-20 minuti e quindi ripetere le operazioni di lavaggio precedentemente descritte. L'indurimento è necessario perché se si usa il lievito immobilizzato per effettuare la fermentazione alcolica è possibile che le sferette si disgreghino sotto l'azione meccanica dell'agitazione o per lo sviluppo della CO₂, formando così una miscela viscosa.

Il lievito immobilizzato dovrebbe essere utilizzato al più presto anche se può essere conservato in forma attiva per molti giorni mantenendolo sempre in soluzione acquosa ed in frigorifero. Con questo biocatalizzatore immobilizzato è possibile condurre la fermentazione alcolica utilizzando come substrato una soluzione acquosa di saccarosio, il comune zucchero da cucina.

