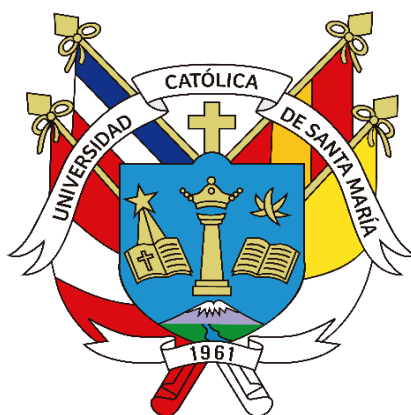


Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias Farmacéuticas,
Bioquímicas y Biotecnológicas
Escuela Profesional de Ingeniería
Biotecnológica



**BIORREACTORES PARA LA PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS
POLIFENÓLICOS A PARTIR DE TEJIDOS VEGETALES: UNA REVISIÓN
SISTEMÁTICA.**

Tesis presentada por el Bachiller:

Alanoca Quispe, Brad Guzman

Para optar el Título Profesional de:

Ingeniero Biotecnólogo

Asesor:

Mg. Ing. Tejada Meza, Kevin

Arequipa – Perú

2023

BIORREACTORES PARA LA PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS POLIFENÓLICOS A PARTIR DE TEJIDOS VEGETALES: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA

INFORME DE ORIGINALIDAD

4%

INDICE DE SIMILITUD

5%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

www.mdpi.com

Fuente de Internet

2%

2

repositorio.ucv.edu.pe

Fuente de Internet

1%

3

repositorio.uwiener.edu.pe

Fuente de Internet

1%

4

ouci.dntb.gov.ua

Fuente de Internet

1%

5

riudg.udg.mx

Fuente de Internet

1%

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Apagado

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INGENIERIA BIOTECNOLOGICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 05 de Septiembre del 2023

Dictamen: 007251-C-EPIB-2023

Visto el borrador del expediente 007251, presentado por:

2016241781 - ALANOCA QUISPE BRAD GUZMAN

Titulado:

**BIORREACTORES PARA LA PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS POLIFENOLICOS A
PARTIR DE TEJIDOS VEGETALES: UNA REVISION SISTEMATICA**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

**42098888 - CORDOVA BARRIOS CINTHLA CAROL
DICTAMINADOR**



**41404327 - BARREDA DEL CARPIO JAIME ERNESTO
DICTAMINADOR**



**43085216 - MEDINA CABRERA EDILBERTO VICENTE
DICTAMINADOR**



DEDICATORIA

Esta tesis la dedico a mis padres Guzman Alanoca Maquera y Dina Quispe Bustincio que con su apoyo emocional fueron el soporte de mi voluntad y deseos, a ellos les dedico este y muchos más logros venideros en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento va hacia mis padres, agradecerles por enseñarme a nunca darme por vencido y seguir adelante con mis metas y sobre todo por brindarme su apoyo incondicional. También quiero agradecer a mi asesor interno Mg. Ing. Kevin Tejada Meza por su apoyo en el desarrollo de mi tesis y sus correcciones oportunas.

INDICE GENERAL

| | |
|---|------|
| DEDICATORIA..... | iii |
| AGRADECIMIENTOS | iv |
| INDICE GENERAL..... | v |
| INDICE DE TABLAS | vi |
| INDICE DE FIGURAS | vii |
| LISTA DE ABREVIATURAS | viii |
| RESUMEN..... | 1 |
| ABSTRACT..... | 2 |
| 1 INTRODUCCIÓN..... | 3 |
| 2 METODOLOGÍA..... | 5 |
| 3 CUERPO DE LA REVISIÓN..... | 10 |
| 3.1 Compuestos fenólicos en plantas..... | 10 |
| 3.2 Cultivo de tejidos vegetales como herramienta de producción de compuestos fenólicos..... | 13 |
| 3.3 Plantas manipuladas en vías metabólicas como fuente de compuestos fenolicos . | 15 |
| 3.4 Cultivo de tejidos y órganos de plantas en biorreactores | 17 |
| 3.5 Configuraciones más utilizadas | 28 |
| 3.6 Ingeniería de biorreactores | 34 |
| 3.7 Efecto de las variables operativas en el rendimiento del biorreactor | 38 |
| 3.8 Rendimiento de los biorreactores | 44 |
| 3.9 Producción de compuestos bioactivos en matraces | 46 |
| 4 PERSPECTIVAS FUTURAS..... | 49 |
| 5 CONCLUSIONES | 55 |
| 6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 58 |
| 7 ANEXOS | 73 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Cadena de búsqueda en los portales científicos especializados seleccionados y la cantidad de registros encontrados | 8 |
| Tabla 2. Algunos compuestos fenólicos de plantas medicinales y su actividad biológica | 13 |
| Tabla 3. Relación de artículos científicos consultados incluidos en la revisión sistemática con los datos relevante a tomar en cuenta..... | 18 |
| Tabla 4. Condiciones utilizadas en los biorreactores y los modos de operación..... | 35 |
| Tabla 5. Ejemplos seleccionados de patentes relacionadas con biorreactores para el cultivo de material vegetal. | 52 |
| Tabla 6. Relación de artículos científicos consultados incluidos en la revisión sistemática con datos detallados de los experimentos..... | 74 |



INDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Diagrama de flujo PRISMA que muestra el método de selección de estudios..... | 9 |
| Figura 2. Representación de la proporción de registros excluidos e incluidos en relación con el total de registros identificados. | 10 |
| Figura 3. Metabolismo secundario de los compuestos fenólicos..... | 11 |
| Figura 4. Diagrama de métodos actuales empleados para la producción de compuestos fenólicos a gran escala | 15 |
| Figura 5. Estrategia común para producir compuestos bioactivos a gran escala utilizando técnicas de edición genética en cultivos de plantas in vitro en biorreactores..... | 16 |
| Figura 6. Estrategia de producción a escala para la producción de cultivo de raíces adventicias utilizando el biorreactor | 21 |
| Figura 7. Inducción de raíces peludas a partir de explantes de hojas mediada por la transformación genética de la cepa de Agrobacterium rhizogenes R1000.. | 23 |
| Figura 8. Diferentes tipos de cultivos in vitro de Verbena Officinalis..... | 24 |
| Figura 9. Representación esquemática del biorreactor de columna de burbujas, su descripción, sus ventajas y desventajas | 29 |
| Figura 10. Representación esquemática del biorreactor airlift, su descripción, sus ventajas y desventajas | 30 |
| Figura 11. Representación esquemática del biorreactor de tranque agitado, su descripción sus ventajas y desventajas | 31 |
| Figura 12. Representación esquemática del biorreactor del biorreactor de niebla, su descripción, sus ventajas y desventajas | 32 |
| Figura 13. Representación esquemática del biorreactor de inmersión temporal, su descripción, las ventajas y desventajas..... | 33 |
| Figura 14. Métodos empleados para el control de temperatura en biorreactores, utilizando sondas de temperatura y recipientes con doble camisa para transferir calor y regular las reacciones metabólicas y el enfriamiento del biorreactor | 39 |
| Figura 15. Tipos de agitación en los encontrados en los estudios..... | 43 |

LISTA DE ABREVIATURAS

ABA: Ácido abscísico

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AQ: Antraquinonas

B5: Medio de Gamborg

BA: Bencilaminopurina

BAP: 6-benzilaminopurina

BTBB: Balloon type bubble bioreactor

CIB: Biorreactor de inmersión continua

CRISPR: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats

CSCBc: Cell suspension culture of *B. cordata*

CSE: Continuous shaking extraction

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

DW: Dry weight

GA: Ácido giberélico

GAE: Equivalentes de ácido gálico

HPLC-DAD: Cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos

IAA: Ácido indol-3-acético

IBA: Ácido indol butírico

MS: Murashige and Skoog

m-Top: Meta topolin

NAA: Ácido naftaleno acético

OMS: Organización Mundial de la Salud

OTR: Transferencia de oxígeno

PDSM: Plant derived secondary metabolites

PeG: Glucósidos de feniletanoides

PRISMA: Preferred Reporting Items for Systemic reviews and Meta-Analyses)

