



COMPORTAMIENTO ÓPTICO Y POSICIÓN ESPACIAL DE LAS ESTRUCTURAS COMPLEJAS PRESENTES EN SISTEMAS MODELO DE FERMENTACIÓN MULTIFÁSICA

M. S. Córdova^{1*}, O. Escobar¹, J. B. Brière², B. Taboada², R. Díaz-Urbe², G. Corkidi² y E. Galindo¹

¹Instituto de Biotecnología, ²Centro de Ciencias Aplicadas y Desarrollo Tecnológico, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. Postal 510-3, Cuernavaca, Morelos, 62250, MEXICO. Fax: (777) 3 13 88 11, email: cordova@ibt.unam.mx

Palabras clave: dispersión, burbujas, aceite

Introducción. La producción industrial de una gran variedad de metabolitos primarios y secundarios (como enzimas y antibióticos) y diversos procesos industriales involucran dispersiones multifásicas. Sistemas que simulan el cultivo de *Trichoderma harzianum* creciendo en un aceite vegetal, se han utilizado en nuestro laboratorio como modelo de estudio para caracterizar las dispersiones por análisis de imágenes/microscopía (1). Esto proporciona información de la distribución de tamaños de las fases orgánica y gaseosa y por tanto, del área interfacial y de la transferencia de masa. Asimismo, se ha observado la formación de estructuras complejas como las burbujas de aire atrapadas en gotas de aceite (1) y lo que parecen ser pequeñas gotas de la fase acuosa. En este trabajo se utilizaron dos enfoques: el análisis micro-estereoscópico (2) y la óptica paraxial (3) para determinar la posición espacial de las burbujas de aire y gotas de aceite e identificar la naturaleza de las microgotas en sistemas trifásicos que contenían proteína.

Metodología. Se utilizó un tanque de mezclado de 6.7 L, con una turbina Rushton (D/T=0.5), 200 rpm y un flujo de aire de 0.5 vvm. La fase continua fue una solución acuosa con sales. Se adicionó 0.02 g/L de albúmina sérica. La fase dispersa fue aceite de ricino al 5 % (v/v). La tensión superficial se midió con el método de plato Wilhelmy. El par estereoscópico (2) se adquirió acoplado dos cámaras de video a los oculares del microscopio, sincronizadas con el disparo de luz y la adquisición de la imagen. Se aplicaron algoritmos para: la codificación del par estereoscópico en rojo y cian, la alineación de las imágenes en función de los objetos de referencia, la segmentación automática de gotas y burbujas y el cálculo de las profundidades entre ellas. Por otra parte, se colocó una cubeta de poliestireno (Bio-Rad, 12.5 x 45mm) con la división del plano, es decir, pintada de color negro (en la parte inferior) y transparente (en la superior), en la sonda de luz (3) para generar imágenes invertidas o derechas a través de las estructuras, considerando que las gotas de aceite, microgotas y burbujas se comportan como lentes. En forma manual, el usuario midió el diámetro de 500 objetos por muestra y clasificó las estructuras, comparando resultados con los obtenidos por el enfoque estereoscópico.

Resultados y discusión. Se observó que en el sistema con proteína, el 60 % de las gotas de aceite son *gotas multifásicas* (figura 1a), es decir, contienen burbujas de aire y microgotas dentro, mientras que en el sistema sin proteína (figura 1b), las gotas de aceite presentan muy pocas microgotas y sólo el 20 % de las burbujas de aire están dentro de las gotas. Analizando el comportamiento óptico de las *gotas multifásicas* (figura 2), se identificó que las microgotas forman imágenes virtuales o

derechas y se comportan como lentes negativas, por tanto, son de la fase acuosa y en todos los casos están dentro de las gotas de aceite, las cuales forman imágenes invertidas y se comportan como lentes positivas.

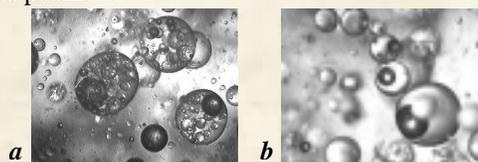


Figura 1. Gotas de aceite, burbujas de aire y microgotas de sistemas a) con albúmina sérica (0.02g/L); b) sin proteína.

Decodificando las imágenes estereoscópicas (figura 3), se logró visualizar 14 % más de burbujas dentro de las gotas que con el método manual, además de descartar los traslapes de imágenes provenientes de planos diferentes.

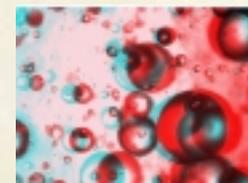
Figura 2. Imágenes obtenidas con la división del plano: a) imagen invertida = lente positiva (gota de aceite); b) imagen derecha = lente negativa (gota de agua).



b) gota de agua

Conclusiones. Ambas herramientas complementan el método manual de análisis y permiten determinar la ubicación y naturaleza de las microgotas, además de discriminar cuantitativamente las burbujas de aire atrapadas en las gotas de aceite de las traslapadas y libres en la fase acuosa.

Figura 3. Par estereoscópico de un sistema con albúmina sérica (0.02g/L).



Agradecimientos. Apoyo financiero de DGAPA-UNAM (proyecto IN 111105) y CONACyT (proyecto U44098-Z).

Bibliografía

- Galindo, E., Larralde, P., Brito, T., Córdova, M.S., Taboada, B., Vega, L. and Corkidi, G. (2005) Development of advanced image-analysis techniques for the in situ characterization of multiphase dispersions occurring in bioreactors. *J. Biotechnol.* 116: 261-270.
- Brière, J.B., Córdova, M. S., Galindo, E. and Corkidi, G. (2004) Determinación de la posición espacial tridimensional de burbujas de aire y gotas de aceite en procesos simulados de fermentación multifásica, a partir de imágenes estereoscópicas. Memorias del XIX Congreso de Instrumentación, SOMI, Pachuca, Hidalgo.
- Escobar O., Córdova-Aguilar M.S., Galindo E., Corkidi G. (2004) Identificación de gotas multifásicas por un enfoque óptico. Memorias del XLVII Congreso Nacional de Física, Sociedad Mexicana de Física, Hermosillo, Sonora.