



La Ciencia, desde Morelos para el mundo

Para actividades recientes de la Academia puede consultar: www.acmor.org.mx

Viaje al Interior de un Biorreactor: Imágenes y su Análisis

Dr. Gabriel Corkidi Blanco
Miembro de la Academia de Ciencias de Morelos
Instituto de Biotecnología, UNAM
Campus Morelos

(Primera Parte)

Cuando tenía diez años, recuerdo haber visto una película que se llamaba 'Viaje Fantástico'. Se trataba de una misión cuyo objetivo era salvarle la vida a un importante personaje, al cual se le había formado un coágulo en el cerebro. Así, una nave con cuatro tripulantes fueron 'miniaturizados' para poder ser 'inyectados' por medio de una jeringa, al torrente sanguíneo del personaje. Recuerdo que la nave viajaba entre glóbulos rojos y blancos, librando la barrera hemoencefálica, hasta llegar al coágulo que disolvieron con un rayo láser (hace 40 años, los láseres eran de ciencia ficción!). Hoy, 40 años después, me encuentro haciendo investigación en un tema llamado 'Visión por computadora'. Una de mis últimas 'misiones' ha sido aplicar este tipo de técnicas de análisis de imágenes digitales para tratar de entender cómo se generan y dispersan las burbujas de aire y las gotas de aceite en un tanque, cuyo contenido se agita a altas velocidades usando dispositivos mecánicos (llamados impulsores). Este tanque se llama 'biorreactor'. En este tanque se pueden cultivar microbios, incluyendo un hongo que produce sustancias que tienen importantes aplicaciones en la agricultura y en la industria farmacéutica y alimentaria. En la agricultura, los compuestos producidos por este hongo pueden usarse como fungicida biológico (no contaminante), en la industria farmacéutica, como antibiótico y en la alimentaria como aromas frutales (de coco y durazno). Por esta razón, es muy importante poder producir a gran escala este hongo llamado *Trichoderma harzianum*. Para producir este hongo, se necesita una especie de licuadora que agita constantemente la mezcla de

nutrientes que deben de llegar al hongo para reproducirse. Esta 'licuadora' debe tener características muy especiales para poder controlar de manera óptima los factores que intervienen en el crecimiento del hongo. Uno de estos factores es el tamaño de las burbujas de aire que proveen de oxígeno al hongo, así como el tamaño de las gotas de aceite de ricino que los proveen de nutrientes. Mientras más pequeño es el tamaño de gota y de burbuja, más eficiente será la transferencia de oxígeno y nutrientes, y por lo tanto la reproducción del hongo. El tamaño de estas gotas y burbujas depende en gran medida del tipo de agitación producida (velocidad, forma de impulsores que agitan la mezcla, etc).

El viaje al interior del biorreactor para filmar y analizar los eventos micrométricos que ocurren puede lograrse usando técnicas de Visión por Computadora. La Visión por Computadora es una rama de la Inteligencia Artificial que tiene por objetivo modelar matemáticamente los procesos de percepción visual en los seres vivos y generar programas que permitan simular estas capacidades visuales por computadora. Sus antecedentes se remontan a los años veinte, cuando se mejoró la calidad de las imágenes digitalizadas de los periódicos, enviadas por cable submarino entre Londres y Nueva York.

Para poder observar y filmar los eventos que ocurren dentro del biorreactor, se tiene que considerar que los objetos que queremos medir tienen un tamaño entre 100 y 500 micras, y por otra parte, que la velocidad a la que se están moviendo está relacionada con el agitador del biorreactor el cual gira entre 200 y 500 revoluciones por minuto. Lo primero que se hizo fue construir un modelo de tanque a escala en vidrio para poder observar a través de las paredes transparentes. Instalamos cerca de la pared del tanque un microscopio especial, llamado estereomicroscopio. La primera vez que

acercamos el estereomicroscopio al biorreactor, no pudimos observar absolutamente nada. Era obvio que de entrada hacía falta luz para iluminar la escena que queríamos filmar. Pusimos focos muy potentes, pero las gotas y burbujas pasaban tan rápido frente a la lente, que lo único que se podía observar era una gran mancha gris. Entonces, instalamos una cámara de televisión en una entrada del microscopio, y además sumergimos en el líquido una guía de luz de fibra óptica que posicionamos justo enfrente de la lente del microscopio para poder 'iluminar' los objetos que pasaban entre esta guía y la lente. Empezamos a ver cosas que aparecían en la pantalla del monitor, pero estos objetos aparecían 'movidos', es decir, pasaban tan rápido frente a la cámara de TV,

que estos aparecían borrosos y deformados, como cuando uno trata de tomar una foto de un coche a alta velocidad. Entonces, en vez de los focos potentes, conectamos un estroboscopio que emite ráfagas de luz 'flash' muy potentes, pero de duración ultra corta (cada 'flash' tiene una duración de 9 microsegundos), por lo que la escena se iluminó en períodos tan cortos que se lograba 'congelar' las imágenes de las gotas y burbujas que se movían a altas velocidades (efecto que ocurre por ejemplo en las discotecas cuando la imagen de las personas se 'congela' por instantes, a pesar de que están moviéndose rápidamente).

Con esta configuración de equipo, logramos por fin adquirir y observar imágenes muy impresionantes

de los fenómenos que estaban ocurriendo dentro del tanque como son el detalle de las gotas de aceite (semi-transparentes) y de las burbujas de aire (en color negro). La primera pregunta fue ¿porqué las burbujas se ven negras? La respuesta tiene que ver con la diferencia de índices de refracción entre el agua y el aire, que es mucho mayor que entre el aire y el aceite. Los rayos de luz se refractan mucho más entre la interfaz agua-aire, provocando este efecto. También pudimos observar otros fenómenos muy interesantes como pequeñas gotas o burbujas que aparecen aparentemente en el interior de las gotas de aceite, fenómeno del cual hablaremos en otra oportunidad. Más información sobre nuestro trabajo en www.ibt.unam.mx/labimage, (continuará).

El Laboratorio de Imágenes y Visión por Computadora fue creado en 1983 en el Centro de Instrumentos (hoy CCADET). Debido a diversas exitosas colaboraciones académicas y planes académicos conjuntos con el Instituto de Biotecnología de la UNAM, desde Octubre de 1996 el Laboratorio tiene una sede en el Instituto de Biotecnología (Ibt) dentro del hoy Campus Morelos, en Cuernavaca. El enfoque principal de nuestro trabajo ha sido el desarrollo de nuevos métodos y algoritmos de aplicación a la investigación biomédica y biotecnológica, basados en técnicas avanzadas de procesamiento digital de imágenes y visión por computadora. En esta perspectiva, el grupo dedica su actividad a generar conocimiento sobre nuevos métodos de adquisición de imágenes, segmentación y análisis. En los últimos años, el grupo ha obtenido diversos reconocimientos a nivel internacional y nacional, cabiendo destacar los Premios Image-Pro in Action Contest 2002 y 2004 otorgado por la empresa Media Cybernetics, USA. Asimismo, el laboratorio ha generado una cantidad importante de publicaciones nacionales e internacionales, las cuales se ponen a la disposición a través de esta página. En cuanto a docencia y formación de recursos humanos, el grupo mantiene una relación académica con la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, donde se imparten asignaturas a nivel licenciatura y con el programa de Posgrado en Ciencia e Ingeniería de la computación del IIMAS, UNAM, a nivel maestría y doctorado.