PTC: Papillary thyroid carcinoma

RA: Ácido rosmarínico

Ri: Plásmido inductor de la raíz

RITA: Recipiente de inmersión temporal automatizada

ROS: Especies reactivas de oxígeno

SNU-16: SNU cancer cell lines

STR: Stirred tank reactor

TDZ: Tidiazuron

TIB: Temporary inmersión biorreactor

UHPLC-MS/MS: Ultra-high performance liquid chromatography-MS/MS

VB: Verbascosido

VVM: Volumen de aire por volumen de medio por minuto

WPM: Medio Lloyd y McCown

RESUMEN

En la actualidad, producir grandes cantidades de compuesto bioactivos en biorreactores con el fin de satisfacer la creciente necesidad de estos para tratar y prevenir enfermedades degenerativas, es un reto de ingeniería debido a los muchos factores operativos que se deben considerar al diseñar y ampliar dicha producción. La tecnología de cultivo in vitro de células vegetales ofrece múltiples ventajas en comparación con la extracción convencional de plantas enteras, no solo por evitar la sobreexplotación de especies vegetales, sino también por lograr mejores rendimientos y tener excelentes atributos de escalabilidad. La selección de la configuración del biorreactor depende de las propiedades intrínsecas del cultivo celular y de las consideraciones de ingeniería, que son esenciales para lograr la producción a gran escala de compuestos bioactivos. En este contexto, la revisión sistemática proporciona una evaluación completa de la producción de compuestos bioactivos polifenólicos, especialmente aquellos que tienen importancia y utilización comprobadas en las industrias farmacéuticas, prestando especial atención a los obtenidos a partir de cultivos de células vegetales. Finalmente, se presentan los aspectos de ingeniería relacionados con la configuración del biorreactor para cultivos de células vegetales, indicando el efecto de las condiciones de operación en la cinética y los fenómenos de transporte, y, por lo tanto, en la viabilidad celular y la producción de compuestos bioactivos. El análisis de ingeniería de las configuraciones de biorreactor revisadas para cultivos de células vegetales abrirá el camino para futuras investigaciones centradas en su escalado, para producir bioactivos de alto valor agregado.

Palabras clave: Compuestos bioactivos, ingeniera de biorreactores, plantas medicinales.

ABSTRACT

Producing substantial amounts of bioactive compounds in bioreactors to meet the growing need for them to treat and prevent degenerative diseases is an engineering challenge, due to the many operational factors that must be considered when designing and scaling such a bioactive compound. production. In vitro plant cell culture technology of medicinal plants offers multiple advantages compared to conventional extraction of whole plants. Not only by avoiding over-exploitation of plant species, but also by achieving better yields and having excellent scalability attributes. The selection of the most adequate bioreactor configuration depends on the intrinsic properties of the cell culture and on engineering considerations, which are essential to achieve the large-scale production of bioactive compounds. In this context, the systematic review provides a complete evaluation of the production of bioactive polyphenolic compounds, especially those that have proven importance and use in the pharmaceutical industries, paying special attention to those obtained from plant cell cultures. Finally, engineering aspects related to the configuration of the bioreactor for plant cell cultures are presented, indicating the effect of operating conditions on the kinetics and transport phenomena, and therefore on cell viability and production. from bioactive compounds. The engineering analysis of the revised bioreactor setups for plant cell cultures will open the way for future research focused on their scaling up, to produce high value-added bioactives.

Keywords: Medicinal plants, bioactive compounds, bioreactor engineer

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde la antigüedad para tratar diversas enfermedades, según la OMS más del 80 % de la población de los países en vías de desarrollo hace uso de las medicinas herbarias (1). Los compuestos químicos responsables de las actividades biológicas de las plantas medicinales son los compuestos bioactivos que se encuentran en estas y cuentan con gran importancia terapéutica, estos compuestos poseen actividad biológica contra un gran número de enfermedades (2). Un grupo de compuestos bioactivos de mayor relevancia son los compuestos polifenólicos, estos poseen actividad biológica como antioxidantes, antidiabéticos, anticancerígenos, además de otras propiedades (3). Un ejemplo es *Argyria radiata* es rica en rutina, quercetina y ácido cumárico con actividad antioxidante. *Gymnema sylvestre* tiene propiedades antidiabéticas debido a los ácidos gimnémicos polifenólicos. El rizoma de *Curcuma longa* muestra actividad anticancerígena y quimiopreventiva gracias a la curcumina, un flavonoide derivado de polifenoles (4–6). Las limitaciones para la obtención en cantidad idónea de estos de estos bioactivos existen, debido a su baja concentración en los tejidos de las plantas o su rareza silvestre además que sintetizarlas químicamente requiere una gran capacidad tecnológica siendo inviable económicamente (7). La alta demanda de compuestos bioactivos supuso a una explotación excesiva de los hábitats naturales donde se encuentran, generando graves consecuencias ecológicas y socioeconómicas. Por lo tanto, se necesita identificar sistemas de producción alternativos, que puedan satisfacer la demanda sin dañar el medio ambiente (8). Diversos procesos biotecnológicos se aplican actualmente para obtener estos bioactivos en una suficiente cantidad, la micropropagación vegetativa y el cultivo de tejidos vegetales son los métodos más empleados (9). Tanto la academia como la industria ahora impulsan el cultivo de tejidos vegetales a gran escala mediante el uso de células de callos, células inmovilizadas, embriones, raíces, brotes y células en suspensión (10). Para dar el siguiente paso al escalamiento y producción en cantidades sustanciales la industria aplica el uso de biorreactores, estos deben ser diseñados para un mayor grado de control sobre alteraciones del proceso y lograr altas productividades de buena calidad y rentabilidad (11). Existe un número limitado de estudios referido a bioprocesos establecidos en biorreactores y una carencia en la información relacionada tanto al uso del tejido vegetal por su sensibilidad y menor estabilidad como a la ingeniería de la tecnología, debido a los sistemas de configuración compleja que incluye interacción de muchas variables

operativas (12). Varios estudios tuvieron como objetivo recopilar información respecto a las consideraciones de ingeniería, la manipulación genética de cultivos vegetales, y las metodologías más utilizadas para la producción de compuestos bioactivos, pero no son específicos en cuanto a un compuesto en particular (13,14). El objetivo principal de estudios es determinar cuáles son los aspectos más importantes a considerar en el diseño de biorreactores para la producción de compuestos bioactivos polifenólicos a partir de tejidos vegetales.

Al llevar a cabo una revisión sistemática de literatura actual referida a los diseños de biorreactores utilizados para la producción de compuestos bioactivos polifenólicos a partir de tejidos vegetales, presentar un conglomerado de estudios actualizados es de relevancia en diversas áreas del conocimiento, enfocando este trabajo a las futuras investigaciones relacionadas al área, por lo tanto, este documento de investigación cumple con los siguientes criterios que justifican su realización: **Justificación teórica** la necesidad de una revisión sistemática que surge del requerimiento de los investigadores de tener en resumen información relevante referente a los diseños de biorreactores para la producción de compuestos bioactivos polifenólicos a partir de tejidos vegetales de manera exhaustiva y parcial (15). **Justificación tecnológica:** Resulta de especial interés conocer los diseños de biorreactores más recientes que se usan en biotecnología para la producción de estos metabolitos, cuáles son las variables operáticas, los modos de operación, los tejidos, etc., y de esta manera generar un sólido argumento que pueda ser utilizado en investigaciones relacionadas (12). **Justificación ambiental:** La presente investigación busca proporcionar un argumento documental que demuestre que la literatura respecto al diseño de biorreactores utilizados, cultivo de tejidos vegetales y la producción de compuestos poli fenólicos pueden ser una solución al problema de la depredación y recolección en exceso de especies silvestres (14).

Con estos propósitos, en esta revisión se formularon la siguientes interrogantes y objetivos: ¿Cuáles son los aspectos más importantes para considerar en el diseño de biorreactores para la producción de compuestos bioactivos polifenólicos a partir de tejidos vegetales? En base a ello, se plantea los siguientes problemas específicos: ¿Cuál es el diseño más usado de biorreactores para producción de compuestos bioactivos polifenólicos a partir de tejidos vegetales?, ¿Cuáles son los modos de operación y condición de los biorreactores usados para la producción de compuestos bioactivos

polifenólicos a partir de tejidos vegetales?, ¿Cuál es el rendimiento de los biorreactores respecto a la producción de compuestos bioactivos polifenólicos?

2. METODOLOGÍA

Tipo y diseño de investigación

El modo de operación de esta investigación se desarrolla bajo un contexto de estudio documental que emplea la revisión de la literatura científica actual sobre el tema a tratar. Con este propósito se desarrollará un procedimiento de búsqueda, selección, filtración de información e interpretación de los resultados de las investigaciones elegidas referentes a la producción de compuestos bioactivos derivados de polifenoles en biorreactores a partir de tejidos vegetales. El procedimiento de recopilación de información gira en torno a la interrogante principal: ¿Cuáles son los aspectos más importantes a considerar en el diseño de biorreactores para la producción de compuestos bioactivos polifenólicos a partir de tejidos vegetales?

