

Los bioprocesos en la biotecnología: uso de biorreactores para la producción y el escalamiento de productos de interés comercial

Bioprocesses in biotechnology: use of bioreactors for the production and scaling of products of commercial interest

Catalina Rosales-López¹

Rosales-López, C. Los bioprocesos en la biotecnología: uso de biorreactores para la producción y el escalamiento de productos de interés comercial. *Tecnología en Marcha*. Especial 2019. 25 Aniversario del Centro de Investigación en Biotecnología. Pág 41-46.

 <https://doi.org/10.18845/tm.v32i9.4626>



¹ Ing. Biotecnología. Centro de Investigación en Biotecnología, Escuela de Biología, Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: crosales@itcr.ac.cr
 <https://orcid.org/0000-0001-8336-0498>

Palabras clave

Bioprocesos; biorreactor; microorganismos; células vegetales.

Resumen

Entre los laboratorios con que cuenta el Centro de Investigación en Biotecnología (CIB) del Instituto Tecnológico de Costa Rica (TEC), está el Laboratorio de Bioprocesos. Esta área involucra todas las líneas de acción del CIB, ya que con el uso biorreactores o sistemas de inmersión temporal se pueden poner a crecer microorganismos (bacterias, hongos y levaduras), células vegetales, microalgas y células animales, con un objetivo en común: la producción masiva de células o de compuestos bioactivos, convirtiéndose en una herramienta eficaz para la micropropagación, ya que incrementa el coeficiente de multiplicación y produce el mejoramiento en la calidad del material regenerado *in vitro*. El empleo de estos sistemas incide en la reducción de los costos de producción en el cultivo a escala, ampliamente documentado en gran número de especies de valor comercial. Por otra parte, se controlan varias condiciones de cultivo como lo son pH, agitación, oxígeno disuelto y la producción de espuma. El CIB cuenta con cuatro biorreactores para investigación, que van desde 250 ml, 3 L y hasta 7 L. En este artículo se presenta una descripción de los bioprocesos realizados en el CIB con diferentes microorganismos y células vegetales.

Keywords

Bioprocesses; bioreactor; microorganisms; plant cells.

Abstract

Amongst the laboratories at the Biotechnology Research Center (CIB) of Costa Rica Institute of Technology (TEC), is the Bioprocesses Laboratory. This area involves all the lines of action of CIB, using bioreactors or temporary immersion system to grow microorganisms (bacteria, fungi and yeasts), plant cells, microalgae and animal cells with a common goal: the mass production of cells or bioactive compounds, becoming an effective tool for micropropagation, since it increases the multiplication coefficient and improves the quality of the material regenerated *in vitro*. The use of these systems reduces the costs in scale farming, which has been widely documented in a large number of species of commercial value. On the other hand, several culture conditions can be controlled in these systems, such as pH, agitation, dissolved oxygen and foam production. The CIB has four bioreactors for research, ranging from 250 mL, 3 L and up to 7 L. This article summarizes some of the projects which have studied plants and microorganisms in bioreactors at CIB.

¿Qué son los bioprocesos?

La definición de bioprocesos se encuentra dentro del concepto de Biotecnología: “*Biotecnología es el uso de organismos vivos o parte de ellos para obtener un producto o servicio útil para el hombre*”. Mientras tanto, un bioproceso es “*un proceso que involucra métodos de la ingeniería química a los procesos biotecnológicos*” [1].

Se pueden aplicar bioprocesos para obtener productos que serán utilizados por los seres humanos en salud humana y animal (antioxidantes, antiinflamatorios), industria química (enzimas), las industrias de las fermentaciones (alcoholes), en la agricultura y alimentación

(biocontroladores, colorantes), en el medio ambiente (degradadores de contaminantes) o para obtener energía (biocombustibles) y en la industria farmacéutica (antibióticos). Para, ello requiere de la aplicación de distintas técnicas biotecnológicas: biología molecular, biología celular, bioquímica, microbiología, ingeniería de procesos, cultivo de tejidos, química y biología.

La figura principal de un bioproceso es un fermentador o biorreactor, el cual es un sistema de contención apropiado, que debe diseñarse para brindar el mejor medio ambiente para el crecimiento celular y actividad metabólica [2]. En otras palabras, es un pequeño ecosistema totalmente controlado que le permite al organismo vivo crecer adecuadamente. Existen diferentes tipos, pero la diferencia principal en el diseño se da dependiendo de los requerimientos para el cultivo, el tipo de microorganismo y el tipo de fermentación. La desventaja principal de dichos equipos son los altos costos que representa la adquisición de un biorreactor comercial.

