

# DESARROLLO DE UN SISTEMA DE ESCALAMIENTO DESCENDENTE PARA SIMULAR GRADIENTES DE pH EN CULTIVOS BACTERIANOS Y DE CELULAS ANIMALES.

José A. Serrato, Edgar A. Sandoval, Juan M. Salazar, Mireya Gallegos, Vanessa Hernández, y O. Tonatiuh Ramírez  
Departamento de Bioingeniería, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México  
Av. Universidad 2001 Col. Chamilpa. C.P. 62250. Fax (7) 3138811. e-mail: tonatiuh@ibt.unam.mx

Palabras clave: *escalamiento descendente, pH, oscilaciones*

**Introducción.** El escalamiento de la etapa de fermentación es uno de los aspectos más críticos para el éxito de un bioproceso en la producción de proteínas recombinantes. Específicamente al escalar una fermentación se presentan invariablemente problemas de heterogeneidad y de gradientes de las variables ambientales más importantes, tales como el oxígeno disuelto, dióxido de carbono disuelto, concentración celular y de sustratos. Debido a tales gradientes los microorganismos se encuentran sometidos a ambientes fluctuantes a lo largo de su recorrido dentro del reactor, pasando de zonas mal mezcladas a zonas con un alto grado de homogeneidad. Bajo estas condiciones, la productividad de la mayoría de los procesos se ve afectada. Como una alternativa para poder abordar esta problemática, surge dentro de la bioingeniería el concepto de escalamiento descendente. Esta metodología semiempírica permite desarrollar estrategias para simular a nivel laboratorio las condiciones imperantes a gran escala. En el presente trabajo se plantea desarrollar un simulador que permita estudiar gradientes de pH prevalentes en reactores industriales en un sistema a nivel laboratorio.

**Metodología.** El pH del cultivo se controló mediante la manipulación de la presión parcial de CO<sub>2</sub> a la entrada de un bioreactor instrumentado y computarizado. El control se basa en un algoritmo PID mediante el cual se manipula la apertura de controladores de flujo másico para CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>. El sistema permite fijar de forma predefinida el eje de oscilación, la amplitud y el período.

A través de estos tres parámetros se simulan las condiciones de pH en el seno del líquido, la magnitud de los gradientes de pH y el tiempo de circulación respectivamente.

**Resultados y Discusión.** El sistema de control desarrollado nos permite simular gradientes espaciales de pH mediante oscilaciones temporales, es decir a través de una onda sinusoidal se representa el trayecto de las células a lo largo de un reactor a gran escala. La variación de pH se logra gracias a que el medio de cultivo diseñado se basa en una solución amortiguadora carbonato/bicarbonato. De tal forma, al aumentar la presión parcial de CO<sub>2</sub> disminuye el pH, mientras que el efecto inverso resulta al disminuir la pCO<sub>2</sub>. En la fig.1 se muestra un perfil típico de la oscilación de pH en un cultivo de células animales, específicamente hibridomas productores de anticuerpos monoclonales. Como puede observarse, una apertura de la válvula de CO<sub>2</sub> ocasiona una disminución del pH del medio. Resultados similares fueron

obtenidos en cultivos de *Escherichia coli* recombinante para la producción de insulina humana.

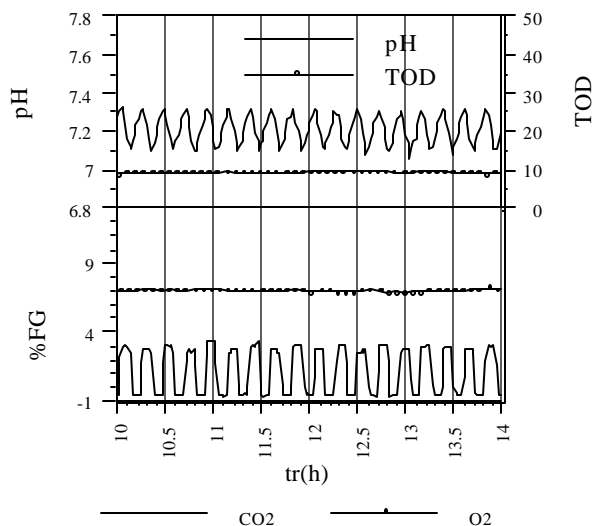


Fig. 1. Oscilaciones de pH en cultivos de células animales (eje oscilación= pH 7.2, amplitud= 0.1 unidades de pH y período= 900 s.

**Conclusiones.** Los resultados presentados muestran que es posible simular gradientes de pH mediante la manipulación oscilante de la presión parcial de CO<sub>2</sub>. Esta estrategia evita la acumulación perjudicial de sales en el medio de cultivo, tal y como ocurriría en otros esquemas de control de pH basados en la adición de ácido y base.

**Agradecimientos.** Proyecto CONACyT NC-230 y Proyecto DGAPA IN-216100.

## Bibliografía.

1. Palomares, L. A. and Ramírez, O. T. (1999). "Bioreactor Scale-Down". En: The Encyclopedia of Cell Technology. Spier, R.E. (ed). John Wiley and Sons, Inc. 174-201.
2. De León, A. (1996). Diseño y caracterización de un simulador de gradientes de oxígeno disuelto: Tesis de Maestría, Posgrado en Biotecnología, UACyP-CCH, Instituto de Biotecnología-UNAM.
3. Langheinrich, C. and Nienow, A.W (1999). "Control of pH in Large-Scale, Free Suspension Animal Cell Bioreactors:

Alkali addition and pH Excursions". *Biotechnol and Bioeng.*  
vol (66):171-178.