Las revisiones sistemáticas tienen la intención de incorporar información de todos los estudios que sean relevantes para el tema, las revisiones son de naturaleza retrospectiva, los métodos son corroborados antes de dar el inicio a la búsqueda de información, así se evitan las repeticiones de investigaciones y sesgos de información inherentes a los autores, ellos deben llevar a cabo estrategias para disminuir estos posibles sesgos, así como investigar su posible relación con el efecto del procedimiento y la precisión de la estimación (16).

El estado del arte de un área en específico puede ser sintetizado en una revisión sistemática, la cual nos permite reducir la carga unitaria de los estudios y responder a preguntas e identificar prioridades académicas en conjunto lo cual ayuda a corregir, generar o evaluar teorías (17).

La declaración PRISMA 2020 (Preferred Reporting of Systematic Reviews and Meta-Analysis) tiene el propósito de documentar de manera transparente el porqué de la revisión realizada y que encontraron algunos autores. Las recomendaciones dadas han

sido ampliamente utilizadas y evaluadas positivamente, como se demuestran en las citaciones de múltiples revistas con más de 60.000 informes en SCOPUS 2020, los estudios observacionales que sigan estas recomendaciones son los más completos entre las revisiones sistemáticas (17).

La transparencia de una revisión sistemática es de suma importancia y genera valiosa confianza a los investigadores, con el transcurrir del tiempo se han incorporado métodos para disminuir los sesgos, estos procesos mejoraron las revisiones sistemáticas y pasaron de evaluar la calidad a evaluar la certidumbre del cuerpo de la evidencia (17).

Criterios de elegibilidad:

Los criterios de elegibilidad se dividen en criterios de inclusión y de exclusión estos se deben agrupar para tener una síntesis de ambos.

Se consideraron como criterios de inclusión:

- Año de publicación investigaciones desde el 2012 hasta el 2022.
- Artículos científicos que hicieron uso de especies de plantas presenten contenido de compuestos polifenólicos.
- Artículos científicos que hicieron uso de un tipo de cultivo de células vegetal en biorreactores
- Artículos científicos donde se evalúe la producción de compuestos bioactivos polifenólicos.
- Artículos científicos que demostraron el efecto de algún elicitador.

En cuanto a los criterios de exclusión:

- No se tomaron en cuenta aquellos que estuvieron en otro idioma diferente al inglés.
- Artículos científicos duplicados o encontrados iguales en los portales científicos especializados.
- Documentos que no sean artículos científicos: reviews, revisiones sistemáticas, libros, capítulos de libros.

- Artículos científicos que no evaluaron la producción compuestos bioactivos polifenólicos.
- Artículos científicos que no demostraron el efecto de algún elicitor abiótico o biótico.

Los estudios se agruparon para tener un mejor manejo, para ello se realizó una síntesis es así como las lecturas de todos los artículos se realizaron y se extrajeron datos según los criterios de inclusión, estos finalmente serán plasmados en la revisión sistemática en unas tablas en las cuales se registran los datos en común entre los artículos a fin de cumplir con los objetivos planteados y dando forma y respondiendo a nuestra pregunta principal de investigación. Esta revisión sistemática tomará en cuenta las estrategias basadas en la temática de investigación, de aquí es de donde se alcanzará una adecuada elegibilidad de artículos científicos provenientes de los portales científicos especializados, indizados, acreditados, formales y de acceso público o facilitado por la Universidad Católica de Santa María a través de la biblioteca virtual.

Fuentes de información

Se realizó una revisión sistemática de la literatura en portales científicos especializados como Web of Science, Scopus y Google Scholar, en julio y octubre del 2022, se escogieron estos portales científicos por su relevancia dentro de la biotecnología además su alcance a diversas revistas indizadas. Se utilizó la metodología PRISMA 2020 (Preferred Reporting of Systematic Reviews and Meta-Analysis) este método mejora la integridad del informe y el rigor (18).

Estrategia de búsqueda

Como segunda fase se inició con la búsqueda de registros en los portales científicos especializados seleccionados para ello se definió con una cadena de búsqueda con operadores booleanos y las palabras clave (production, productivity, polyphenols, “polyphenolic compounds” bioreactor, reactor, “plant tissue”, “plant tissue culture”), los cuales ayudaron a interpretar correctamente a la pregunta de investigación y así los algoritmos de búsqueda se acercan a nuestro objetivo. La cadena de búsqueda se muestra en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Cadena de búsqueda en los portales científicos especializados seleccionados y la cantidad de registros encontrados. Fuente: Elaboración propia.

| Portales científicos especializados | Cadena de búsqueda | Cantidad de artículos |
|--|---|------------------------------|
| Web of Science | (((((TS=(production)) OR TS=(productivity)) AND TS=(polyphenols)) OR TS= ("polyphenolic compounds")) AND TS=(bioreactor)) OR TS=(reactor)) AND TS= ("plant tissue") OR TS= ("plant tissue culture") | 1353 |
| Scopus | TITTLE-ABS-KEY (production OR productivity) AND (polyphenols OR "polyphenolic compounds") AND (bioreactor OR reactor) AND ("plant tissue" OR "plant tissue culture") | 328 |
| Google Scholar | (Production OR productivity) AND (polyphenols OR "polyphenolic compounds") AND (bioreactor OR reactor) AND ("plant tissue" OR "plant tissue culture") | 1820 |

Proceso de selección de los estudios

Se trabajo de manera independiente e individual, con la ayuda de un gestor de referencias (Mendeley), la estrategia utilizada en el estudio se ilustra en el diagrama de flujo de la **Figura 1**. Como primera fase para iniciar con la búsqueda de literatura se planteó la pregunta de investigación la cual fue clara y objetiva ¿Cuáles son los aspectos más importantes para considerar en el diseño de biorreactores para la producción de compuestos bioactivos polifenólicos a partir de tejidos vegetales?”.

Se hizo la importación de todos los registros utilizando la extensión de Chrome “Web Importer - Mendeley” para el caso de Scopus y Web of Science, en el caso de Google Scholar la exportación de registros fue más tediosa debido al soporte del buscador con la extensión que solo permitía importar los registros presentes en la ventana siendo exportados en bloques de doce hasta llegar al número de registros totales encontrados al inicio. Los registros de guardan automáticamente en Mendeley tanto en la versión web como en la versión de escritorio. Este software nos permite utilizar la herramienta “Check

for duplicates” eliminando los registros duplicados, los cuales se consideran dentro de los no elegibles por las herramientas de automatización, al igual los registros que están en otros idiomas como árabe, ruso y chino, también los registros que no muestran detalle o datos inclusive actualizándolos, utilizando la herramienta “search” o “update details” dentro del software descartándolos. Registros se consideran todos los documentos encontrados en los buscadores estos incluyen, reviews, revisiones sistemáticas, artículos científicos y en general todos los documentos de carácter científico. Las publicaciones se consideran solo a los artículos científicos que han sido publicados.

