

ANÁLISIS DE IMÁGENES: UNA PODEROSA Y VERSÁTIL HERRAMIENTA PARA LA CARACTERIZACIÓN DE BIOPROCESOS

Patricia Larralde^{1*}, Gabriel Corkidi² y Enrique Galindo¹

¹Depto. Bioingeniería, Instituto de Biotecnología, ²Lab. de Análisis de Imágenes, Centro de Instrumentos, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. Postal 510-3, Cuernavaca 62250, Mor., MÉXICO. fax: (52)(7) 3 17 23 88, e-mail: galindo@ibt.unam.mx

Palabras clave: *análisis de imágenes, bioprocesos*

Introducción. En cultivos microbianos y de células vegetales ó animales se forman una gran variedad de estructuras que son relevantes, tanto desde el punto de vista fisiológico, como de operación del biorreactor. Por otra parte, la dispersión de aire (u otra fase inmiscible) es un asunto crucial en cualquier fermentación. En el presente trabajo se describe la experiencia en el desarrollo y aplicación de técnicas de análisis de imágenes para la caracterización de: a) dispersiones multifásicas, b) agregación de bacterias, c) morfología de hongos filamentosos y de células vegetales y d) estimación de la viabilidad en hongos filamentosos.

Metodología. Las imágenes se capturan digitalmente con una cámara de video acoplada a un microscopio, para luego procesarlas usando un sistema comercial (Image-Pro® Plus v.4.1, Media Cybernetics, USA). Las imágenes de burbujas de aire y gotas de aceite en suspensiones se capturaron mediante la sincronización de luz estroboscópica con una cámara de video (1-3). La agregación de células de *Azotobacter vinelandii*, bacteria productora de alginato, se analizó utilizando una tinción con azul de metileno (4). Las características morfológicas del hongo *Trichoderma harzianum* (2,5) y de las células vegetales *Beta vulgaris* y *Cinchona robusta* (6) se determinaron de imágenes sin teñir. La viabilidad del hongo *T. harzianum* se determinó comparando las imágenes obtenidas en luz visible y ultravioleta, usando acetato de fluoresceína (5). En todos los casos, se desarrollaron algoritmos específicos, lo que hizo más eficiente y rápido el procesamiento de datos.

Resultados y Conclusiones. La figura 1 muestra una fotografía ilustrativa del sistema básico. El costo de un equipo como éste es de aproximadamente US \$ 25,000. Las ventajas principales del equipo incluyen principalmente: a) alta versatilidad y adaptabilidad (i.e. los algoritmos son *ad hoc*), b) almacenaje y procesamiento totalmente digital (i.e. no se requiere equipo de videograbación), c) rapidez en el análisis de los datos (resultado de algoritmos semiautomáticos y específicos). Este equipo ha sido usado para diversos proyectos y el desarrollo de tesis de pre y posgrado (1-6), en los que ha contribuido a la generación de información muy relevante. Algunos de los puntos claves que contribuyeron a un desarrollo exitoso del sistema incluyen: a) la estrecha relación entre expertos en análisis de imágenes e ingenieros de bioprocesos, b) la selección de un sistema comercial básico que no fuera “caja negra” y con

posibilidades de hacer cambios y adaptaciones, c) la inversión de cerca de 3000 horas investigador/técnico para poner a punto los sistemas. La experiencia adquirida con el equipo hace posible pensar en atacar problemas aún más complejos que los hasta ahora analizados, como por ejemplo, la caracterización morfométrica *in situ* de procesos de fermentación y el estudio detallado de interacciones entre burbujas, gotas de aceite y biomasa.

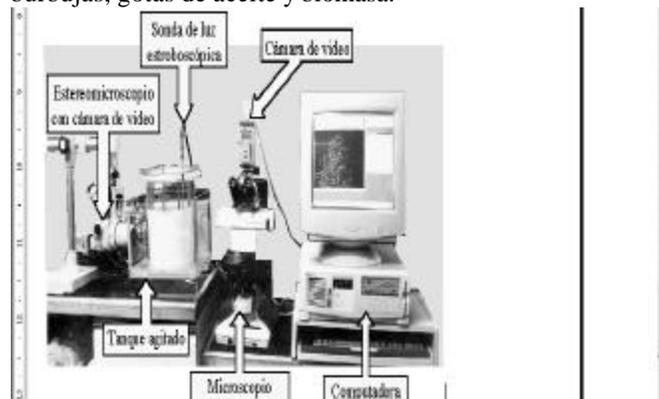


Figura 1. Equipo para el análisis de imágenes en bioprocesos

Agradecimientos. Se agradece el apoyo financiero de la DGAPA-UNAM (proyectos IN-119598 y IN-105500). Se reconoce y agradece la participación de L. Vega, B. Taboada, L. Serrano-Carreón, M. Hassan, C. Peña, y M. Rodríguez-Monroy. * P. Larralde actualmente trabaja en el Centro de Biotecnología Genómica del IPN en Cd. Reynosa, Tamps.

Bibliografía

1. Brito, T. (2001) Tesis de Licenciatura en Ing. Química, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
2. Lucatero, S. (2001) Tesis de Maestría en Ciencias Bioquímicas, IBT-UNAM.
3. Pulido, N. (2001) Tesis de Maestría en Ciencias Bioquímicas, IBT-UNAM.
4. Reyes, C. (2000) Tesis de Licenciatura en Biología, Universidad Autónoma del Estado de México.
5. Flores, C. (2001) Tesis de Maestría en Ciencias Bioquímicas, IBT-UNAM.
6. Miranda, L. (2001) Tesis de Maestría en Desarrollo de Productos Bióticos, CEPROBI-IPN.