



## MEDICIÓN DE LA PERMITIVIDAD EN LÍNEA PARA LA EVALUACIÓN DE LA BIOMASA VIABLE EN UN CULTIVO DE *Kluyveromyces marxianus*.

Alejandro Arana-Sánchez<sup>1</sup>, Emilie Amillastre<sup>1</sup>, Cynthia Zamora-Pedraza<sup>1</sup>, Jesús Cervantes-Martínez<sup>1</sup>, Javier Arrizon-Gaviño<sup>1</sup>, Enrique Jaime Herrera-López<sup>1</sup>, Laurence Preziosi-Belloy<sup>2</sup>, Charles Ghommidh<sup>2</sup> y Anne Gschaedler-Mathis<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A. C. (CIATEJ), Zapopan, Camino arenero No. 1227, CP 45019

<sup>2</sup>Université Montpellier 2, Place Eugène Bataillon, CC023, 34095, Montpellier Cedex 05, Francia  
aarana@ciatej.mx

*Palabras clave:* Permitividad, biomasa, *kluyveromyces*.

**Introducción.** Dentro de los bioprocesos, la biomasa y más aún la viabilidad, se obtiene principalmente de mediciones fuera de línea. La evaluación de la biomasa viable es muy importante para el entendimiento y mejora del metabolismo celular y así alcanzar un eficiente control de los mecanismos de interés. Las mediciones fuera de línea son insuficientes para el desarrollo de estrategias de control en tiempo real, las cuales nos permitirían optimizar el potencial de los microorganismos al desarrollar procesos de alto rendimiento<sup>1</sup>. El objetivo de este trabajo se centra en correlacionar técnicas fuera de línea ampliamente utilizadas en los cultivos celulares con la permitividad medida en línea para un eventual control del proceso.

**Metodología.** Se realizó un cultivo por lote en bioreactor (2.0L) utilizando *Kluyveromyces marxianus* en un medio químicamente definido a 30°C y 100g/L de glucosa. Se tomaron muestras desde la fase de latencia hasta la fase estacionaria. Los análisis realizados fueron: peso seco, conteo al microscopio con tinción de azul de metileno y conteo de células con un equipo especializado (CASY, Alemania)<sup>2</sup>. La Permitividad se midió en línea, utilizando la sonda FOGALE (Francia)<sup>3</sup>. Los datos obtenidos fueron graficados y ajustados a un modelo lineal para verificar la correlación.

**Resultados.** Se correlacionaron la densidad óptica y el peso seco contra la permitividad (Fig. 1). En ambos casos la sonda de FOGALE permitió seguir la dinámica poblacional en tiempo real.

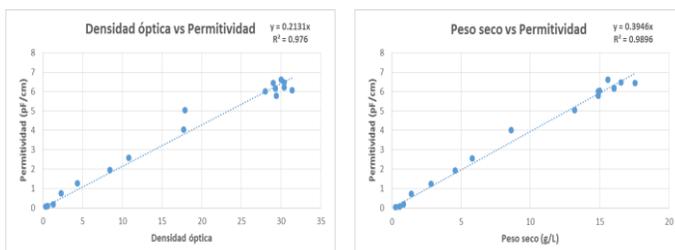


Fig. 1. Correlación entre densidad óptica y peso seco contra permitividad. (1A) R<sup>2</sup>=0.976, (1B) R<sup>2</sup>=0.9896

En cuanto a la correlación de la permitividad contra los conteos celulares, las correlaciones resultaron

satisfactorias (Fig. 2), aunque con diferencias entre sí, ya que el conteo al microscopio presentó el más bajo coeficiente de correlación (0.9221), lo que se explica por la diferencia en el número de células contabilizadas, que es alrededor de 300, mientras que con el CASY se cuentan aproximadamente 5X10<sup>5</sup>. De entre estas dos técnicas, el conteo con el equipo CASY presenta menos error, ya que es más sencillo para el operador estandarizar una metodología de diluciones que ajustar criterios de conteo como la gemación y los límites al utilizar una cámara de Neubauer bajo el microscopio.

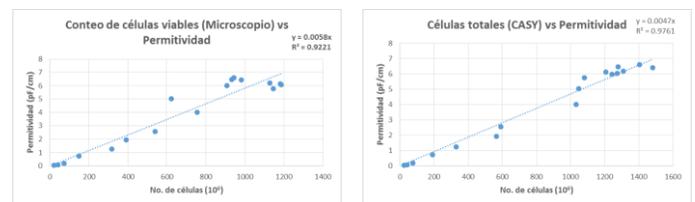


Fig. 2. Correlación entre ambos conteos celulares contra Permitividad. (2A) R<sup>2</sup>=0.9221, (2B) R<sup>2</sup>=0.9761

**Conclusiones.** Se demostró que la medición de la permitividad en línea utilizando la sonda FOGALE muestra la cinética de la biomasa viable en un cultivo de *Kluyveromyces marxianus*, con la cual es posible seguir en tiempo real el crecimiento celular del cultivo de principio a fin. La permitividad en línea es una herramienta poderosa que ahorra tiempo y evita tomar muestra, lo que reduce considerablemente el riesgo de contaminación del sistema. Finalmente, el conocimiento sobre el estado de la biomasa y su cuantificación, nos permitiría desarrollar estrategias de control para futuras experimentaciones.

**Agradecimiento.** A CONACYT por el apoyo al proyecto SPECTRE (ID 162712) y por la beca otorgada.

### Bibliografía.

- Konstantinov, K. B. (1996). Monitoring and control of the physiological state of cell cultures. *Biotechnol. Bioeng.* **52**, 271–89.
- Tibayrenc, P., Preziosi-Belloy, L. & Ghommidh, C. (2011). On-line monitoring of dielectrical properties of yeast cells during a stress-model alcoholic fermentation. *Process Biochem.* **46**, 193–201.
- Tibayrenc, P., Preziosi-Belloy, L., Roger, J.-M. & Ghommidh, C. (2010). Assessing yeast viability from cell size measurements? *J. Biotechnol.* **149**, 74–80.