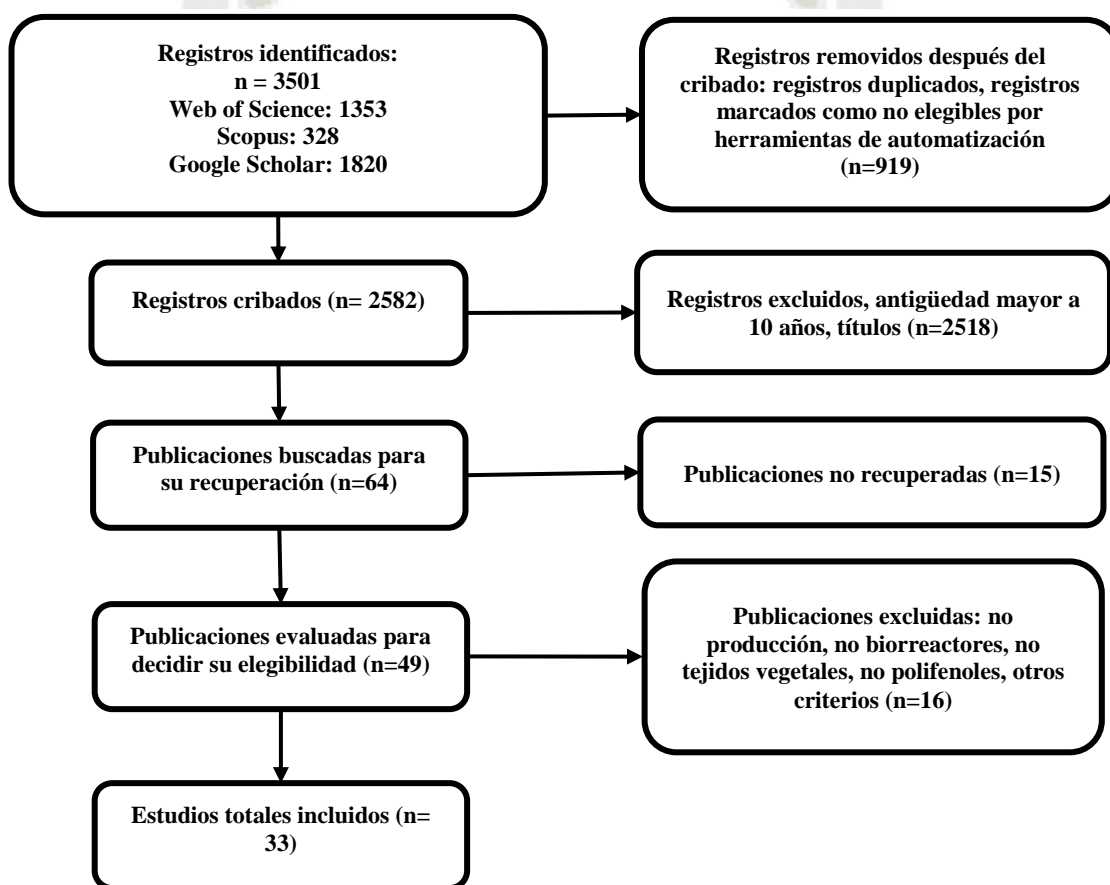


Figura 1. Diagrama de flujo PRISMA que muestra el método de selección de estudios.

Proceso de extracción de datos

Las lecturas de los títulos y resúmenes de todos los artículos se realizaron y se extrajeron los datos según los criterios de inclusión, estos finalmente serán plasmados en la revisión sistemática a fin de cumplir con los objetivos planteados y respondiendo a nuestra pregunta principal de investigación. Esta revisión sistemática tomara en cuenta las estrategias basadas en la temática de investigación, de aquí es de donde se alcanzará una adecuada elegibilidad de artículos científicos provenientes de los portales científicos

especializados, indizadas, acreditados, formales y de acceso público o facilitado por la Universidad Católica de Santa María a través de la biblioteca virtual.

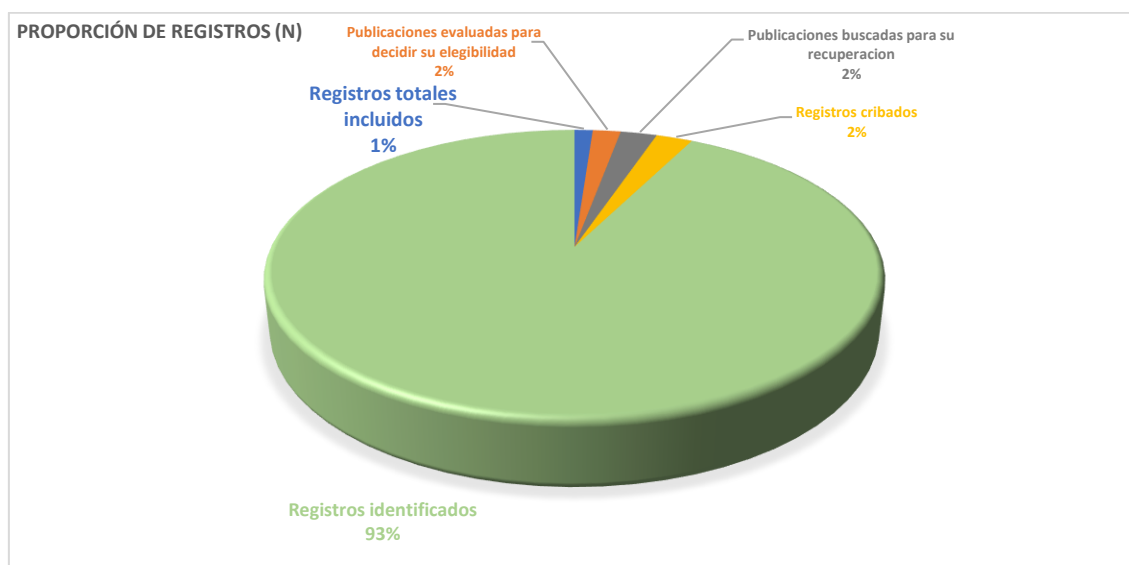


Figura 2. Representación de la proporción de registros excluidos e incluidos en relación con el total de registros identificados.

3. CUERPO DE LA REVISION

3.1. Compuestos fenólicos en plantas

Las plantas son consideradas fuente importante de fitoquímicos con enorme potencial farmacológico y terapéutico, lo que contribuye al interés en su investigación y demanda (19). Los fenoles han sido estudiados por su capacidad de contrarrestar los efectos de especies reactivas de oxígeno (ROS) relacionadas también con trastornos metabólicos como la diabetes, obesidad y enfermedades cardiovasculares (21).

Los compuestos fenólicos son derivados de las rutas metabólicas del ácido shikimico, pentosas fosfato y fenilpropanoides, se conocen más de 8000 estructuras fenólicas, los compuestos fenólicos más comunes en la dieta humana son los ácidos fenólicos, flavonoides y taninos los cuales están categorizados en la **Figura 3** (22).

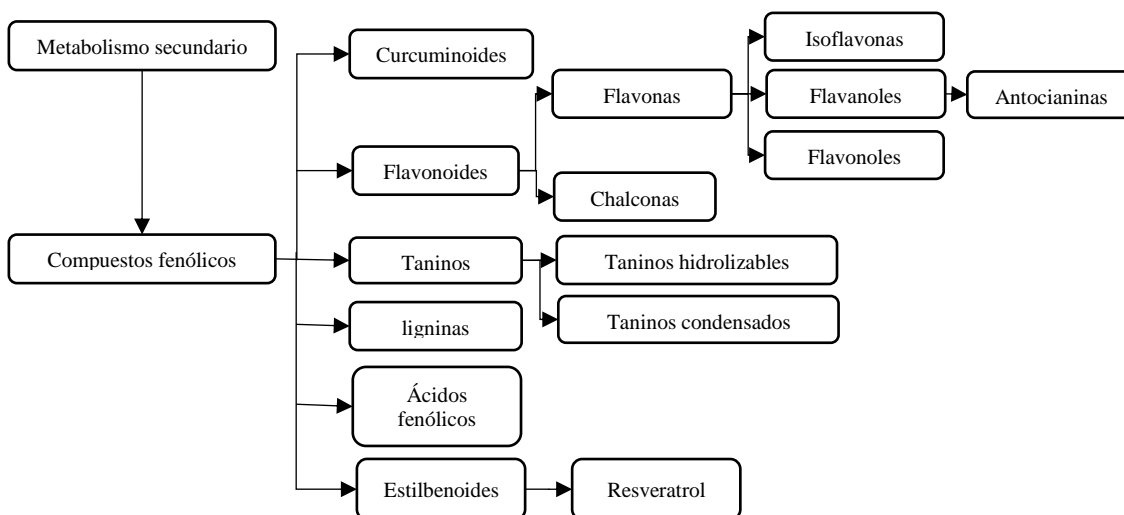


Figura 3. Metabolismo secundario de los compuestos fenólicos.

Las propiedades biológicas de los compuestos fenólicos son estudiadas por su capacidad fitoterapéutica contra varias enfermedades dentro de ellas el cáncer. La curcumina, un polifenol derivado de las raíces de la planta *Curcuma Longa L.* demostró propiedades antimetastásicas y baja toxicidad (23). Dentro de un estudio referente a sus propiedades antioxidantes se realizó un ensayo en condiciones de hipoxia sobre un grupo de líneas celulares “K1 PTC” evaluando la capacidad de regulación e inducción del factor de hipoxia inducible 1- α demostrando una inhibición en las especies reactivas de oxígeno (ROS) (24).

Además, la curcumina demostró propiedades anticancerígenas en líneas celulares K1 demostrando potencial anti metastásico, debido a que mejoró la expresión de E-cadherina la cual es una proteína de adhesión celular logrando así la inhibición de las enzimas involucradas en la migración (25). Similarmente se estudió su potencial sobre el proceso de apoptosis promoviendo la formación de especies reactivas de oxígeno y dando como resultado el colapso enzimático y el flujo intracelular de Ca^{+2} (26,27). Los ácidos fenólicos son un grupo de polifenoles comunes en frutas rojas, cebollas rábano negro, un

compuesto de interés terapéutico contra el cáncer es el ácido p -cumárico, se demostró en diversos estudios su actividad anticancerígena en el cáncer de colon y células gástricas teniendo como fundamento la supresión del crecimiento de células de cáncer gástrico SNU-16 (25).

