



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



DETERMINACIÓN DE LA IMPEDANCIA DE UN MEDIO DE CULTIVO Y SUS COMPONENTES EN CONDICIONES DE FERMENTACIÓN PARA EL ESTABLECIMIENTO DE ESTUDIOS DE DIFERENCIACION CELULAR EN *Bacillus thuringiensis*.

Jabel Dinorín Téllez Girón, Víctor Eric López Y López. Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Tlaxcala C.P. 90700. vlopezyl@ipn.mx

Palabras clave: Espectroscopia de Impedancia, Análisis en línea, Diferenciación celular.

Introducción. En bioprocesos, muchas técnicas de análisis en línea no nos proporcionan información referente al estadio metabólico de las células, al consumo de sustratos y/o la producción de metabolitos. Sólo hasta que las muestras se analizan fuera de línea se puede tener una información del bioproceso, si este se llevó a cabo dentro de rangos ideales, para lo que fue propuesta la espectroscopia de impedancia, una técnica que ha sido utilizada para monitorear las propiedades dieléctricas de muchos materiales, entre ellos las células y medios de cultivo. Esta técnica tiene la ventaja de monitorear un proceso en línea, no es invasiva, es precisa y nos permite conocer el estado metabólico de las células de manera inmediata.

El objetivo de este trabajo fue el de determinar las bases de medición para identificar la señal de impedancia de un medio de cultivo y sus componentes utilizado en la producción industrial de *Bacillus thuringiensis*. Esto establecerá las bases de análisis para llevar a cabo estudios de diferenciación celular de microorganismos.

Metodología. En base a la composición del medio de Farrera et al.(1), se prepararon soluciones a diferentes concentraciones de componentes de este medio y se les analizó la impedancia en un rango de frecuencia de 42 Hz a 5 MHz y una corriente de 0.01 a 99.99 mA. Por otro lado, se le midió la impedancia al medio de Farrera a diferentes condiciones de agitación, aireación, pH, volumen, concentración y vvm en las cuales se realizaran posteriores fermentaciones. Para los análisis de impedancia: se utilizó un fermentador BIOSTAT APLUS de 5 L y se montaron en la tapa del fermentador 2 sondas construidas en placa de acero inoxidable que van conectadas al analizador de impedancia HIOKI 3532-50.

Resultados. En la Fig. 1 se observa la comparación de la impedancia de las soluciones de algunos componentes del medio de Farrera, del agua y del medio formulado. La glucosa, agua, $ZnSO_4$ y $CuSO_4$ muestran valores de impedancia altos en solución independiente, sin embargo en el medio formulado los valores de impedancia son mucho menores (Fig. 2). Esto es de suma importancia ya que obtenemos un perfil característico de impedancia únicamente relacionado con el medio de cultivo, permitiendo establecer las bases de medición y determinar con mayor exactitud los cambios de valores de impedancia correspondiente al estadios metabólicos de células de *B. thuringiensis* en estudios posteriores.

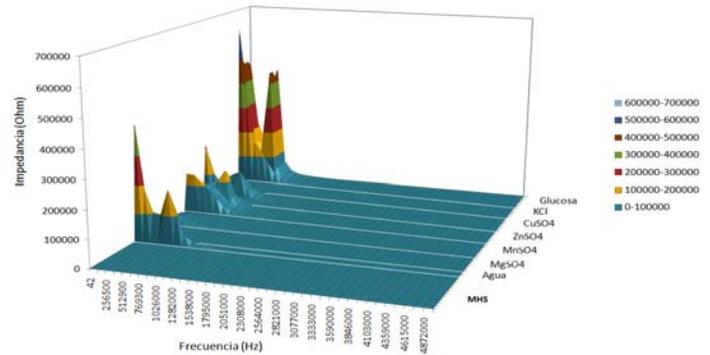


Fig. 1. Barridos de impedancia de agua, soluciones de componentes y del medio de Farrera formulado (MHS) a 20 mA.

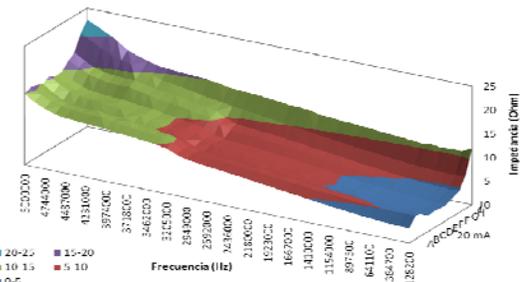


Fig. 2. Impedancia de medio de Farrera medida a 20 mA bajo las siguientes condiciones:

- Descenso de temperatura, pH 2, sin agitación, sin aireación,
- 25°C, pH 2, sin agitación, sin aireación,
- 30°C, pH 2, 600 rpm, sin aireación,
- 30°C, pH 7.2, 600 rpm, sin aireación,
- 30°C, pH 7.2, 600 rpm, 0.5 vvm,
- 30°C, pH 7.2, 600 rpm, 1 vvm,
- 30°C, pH 7.2, 600 rpm, 1 vvm, 3.5 L,
- 30°C, pH 7.2, 600 rpm, 1 vvm, 3.0 L,
- 30°C, pH 7.2, 600 rpm, 1 vvm, 2.0 L,
- 30°C, pH 7.2, 600 rpm, 1 vvm, 1.0 L.

Conclusiones. Con los resultados obtenidos del análisis de impedancia del medio de cultivo, observamos que éste podría no causar interferencia en los valores de impedancia que resulten de las señales que se realicen posteriormente en las fermentaciones de *Bacillus thuringiensis* en este medio para el estudio del proceso de diferenciación celular.

Agradecimiento. Al proyecto Ciencia Básica 83057 y la beca otorgada por CONACyT. Núm. de becario: 103991 y al Proyecto SIP 20110347.

Bibliografía.

- Farrera RR, Pérez-Guevara F, de la Torre M. (1998). *Appl Microbiol Biotechnol* (49): 758-765.