El CIB, cuenta con cuatro biorreactores comerciales (tres de marca Applikon y uno marca Bioengineering) utilizados para la investigación, dos ubicados en el Laboratorio de Bioprocesos (figura 1) y dos en el Laboratorio de Biocontrol. Además, otros fermentadores de bajo costo que se utilizan para el crecimiento de microalgas en el Laboratorio de Bioenergía. En el área de tejidos vegetales también se utilizan los Sistemas de Inmersión Temporal para la micropropagación, ya que incrementan el coeficiente de multiplicación y producen el mejoramiento en la calidad del material regenerado *in vitro* [3, 4].

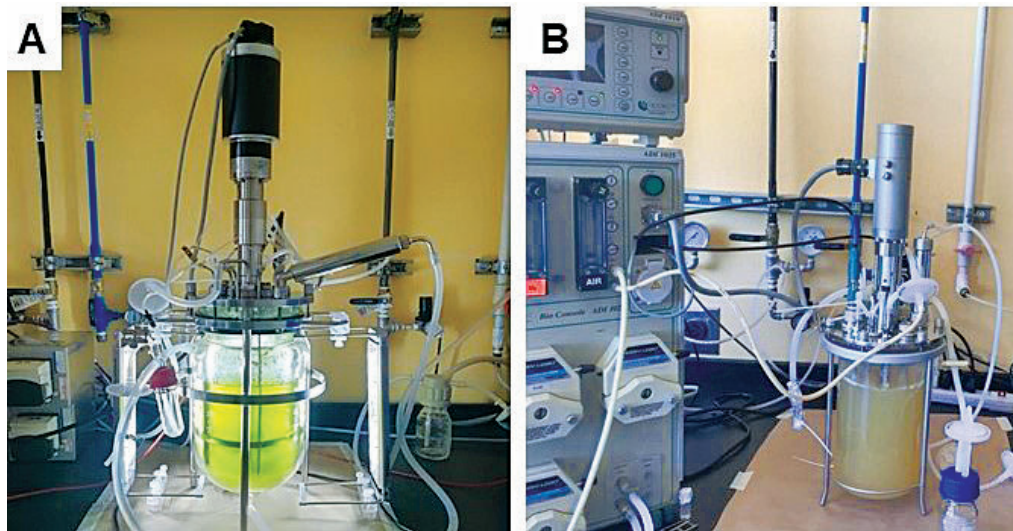


Figura 1. Biorreactores del Laboratorio de Bioprocesos del Centro de Investigación en Biotecnología. A) Biorreactor Marca Bioengineering 7 L con cultivo de microalgas (proyecto a cargo del PhD. Andrés Sánchez Kooper) y B) Biorreactor marca Applikon 3 L con crecimiento del hongo *Ganoderma* sp (proyecto doctoral de MSc Catalina Rosales López).

En Costa Rica son pocos los laboratorios especializados en bioprocesos, entre ellos se puede mencionar al Centro Nacional de Innovaciones Biotecnológicas (CENIBiot), el Instituto Clodomiro Picado y el CIB-TEC. E igualmente son pocas o casi nulas las empresas que utilizan equipos tan sofisticados. Muchas empresas obtienen sus productos con el uso de fermentadores, los cuales son equipos caseros de bajo costo que funcionan como contenedores para el desarrollo de una fermentación, pero en ellos, a diferencia de los biorreactores comerciales, no se puede controlar la agitación, el pH del medio, la aireación y mucho menos se puede tomar una muestra periódicamente porque se contamina el sistema.

Investigaciones en bioprocesos

La estrategia empleada en las investigaciones en esta área dentro del CIB, involucra el diseño de experimentos en pequeña escala, donde se emplean técnicas de optimización con el objetivo de reducir problemas y costos a la hora de escalar o reproducir un proceso, aumentando a la vez la precisión de los parámetros estimados y disminuyendo el esfuerzo experimental [2]. Seguido, se miden las cinéticas (determinación y cuantificación de las reacciones bioquímicas dentro del sistema), para predecir el transcurso de la fermentación, evaluar velocidades de consumo y producción, rendimientos y productividades. Toda esta información, al final es útil para establecer estrategias de producción al escalar un proceso optimizado, y ser implementado para generar productos. En síntesis, las investigaciones en las que se implementa el uso de un biorreactor, es porque ya se ha optimizado previamente las condiciones de cultivo en volúmenes más pequeños.