Los polifenoles poseen un efecto hipoglucemiante reduciendo la absorción de carbohidratos en el intestino delgado modulando las enzimas implicadas en el metabolismo de los azúcares y por ende la glucosa, estimula la secreción de insulina y mejora sus funciones actuando en las células β , como muestra de ello, polifenoles como los flavonoides y taninos actuaron inhibiendo la α -glucosidasa y la α -amilasa enzimas importantes en el metabolismo de la glucosa (28). En un estudio que evaluó la detección de fitoquímicos en *Cleome viscosa. L.* se estimaron el total de fenoles y flavonoides, la capacidad antioxidante in vitro y la actividad antidiabética in vitro en fracciones aisladas mostrando actividad antioxidante y antidiabética superior inhibiendo la actividad de la enzima α -glucosidasa y α -amilasa (29).

Además, según un estudio se ha demostrado que los extractos polifenólicos de *Paeonia officinalis* tienen tanto actividad antidiabética como antioxidante eliminando radicales libres e inhibiendo la α -amilasa sugiriendo su posible uso como agentes contra esta enfermedad (30). Las actividades biológicas de algunos compuestos fenólicos tanto antes mencionados como nuevos y las especies que los sintetizan se muestran en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Algunos compuestos fenólicos de plantas medicinales y su actividad biológica.

| Compuesto Fenólico | Especie de planta | Actividad biológica | Referencia |
|--------------------|-----------------------------------|---|------------|
| Flavonoides | <i>Bauhinia variegata</i> | Actividad antibacterial, potencial citotóxico | (31–33) |
| | <i>Asplenium nidus</i> | contra células cancerígenas, capacidad | |
| | <i>Pseuderthria hookeri</i> | antioxidante. | |
| Ácidos fenólicos | <i>Syzygium cumini</i> | Cardioprotector, actividad antioxidante, | (34–36) |
| | <i>Vaccinium gaultheriifolium</i> | actividad antiinflamatoria, promotores del | |
| | <i>Verbena officinalis</i> | sistema inmune, propiedades | |
| Lignanós | <i>Morus mesozygia</i> | Antioxidante, actividad antimicrobiana, | (37–39) |
| | <i>Pycnanthus angolensis</i> | actividad inhibitoria de la enzima | |
| | <i>Morus alba</i> | fosfodiesterasa. | |
| Estilbenos | <i>Guibourtia tessmannii</i> | Actividad antiplasmodial, actividad de | (40) |
| | <i>E. lasianthum</i> | agregación plaquetaria, actividades | |
| | <i>Cyperus longus</i> | antioxidantes y antialérgicas. | |
| Curcuminoides | <i>Curcuma longa</i> | Antidiabética, antioxidante, antiinflamatorio, inmunomodulador. | (41,42) |
| Antocianinas | <i>Liriope platyphylla</i> | Disminuye la actividad de tirosinasa, inhibe | (43) |
| | <i>Hibiscus sabdariffa</i> | la síntesis de melanina, inhibe la | |
| | <i>Rubus fairholmianus</i> | proliferación celular, citotóxico contra células de melanoma. | |
| Cumarinas | <i>Chenopodium ambrosioides</i> | Actividad antileishmanial in vivo, | (44–46) |
| | <i>Artocarpus heterophyllus</i> | antiinflamatorios y anti-VIH, actividad | |
| | <i>Clausena anisata</i> | antibacterial, | |

3.2. Cultivo de tejidos vegetales como herramienta de producción de compuestos fenólicos.

El cultivo in vitro de tejidos vegetales ofrece condiciones controladas de crecimiento este proceso llamado organogénesis se da usualmente en raíces o callos los cuales presentan un gran potencial para la producción de compuestos bioactivos (14). La micropropagación actualmente tiene un gran número de protocolos disponibles para

plantas medicinales, los avances actuales están más enfocados en la comercialización de estos compuestos y a su vez la preservación de las plantas medicinales (47).

3.2.1. Métodos empleados para la producción a gran escala de compuestos fenólicos.

Los métodos más comunes en el cultivo de tejidos están presentados en la **Figura 3**. La organogénesis, la cual se centra en la diferenciación de los órganos como raíces o brotes, el resultado de este método se puede usar para producción masiva de plantas. La callogénesis por su parte forma una masa celular amorfa en respuesta a distintos reguladores de crecimiento, el resultado se puede usar para generar una planta entera o escalar a una producción de metabolitos en cultivos de suspensión celular (48). La producción de compuestos fenólicos en las plantas cultivadas in vitro es dependiente de diversos factores como la concentración de nutrientes, los reguladores de crecimiento y elicitores o factores de estrés, dentro de los medios más usualmente usados para el cultivo de tejidos vegetales tenemos a MS, B5 y WPM (49).

La micropropagación presenta desventajas en los gastos como en medios de cultivo, electricidad (uso de autoclave, iluminación y las cabinas de flujo laminar), las horas que se invierten en el trabajo de laboratorio cuando un gran número de propágulos deben ser cultivados (50). Toda gira en torno al sustento de la calidad de la planta, la eliminación de somaclones, la ausencia de bacterias, virus, viroides, hongos, y otros patógenos causantes de enfermedades en la planta donante (51).

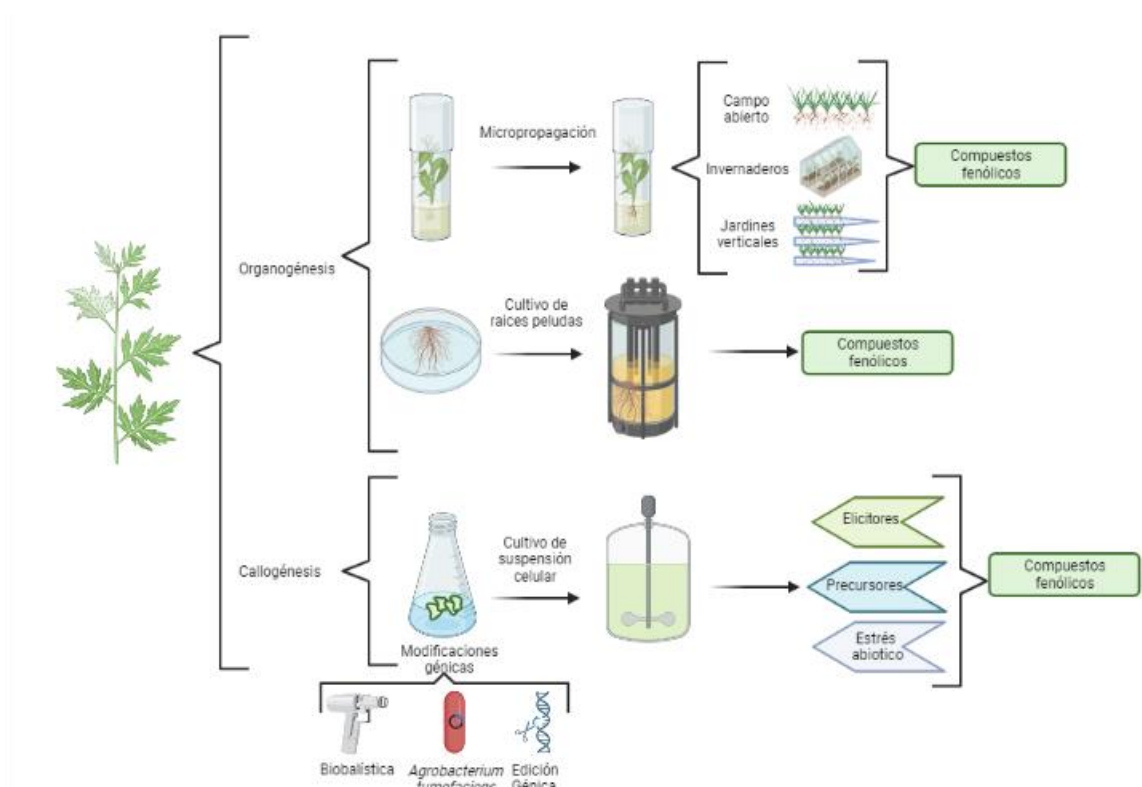


Figura 4. Diagrama de métodos actuales empleados para la producción de compuestos fenólicos a gran escala (14).

3.3. Plantas manipuladas en vías metabólicas como fuente de compuestos fenólicos

La biología molecular se ha expandido dramáticamente en los últimos años debido a la aparición nuevas herramientas de modificación, y los cultivos tejidos vegetales son pertenecientes a este avance, la inserción de nuevos genes en las vías metabólicas es ahora más viable para la producción de compuestos bioactivos (52). Las plantas manipuladas genéticamente se diseñan para ser estables y que puedan presentar una tasa de crecimiento más rápida a la par de una producción mayor en cantidad de biomasa obteniéndose así valiosos compuestos bioactivos, las plantas transgénicas representan una importante fuente de compuestos bioactivos usados en muchos campos como la medicina y la farmacología. (53).

