



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



AVANCES RECIENTES EN EL USO DE TÉCNICAS AVANZADAS DE ANÁLISIS DE IMÁGENES PARA ENTENDER LA DISPERSIÓN MULTIFÁSICA QUE OCURRE EN FERMENTACIONES

Enrique Galindo, Alfonso Rojas, María Soledad Córdova-Aguilar y Gabriel Corkidi
Instituto de Biotecnología -UNAM, Apdo. Postal 510-3, Cuernavaca, Morelos, 62250, México. fax: (777)3138811,
email: galindo@ibt.unam.mx.

Palabras clave: análisis de imágenes, fermentaciones, T. harzianum.

Introducción. Nuestro grupo de investigación desde hace varios años se ha enfocado a entender los mecanismos que dictan el transporte de nutrientes -a nivel microscópico- en los procesos multifásicos de fermentación, mediante el diseño y aplicación de técnicas avanzadas de análisis de imágenes (1,2). Con este enfoque y utilizando la producción de γ -decalactona (aroma característico a durazno) por *Trichoderma harzianum* como sistema modelo multifásico, hemos podido observar, documentar y caracterizar cuantitativamente las gotas de aceite y las burbujas de aire que se encuentran dispersas y moviéndose a alta velocidad dentro del tanque, además de estudiar la formación de estructuras multifásicas (introducción de burbujas de aire y de microgotas de agua dentro de las gotas de aceite). En este trabajo se presentan los avances más recientes sobre la aplicación de técnicas de análisis de imágenes y nuevos enfoques experimentales que hemos implementado para estudiar detalladamente la dispersión multifásica tanto en sistemas modelo como en un proceso de fermentación real.

Metodologías. La observación de los mecanismos de formación de gotas compuestas se hizo evaluando cuatro condiciones experimentales modificando la tensión superficial de algunos sistemas con 0.2 g/L de BSA, 0.2 g/L Tween 40 como surfactante o incorporando 0.2 g/L de micelio disperso de *T. harzianum* y de acuerdo a la metodología reportada en (3). Se registraron y contaron las colisiones al igual que el número de burbujas incluidas en las gotas de aceite. Por otra parte, se obtuvieron videos de la dispersión de una fermentación con *T. harzianum* utilizando un sistema de videoendoscopia de alta velocidad, colocando el endoscopio a 1 cm de la pared del tanque y a 1.5 cm del impulsor. Se usó 10 % v/v de aceite de ricino como fuente de carbono y las condiciones de operación reportadas previamente (4).

Resultados. En los experimentos donde se analizan los mecanismos de formación de estructuras, se observó que en algunos casos la inclusión de las burbujas de aire dentro de las gotas de aceite ocurre cuando estos objetos entran en contacto unos con otros (figura 1), aún cuando la colisión directa entre sí no siempre sigue la misma trayectoria. Además, cuando la burbuja de aire se aproxima a la gota de aceite, en algunos casos se

observó un efecto de rebote sobre la gota de aceite (figuras 1b, 1c) antes de incluirse en ella. La presencia de biomasa en el sistema favoreció la inclusión de aire dentro del aceite hasta en un 61 % de los impactos, lo que indica que no sólo la tensión superficial es un factor determinante en la inclusión sino que también la biomasa interfiere mecánicamente en la superficie de contacto entre la gota de aceite y la burbuja de aire haciendo inestable la gota de aceite. Con respecto a la caracterización de un proceso real de fermentación, se visualizaron estructuras complejas similares a las observadas en los sistemas modelo. Esto demostró que los sistemas modelo fueron capaces de simular el comportamiento de un proceso real. Actualmente se trabaja en estrategias para resolver limitaciones de visualización en tiempos posteriores a las 36 h de cultivo.

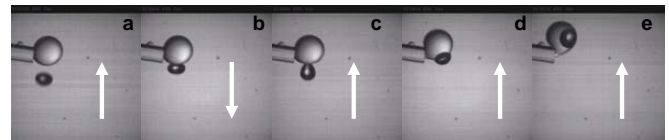


Fig. 1 Secuencia de imágenes que muestran la inclusión de una burbuja de aire dentro de una gota de aceite.

Conclusiones. La colisión directa no parece ser la única causa de la inclusión de burbujas dentro de las gotas. Un cierto tiempo de contacto entre la burbuja y la gota es necesario para que la inclusión ocurra. El incremento dramático de inclusiones por la presencia de biomasa se debe principalmente a un efecto mecánico, con una contribución menor de la tensión superficial del sistema.

Agradecimiento. Apoyo financiero de CONACyT (proyecto 129676). Apoyo técnico de J. Iguíniz y D. Cuervo por proporcionar la biomasa utilizada en el trabajo.

Bibliografía.

- Galindo, E., Larralde, P., Brito, T., Córdova, M.S., Taboada, B., Vega, L. y 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.
- Guevara-López, E., Sanjuan-Galindo, R., Córdova-Aguilar, M.S., Corkidi, G., Ascanio, G. y Galindo, E. (2008) High-speed visualization of multiphase dispersions in a mixing tank. *Chem Eng. Res. Des.* 86: 1382-1387.
- Corkidi, G., Rojas, A., Córdova-Aguilar, M.S., Pimentel, A. y Galindo, E. (2009) Visualization of complex drop formation in multiphase fermentations. *Procc. 8th World Congress of Chemical Engineering*, Montreal, 23 – 27 de Agosto.
- Serrano-Carreón, L., Flores C., Galindo E. (1997) γ -Decalactone production by *Trichoderma harzianum* in stirred bioreactors, *Biotechnol. Prog.* 13: 205-208.