El CIB cuenta con un laboratorio especializado para trabajar, acondicionado con tuberías de distintos gases y agua potable en la pared que permiten inyectarle a los biorreactores, así como espacio suficiente para colocar los equipos, sus consolas y computadoras. Entre los proyectos realizados en el CIB se pueden mencionar:

- 2012. Obtención de líneas celulares de *Uncaria tomentosa* superproductoras de alcaloides, cultivadas en biorreactor, para su posterior regeneración y multiplicación masiva para su utilización a mediano plazo, como parte de la cadena productiva de obtención del extracto [5]
- 2014. Optimización del cultivo en suspensión de *Azadirachta indica* con miras al escalamiento en biorreactor.
- 2015. Producción de carotenoides a partir de dos cepas de hongos: *Pycnoporus sanguineous* y *Rhodotorula sp*, para su empleo en productos veterinarios de consumo animal.
- 2016. Escalamiento del cultivo de células en suspensión de *Azadirachta indica* en biorreactor de tanque agitado para la producción de azadiractina.
- 2017. Diseño de un proceso para la obtención de compuestos funcionales con capacidad antioxidante a partir de cultivos celulares de mora (*Rubus adenotrichos Schlttdl.*) en biorreactor [6].
- 2017. Análisis de flujos metabólicos como línea base para ingeniería metabólica de especies de microalgas productoras de aceite.
- 2018. Análisis de flujos metabólicos compartimentalizados en microalgas autóctonas de Costa Rica.
- 2018. Establecimiento de las condiciones de crecimiento de *Ganoderma spp.* en medio líquido para su posterior escalamiento a biorreactores tipo tanque agitado.

Ha sido tanta la utilidad de los bioprocesos y los logros obtenidos con las investigaciones realizadas en el CIB, que se formularon dos cursos para los estudiantes de la carrera de Ingeniería en Biotecnología del TEC. A partir del 2012, se imparte por primera vez el curso de Ingeniería Bioquímica (V Semestre), en el cual se les proporciona a los estudiantes una introducción sobre los biorreactores, cómo y en qué utilizarlos, además de todo lo sucede dentro del sistema. En este cursos como proyecto final, los estudiantes diseñan y arman un equipo funcional de bajo costo. Al siguiente año, los estudiantes reciben el curso Sistemas Biotecnológicos de Producción (VII Semestre), un curso más aplicado en la obtención de productos y de mayor dificultad. Se espera que, al transmitir estos conocimientos entre los estudiantes, a futuro se amplíen las investigaciones en ésta área.

Al mismo tiempo, este tema ha sido un campo para el desarrollo y capacitación de estudiantes asistentes, así como para realizar sus trabajos finales de graduación (cuadro 1) tanto de bachillerato como licenciatura, dentro y fuera del CIB y del país, y varios de ellos han querido continuar estudiando y experimentando con estos equipos, para lo cual han tenido que salir del país a especializarse más en el tema, aplicando en posgrados.

Cuadro 1. Muestra de tesis de grado de estudiantes de Ingeniería en Biotecnología (Escuela de Biología, TEC) que se han realizado en el tema de Bioprocesos.