La ingeniería metabólica en plantas modifica vías metabólicas para mejorar la producción de compuestos bioactivos. Se utilizan técnicas como la inserción de genes, la transformación mediada por *Rhizobium rhizogenes* como se esquematiza en la *figura 5*

y otras como biobalística, microinyecciones y transformación de protoplastos para lograr propiedades deseadas (54).

En un estudio de producción de ácidos fenólicos en raíces transgénicas de *Leonurus sibiricus* se evidenció un aumento significativo de ácido neoclorogénico, ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido p-cumarico y ácido ferúlico, todo como resultado de la sobreexpresión del factor transcripcional AtPAP1 (55). Similarmente se mostró que la sobreexpresión de la proteína AP2 de *Catharanthus* en las raíces peludas de *Catharanthus roseus* aumentaron la producción de alcaloides de indol terpenoides los cuales muestran capacidades farmacéuticas como anticancerígenas, antipalúdicas y antiarrítmicas (56). Las raíces transformadas muestran gran capacidad de producción de compuestos fenólicos como es en *Taxus baccata* con la sobreexpresión del gen TXS más un elicitor se superó el 260 % de diterpenos y taxanos compuestos que tienen propiedades anticancerígenas (57).

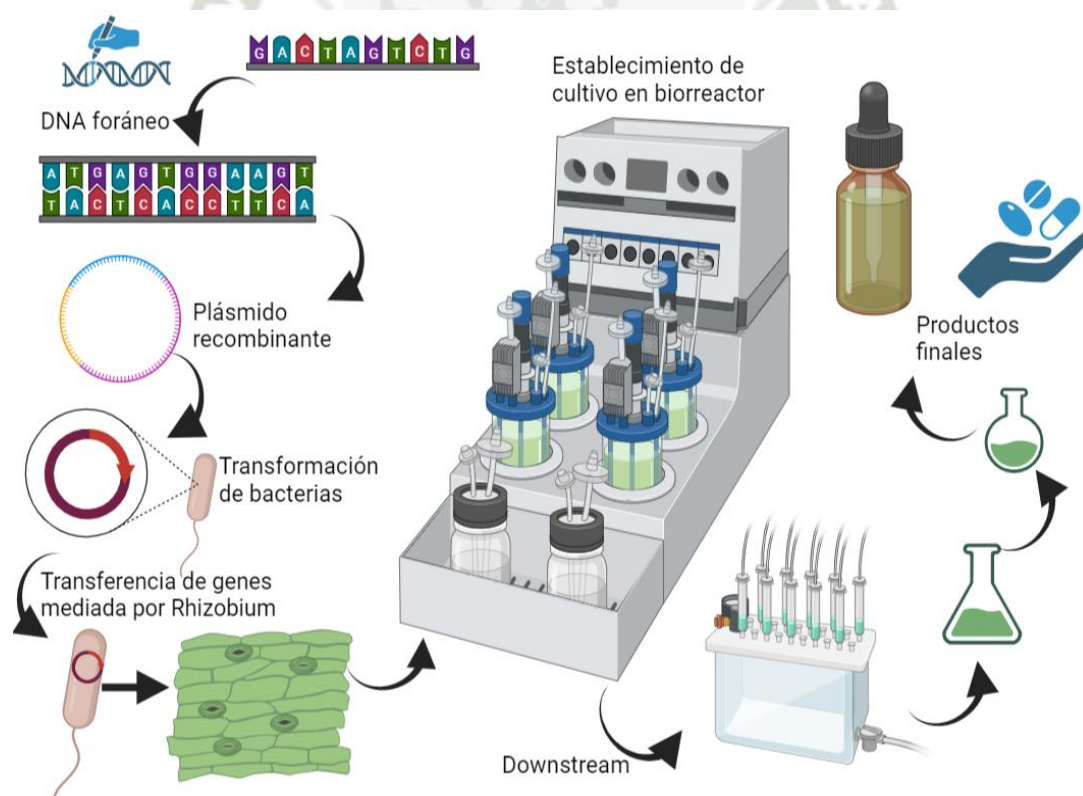


Figura 5. Estrategia común para producir compuestos bioactivos a gran escala utilizando técnicas de edición genética en cultivos de plantas in vitro en biorreactores.

La tecnología CRISPR asociado con las proteínas Cas la cual fue inicialmente descrita como sistema de defensa de algunas bacterias frente a virus, cuenta con un potencial capaz de apuntar a una secuencia “target” en la célula, entonces puede también regular el metabolismo secundario de plantas. (58). Datos mostraron que debido al “knocked out” del gen del ácido rosmarinico sintasa y el gen del diterpeno sintasa disminuyo la síntesis de ácidos fenólicos y tanshiona en líneas de *Salvia miltiorrhiza* respectivamente (59).

Aunque los biorreactores tienen desventajas como la complejidad, el tiempo y el costo asociados, se están superando mediante nuevos diseños y mejoras en los parámetros clave. Incrementan la producción de biomasa y compuestos bioactivos a pesar de desafíos como la estabilidad, uniformidad y formación de espuma (60).

3.4. cultivo de tejidos y órganos de plantas en biorreactores

Una gran ventaja de los cultivos de plantas es su capacidad de realizar un escalamiento reduciendo el costo y el tiempo de producción dando productos libres de contaminación y pudiéndose producir todo el año sin restricciones (61). El cultivo de raíces adventicias se ha explorado in vitro su capacidad de producción de bioactivos debido a su crecimiento acelerado, sostenibilidad y su estabilidad genética respecto a un cultivo celular (62).

Con el fin de clasificar los artículos científicos consultados, en la **Tabla 3** se presenta la relación de artículos científicos consultados incluidos en la revisión sistemática.

Tabla 3. Relación de artículos científicos consultados incluidos en la revisión sistemática con los datos relevantes a tomar en cuenta.

| Especie | Tipo de cultivo | Medio de cultivo | Tipo de Biorreactor | Compuestos polifenólicos/grupos polifenolicos | Ref. |
|-----------------------------------|--|--|---|--|------|
| <i>Leonurus Sibiricus L.</i> | Raíces peludas | Schenk & Hildebrandt | Biorreactor de niebla | ácidos fenólicos | (55) |
| <i>Salvia viridis L.</i> | Brotes | Murashige & Skoog | Plantform | ácidos fenólicos, feniletanoides. | (63) |
| <i>Scrophularia Striata Boiss</i> | Suspensión celular | Murashige & Skoog | FS-01-A05P bioreactor system | Fenoles, flavonoides | (64) |
| <i>Rhodiola rosea L.</i> | callos | Murashige & Skoog | Matraces Erlenmeyer | Compuestos fenólicos totales | (65) |
| <i>Musa acuminata</i> | Brotes | Murashige & Skoog | Biorreactor de columna de burbujeo | Acido Gálico | (66) |
| <i>Aristotelia chilensis</i> | Brotes | Murashige & Skoog | Biorreactor de inmersión temporal | Fenilpropanoides | (67) |
| <i>Rehmannia glutinosa</i> | Raíces adventicias | Woody Plant medium | Columna de burbujeo tipo globo | Actósidos | (68) |
| <i>Nepeta binaloudensis</i> | Callos | Murashige & Skoog, medio B5 de Gamborg | 3 frascos de 200 mL | Compuestos fenólicos totales, flavonoides, taninos | (69) |
| <i>Ceratonía siliqua L.</i> | Cotiledones maduros, explantes de hojas, explantes de hipocótilo, epicolito y raíces | Medio LAC | 5 placas petri con porciones de explantes de 4 a 6 mm le largo de | Compuestos fenólicos totales, flavonoides, taninos | (70) |
| <i>Dioneaea muscipula J.</i> | Brotes | Murashige & Skoog | Matraces Erlenmeyer | Ácido cafeico, miricetina, ácido elagico, hiperosido, ácido salicílico, quercetina | (71) |
| <i>Dracocephalum forrestii</i> | Brotes | Murashige & Skoog | RITA [®] , Plantform [™] , biorreactor de rociado de nutrientes (NSB) | Ácido rosmarinico, derivados de acetina, derivados de apigeninna | (72) |

