

EFFECTO DE LAS CONDICIONES DE CULTIVO EN BIORREACTOR SOBRE LA MEDICIÓN DE LA IMPEDANCIA DEL MEDIO.

Adrián Díaz Pacheco, Jabel Dinorín Téllez Girón, Raúl Jacobo Delgado Macuil, Raúl René Robles de la Torre, Ma. del Carmen Cruz López, Víctor Eric López y López. Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Tlaxcala C.P. 90700. vlopezyl@ipn.mx

Palabras clave: Espectroscopia de Impedancia, Biorreactor, Diagrama Nyquist.

Introducción. La espectroscopia de impedancia es una técnica electroquímica que consiste en la aplicación de un potencial alterno entre los electrodos en contacto con la muestra. En el área biotecnológica esta técnica se ha empleado principalmente en el monitoreo y caracterización de cultivos celulares. No obstante a pesar de ser una herramienta muy útil por sus características no invasivas, presenta perturbaciones en sus lecturas cuando las condiciones de cultivo son variables (1). Debido a que los procesos de cultivo modifican algunas condiciones con la finalidad de proporcionar un ambiente más adecuado para el cultivo o para establecer diferentes técnicas de producción, cualquier variación de los parámetros de cultivo puede conducir a la interpretación errónea de los datos de impedancia obtenidos, especialmente bajo las condiciones más utilizadas en fermentaciones industriales.

El objetivo de este trabajo fue el de determinar los factores que presentaban un efecto significativo sobre los datos de impedancia obtenidos en un biorreactor. Esto permitirá conocer el grado de robustez que ofrece el sistema a las variaciones de las principales condiciones de cultivo.

Metodología. Los experimentos se realizaron en un biorreactor BIostat A PLUS de 5 L. Los datos de impedancia se obtuvieron mediante el empleo de dos sondas de acero inoxidable sujetadas a la tapa del fermentador y se conectaron a un analizador de impedancia HIOKI 3532-50. Las mediciones de impedancia se realizaron aplicando un voltaje constante de 50 mV y una corriente límite de 20 mA. El intervalo de frecuencias empleado fue de 42 Hz a 5 MHz. Los parámetros dieléctricos obtenidos fueron la impedancia, la resistencia y la reactancia. Con los datos de resistencia y reactancia se generaron los diagramas Nyquist a partir de los cuales se seleccionó la frecuencia (f) más cercana a la frecuencia crítica (fc). La impedancia medida a esta frecuencia (f) se utilizó como respuesta para el diseño factorial por triplicado. Para determinar el efecto de las condiciones de cultivo sobre las lecturas de impedancia se realizó un diseño factorial 2⁵ (p<0.05). En la tabla 1 se presentan los factores y niveles considerados. Como medio se empleó una solución al 0.5% de NaCl para simular el contenido total de sales de un medio de cultivo de fermentación.

Resultados. En todas las corridas experimentales los diagramas Nyquist obtenidos mostraron a 20720 Hz como la frecuencia f más cercana a la fc. En la Fig. 1 se presenta uno de los diagramas Nyquist obtenidos como ejemplo. Como resultado del diseño 2⁵, se obtuvo que los factores más significativos sobre la respuesta en orden decreciente fueron: el volumen de operación (Vop), la temperatura (T), la interacción Vop*T, el pH, pH*Vop, pH*T*Vop, pH*T, rpm*Vop y las rpm (Fig. 2).

Tabla 1. Factores y niveles del diseño experimental 2⁵

Factores/Niveles	rpm	vvm	pH	T(° C)	Vop(L)
Bajo	100	1	6	25	2
Alto	900	2	8	35	4.5

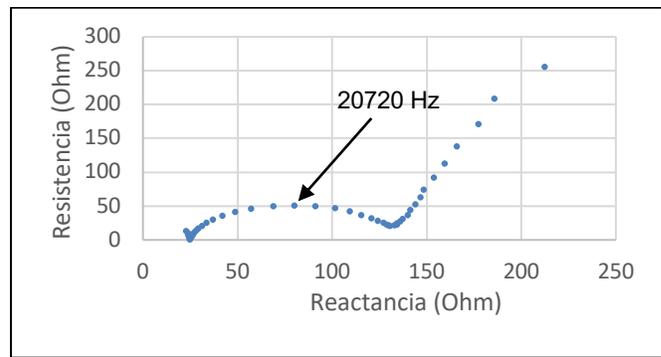


Fig. 1. Diagrama Nyquist obtenido en el nivel bajo de todos los factores. En la figura se señala la frecuencia más cercana a la frecuencia crítica.

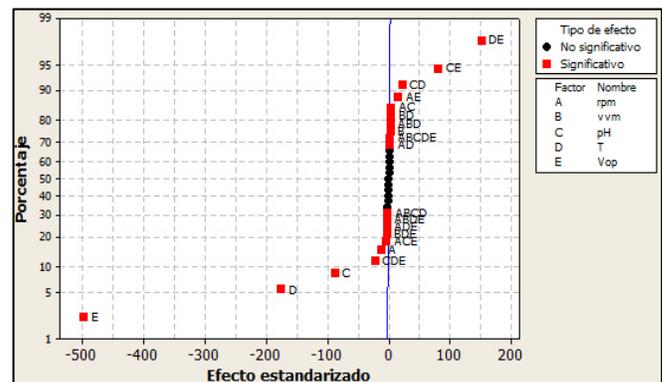


Fig. 2. Gráfica normal de efectos estandarizados. Los factores y las interacciones más significativas son las que se encuentran más alejadas de la línea azul.

Conclusiones. Las condiciones de cultivo que pueden influir en mayor grado en las lecturas de impedancia para nuestro sistema modelo son Vop y agitación (salvo en aquellos procesos sin control de pH). Esta información es importante a considerar para aplicaciones de la técnica en procesos que conlleven una variación del Vop como en los procesos por lote alimentado.

Agradecimientos. A la beca otorgada por CONACyT. Núm. de becario: 589526

Bibliografía.

1. Escalante-Sánchez A *et al.* (2018) *Bioprocess Biosyst Eng.* 41:1471-1484.