Año	Estudiante	Título de tesis	Lugar
2011	Karol Jiménez Quesada	Evaluación del desarrollo <i>in vitro</i> de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni con el empleo de sistemas de micropropagación semi-sólido, inmersión temporal RITA y biorreactor de burbujeo [7]	CIB
2012	Ariana Montero Quirós	Optimización del medio de cultivo en matraz para la producción por fermentación líquida de los hongos <i>Trichoderma sp</i> y <i>Beauveria sp</i> .	Centro Nacional de Innovaciones Biotecnológicas (CENIBiot)
2012	Asdrúbal José Mayorga Lamas	Cultivos heterotróficos de <i>Chlorella sp.</i> en biorreactores airlift para la producción de biodiesel	Laboratorio de Fermentaciones Universidad Nacional Santa Fe, Argentina
2014	Kevin Mata	Optimización del cultivo en suspensión de <i>Azadirachta indica</i> con miras al escalamiento en biorreactor"	CIB
2015	José Pablo Cerdas Velásquez	Elaboración de un protocolo para la producción de bioetanol a partir de residuos de madera de <i>Gmelina arborea</i> mediante digestión química-enzimática y fermentación no alimentada utilizando de una cepa transformada de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	Centro de Investigación y de Servicios Químicos y Microbiológicos del ITCR
2015	Valmore Guevara Manzanares	Producción de ácidos ganodéricos y β -(1 \rightarrow 3) (1 \rightarrow 6)-D-glucanos en el cultivo líquido sumergido de <i>Ganoderma sp</i> de interés medicinal en la industria alimenticia de Costa Rica	CIB-CENIBiot
2016	Judith Cervantes Solano	Diseño experimental del proceso de fermentación de la Galleta Soda	Empresa Pozuelo
2016	Jorge Madrigal Rueda	Escalamiento de cultivos celulares de <i>Morinda citrifolia</i> a un biorreactor de tipo tanque agitado de 7 litros, para la producción de Antraquinona Roja como alternativa para tinte de origen natural	Centro Nacional de Innovaciones Biotecnológicas (CENIBiot)
2017	Ulises Andrés Salas Villalobos	Caracterización de la hidrodinámica y coeficiente de transferencia de masa de un reactor tipo airlift	Departamento de Bioingeniería, del Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey, Estado de México
2017	Cristian Chavarría Araya	Evaluación del proceso de fermentación de la cerveza artesanal de la empresa Hoppy ideas Craft Brewing Company y la determinación de los puntos críticos en el proceso.	Empresa Hoppy ideas Craft Brewing Company, Cervecería artesanal
2017	Karla Salas Arias	Producción de <i>Stevia rebaudiana Bertoni</i> variedad silvestre en dos diferentes Sistemas de Inmersión Temporal bits y setis	CIB-CENIBiot
2017	Tania María Gómez Bolívar	Evaluación de diferentes medios de cultivo y condiciones para la producción de conidios de <i>Trichoderma</i> mediante fermentación en líquido y sólida	ICAFE



Conclusión

El contar en el CIB con el área de investigación en Bioprocesos ha abierto las puertas al escalamiento de los procesos, y ha creado acceso a otra disciplina para que los estudiantes e investigadores en Biotecnología generen conocimiento, obteniendo productos libres de contaminantes, con potencial para producir metabolitos secundarios y productos innovadores a partir de organismos vivos para la comercialización.

Referencias

- [1] Diccionario de la Real Academia Española, consultado Marzo, 2019
- [2] F. Gódia y J. López, "Ingeniería Bioquímica. Ciencias Químicas: Tecnología bioquímica y de los alimentos". Ed. SINTESIS, Barcelona, España, 2005.
- [3] M.P. Watt, "The status of temporary immersion system (TIS) technology for plant micropropagation". *African Journal of Biotechnology*, vol. 11, no. 76, pp. 14025-14035, September 2012. DOI 10.5897/AJB12.1693
- [4] M. Berthouly and H. Etienne, "Temporary immersion system: a new concept for use liquid medium in mass propagation" In *Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation*, edit. Springer Netherlands, pp. 165-195, 2005. Disponible en: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/1-4020-3200-5_11>
- [5] S. Alvarenga, C. Rosales-López and F. Aguilar, "Herramientas biotecnológicas para el manejo sostenible del cultivo y la comercialización de la uña de gato (*Uncaria tomentosa*) en Costa Rica". Resumen de Congreso SILAE, 2014.
- [6] A. Schmidt-Durán, C. Alvarado-Ulloa, R. Chacón-Cerdas, L.F. Alvarado-Marchena and D. Flores-Mora, "Callogenesis and cell suspension establishment of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichos* Schltdl.) and its microscopic analysis". *SpringerPlus*, vol. 5, no. 1, pp. 1717, December, 2016.
- [7] K. Jiménez-Quesada, "Evaluación del desarrollo *in vitro* de *Stevia rebaudiana* Bertoni con el empleo de sistemas de micropropagación semi-sólido, inmersión temporal RITA y biorreactor de burbujeo". Tesis de graduación, bachillerato en Ing. en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, 2011.