Continuación de tabla 3

| Especie | Tipo de cultivo | Medio de cultivo | Tipo de Biorreactor | Compuestos polifenólicos/grupos polifenolicos | Ref. |
|--------------------------------|--------------------|-------------------------------------|---|---|------|
| <i>Verbena officinalis</i> | Callos | Murashige & Skoog | STR (Bellco Glass, Vineland, NJ, USA), Custom-made ballon tipe bioreactor | Vebascosido, isoverbascosido y ácidos fenólicos | (36) |
| <i>Dracocephalum forrestii</i> | Brotos | Murashige & Skoog | Biorreactor de rociado de nutrientes | Ácido rosmarinico y ácido salvianólico | (73) |
| <i>Buddleja cordata</i> | líneas celulares | Murashige & Skoog | STR | ácido gálico, verbascosido, flavonoides, quercetina. | (74) |
| <i>Morus alba</i> | callos | Murashige & Skoog | Biorreactor de fondo redondo, biorreactor de fondo plano, airlift | mulberrosido A | (75) |
| <i>Polygonum multiflorum</i> | Raíces adventicias | Murashige & Skoog | Biorreactores de burbujas tipos globo (air-lift) | Antraquinonas, flavonoles, ácidos hidroxicinamicos, ácidos hidroxibenzoicos | (8) |
| <i>Salvia viridis</i> | Raíces peludas | Woody plant (WP) | Matraces Erlenmeyer | Ácido rosmarinico | (76) |
| <i>Hypericum perforatum</i> | raíces peludas | Woody plant (WP), Murashige & Skoog | matraces Erlenmeyer de cuello ancho | Ácido clorogenico, hyperina, hypericina, quercetina | (77) |
| <i>Rosa rugosa</i> | Brotos | Murashige & Skoog | biorreactores air -lift de tipo balón, biorreactor de inmersión temporal | Compuestos fenólicos totales, flavonoides totales | (78) |
| <i>Centella asiática</i> | Brotos | Murashige & Skoog | RITA®. Plantform™ | ácido clorogénico, vainílico, rosmarínico y p-cumárico | (79) |
| <i>Saccharum officinarum</i> | Brotos | Murashige & Skoog | biorreactores de inmersión temporal | Compuestos fenólicos totales | (80) |
| <i>Scrophularia striata</i> | Células vegetales | Murashige & Skoog | Un sistema de biorreactor FS-01-A05P | glucósidos de feniletanoides (Acteosidos, echinacósido) | (81) |

Continuación de tabla 3

| Especie | Tipo de cultivo | Medio de cultivo | Tipo de Biorreactor | Compuestos polifenólicos/grupos polifenólicos | Ref. |
|-------------------------------|--------------------|-------------------|--|--|------|
| <i>Rhodiola sachalinensis</i> | Callos | Murashige & Skoog | Un sistema de inmersión de biorreactor de transporte aéreo de tipo globo | salidrósido, polisacáridos y flavonoides | (82) |
| <i>Polygonum multiflorum</i> | Suspensión celular | Murashige & Skoog | Matraces Erlenmeyer | Ácido gálico (GAE) | (83) |
| <i>Eurycoma longifolia</i> | Raíces adventicias | Murashige & Skoog | Biorreactor de burbujas tipo balón (BTBB) de 5 L | Compuestos fenólicos totales y flavonoides totales | (84) |
| <i>Jasminum malabaricum</i> | Callos | Murashige & Skoog | Continuous shaking extraction (CSE) Orbital Shaker | Compuestos fenólicos totales, taninos condensados totales | (85) |
| <i>Bacopa Monniera</i> | Brotes | Murashige & Skoog | Matraces cónicos, cajas magenta, matraces de vidrio comerciales, biorreactor Growtek | Compuestos fenólicos totales | (86) |
| <i>Morinda citrifolia</i> | Raíces adventicias | Murashige & Skoog | Biorreactores de burbujas tipo balón (BTBBs) | Antraquinonas, flavonoides, compuestos fenólicos | (87) |
| <i>Artemisia absinthium</i> | Callos | Murashige & Skoog | Frascos de vidrio | Compuestos fenólicos totales | (88) |
| <i>Polygonum multiflorum</i> | Raíces peludas | Murashige & Skoog | Matraces Erlenmeyer | Antraquinonas | (89) |
| <i>Schisandra henryi</i> | Microbrote, callo | Murashige & Skoog | Recipientes de vidrio dedicados a tejidos vegetales | dibenzociclooctadieno, lignanos, ácidos fenólicos y flavonoides | (90) |
| <i>Hypericum perforatum</i> | Raíces adventicias | Murashige & Skoog | biorreactores airlift tipo globo, biorreactor airlift tipo tambor horizontal | Compuestos fenólicos totales, flavonoides totales, ácido clorogénico, hiperina, hipericina, quercetina | (91) |
| <i>Rosa rugosa</i> | Brotes | Murashige & Skoog | Matraces Erlenmeyer de 100 mL | Compuestos fenólicos totales, flavonoides totales | (92) |

3.4.1. Tipos de cultivo

a) Raíces adventicias:

Las raíces adventicias son un tejido ampliamente utilizado en cultivo de tejidos comparado con el cultivo celular ya que demuestra mayor estabilidad en la biosíntesis de metabolitos secundarios con altas tasas de crecimiento (8). Las raíces adventicias de *Polygonum multiflorum* fueron elegidas para la producción de compuestos fenólicos en un BBTB de 500 L, permaneciendo la producción y encontrándose actividad enzimática con alto poder antioxidante, el estudio presento la posibilidad de establecer el cultivo a escala comercial (93).

El potencial de las raíces adventicias de *Hypericum perforatum* fue investigado para la producción de fenoles y flavonoides de importancia para el tratamiento de depresión, esta planta contiene un vasto rango de compuestos bioactivos con evidencias documentadas de su eficacia (94). Se desarrollaron cultivos de raíces adventicias en dos biorreactores de 500 L utilizando medio MS con una proporción de nitrato de amonio de 5:25 mM y suplementado con 1,0 mg/L ácido indol butírico, 0,1 mg/L cinetina y 3 % sacarosa obteniendo 4,3 y 6,3 kg de biomasa seca en los biorreactores de 500 L, obteniéndose un total de 66,9 mg/g de fenoles (91).

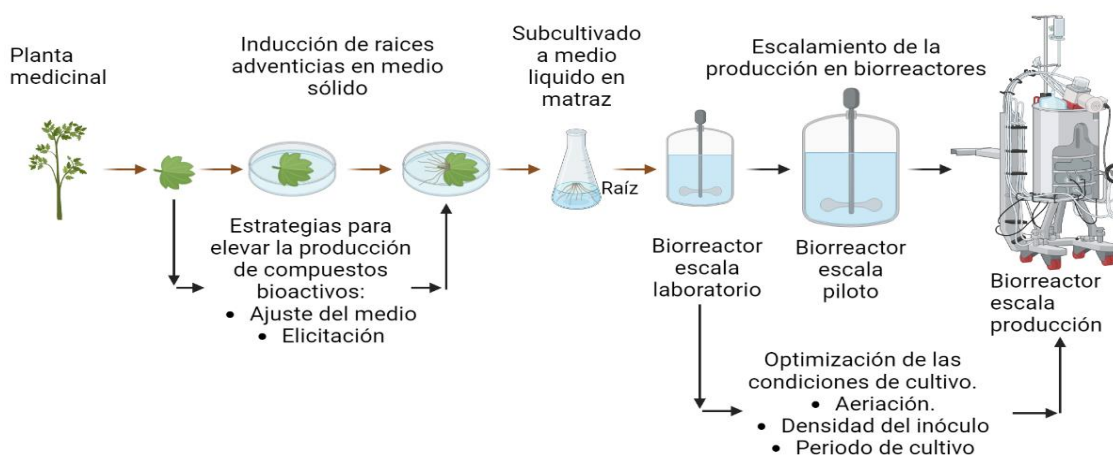


Figura 6. Estrategia de producción a escala para la producción de cultivo de raíces adventicias utilizando el biorreactor.

Morinda Citrifolia o comercialmente llamado Noni, contiene numerosos metabolitos de importancia biológica como antraquinonas, fenoles y flavonoides que son usados en la medicina tradicional (95). Las raíces de esta planta fueron cultivadas en biorreactores de

burbuja tipo balón de 3 L para la producción de antraquinonas, fenoles y flavonoides dilucidando la tasa de aeración óptima, la densidad del inoculo y las concentraciones de sal en el medio Murashige y Skoog los cuales optimizaron la producción de compuestos fenólicos, pero inhibieron la acumulación de biomasa seca (87). El cultivo de raíces adventicias es más estable fisicoquímicamente a diferencia por ejemplo del cultivo celular, facilitando la producción de compuestos bioactivos como fenoles y flavonoides (84). Se ha demostrado que a escala piloto (500 L) las raíces adventicias de *polygonum multiflorum* son viables en cultivo para la producción de biomasa para satisfacer las constantes demandas comerciales en la industria farmacéutica (8).

Para reducir costos de producción en el cultivo de raíces se pueden utilizar reactores descartables junto con buenas prácticas de manufactura y así poder minimizar la complejidad de la limpieza, esterilización, validación y costos en general en el proceso de desarrollo (96). Los reactores de lecho pueden usar estos elementos descartables, en cambio los reactores de niebla son de fase gaseosa y no se puede aplicar esta facilidad, ya que se utiliza un sistema de esterilización acoplado que utiliza ultrasonido, así mismo hay una mayor superficie de contacto llegando a lugares de alta densidad y provocando menor estrés en esas zonas (97).

b) Raíces Peludas

Las raíces peludas se originan por la infección de bacterias, se utiliza usualmente líneas celulares de *Agrobacterium rhizogenes* que mediante un procedimiento de punción del tejido e inmersión dentro de un cultivo de dicha bacteria, que puede poseer o no material genómico recombinante como el plásmido pRiA4 (76). *Agrobacterium rhizogenes* es una bacteria gran negativa que tiene los genes del loci de la raíz (rol) en su genoma dentro del plásmido inductor de la raíz (Ri) los cuales se incorporan al genoma del huésped provocando raíces peludas (89). Las raíces peludas se encuentran por encima del cultivo de callos en cuanto a eficiencia debido a su tasa de crecimiento, sin embargo, su demanda de oxígeno es mayor (98). Debido a esta diferencia en la tasa de crecimiento frente a los callos como a las raíces adventicias las raíces peludas transformadas de *Leounurus sibiricus* L. fueron cultivadas en un biorreactor de 5 L para evaluar la producción de

ácidos fenólicos (ácido clorogénico y ácido(55).

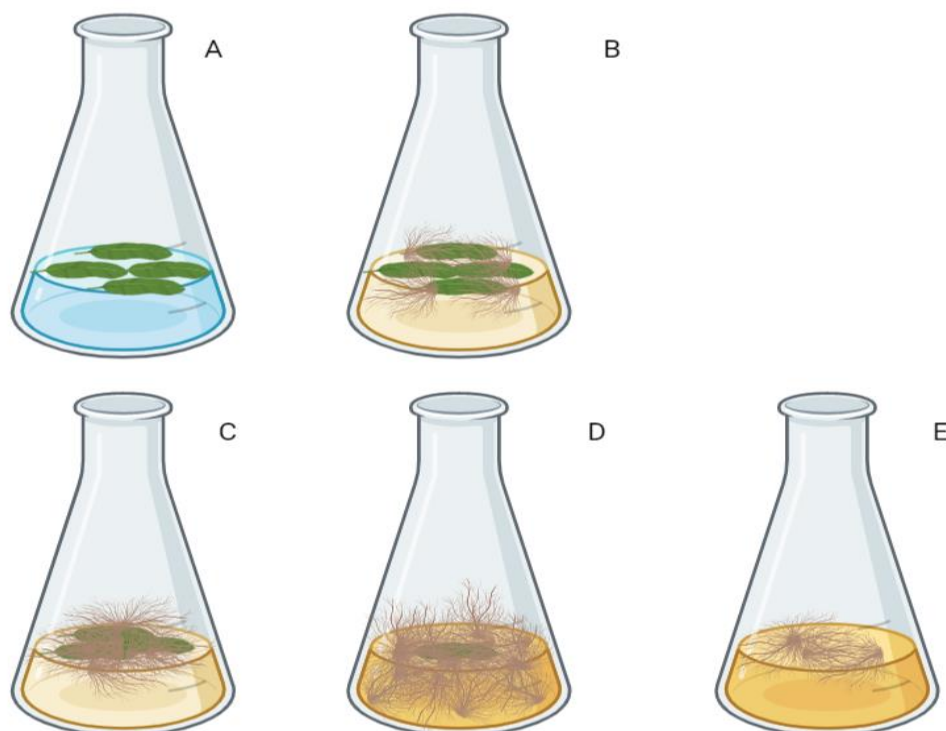


Figura 7. Inducción de raíces peludas a partir de explantes de hojas mediada por la transformación genética de la cepa de *Agrobacterium rhizogenes* R1000 **A** explantes de hoja transformados; **B** inducción, **C** segunda inducción, **D** proliferación, **E** raíces peludas secundarias proliferadas (99).

Asimismo, otra bacteria usada para la transformación de raíces es *Rhizobium rhizogenes* utilizado en raíces *Senna obtusifolia*, una planta que contiene numerosos compuestos bioactivos como polifenoles, alcaloides, terpenoides y antraquinonas, en un estudio se evaluó la producción de antraquinonas en un biorreactor de aspersión de 10 L (100).

Una de las principales ventajas de los cultivos de raíces peludas es que pueden producir metabolitos secundarios comparables y en casos superiores a las plantas no transformadas esto debido a que los genes rol inducen la biosíntesis de metabolitos secundarios activando la transcripción de genes de defensa (77).

Los biorreactores usualmente usados para el cultivo de raíces peludas pueden ser divididos en reactores de fase líquida o de fase gaseosa, los de fase líquida usualmente se denominan sumergidos al contrario los reactores de fase gaseosa el tejido está expuesto al aire o alguna mezcla de gases, los nutrientes son proporcionados por microgotas de todos los tamaños (101).

c) Suspensión celular

Otro cultivo que representa un proceso simple y de costo reducido para la producción de compuestos fenólicos es el cultivo en suspensión celular, dado a que se aprovecha la capacidad de total potencialidad celular de las células vegetales (102). Con este fin se desarrollaron muchos métodos de producción a gran escala en biorreactores que dan como resultado grandes rendimientos, sin embargo, aún se requiere investigación experimental constante en el diseño de los reactores y en el proceso preliminar de escalamiento (11).

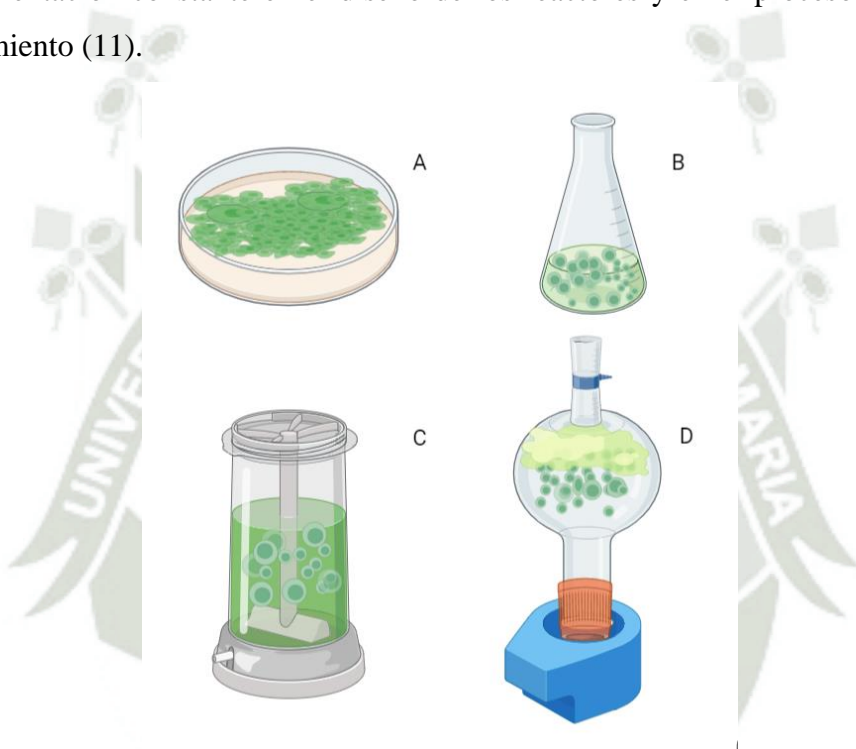


Figura 8. Diferentes tipos de cultivos in vitro de *Verbena Officinalis* A cultivo de callos sin el recipiente de cultivo B crecimiento de cultivos en suspensión en matraces de agitación C cultivos en suspensión creciente en un biorreactor de tanque agitado (STR) D cultivos en suspensión creciendo en un biorreactor de balón (BB) (36).

El cultivo celular en suspensión de callos de *Verbena Officinalis* fue optimizado en un biorreactor para la producción de biomasa y glicósidos fenilpropanoides, ácidos fenólicos, flavonoides e iridoides, utilizando dos tipos de biorreactores uno de configuración tipo balón y un reactor de tanque agitado, todos los cultivos fueron mantenidos en un medio MS suplementado con las siguientes concentraciones de reguladores de crecimiento: 1 mg/L BAP (6-benzilaminopurina) y 1 mg/L de NAA (ácido acético-1-naftaleno), se cuantificaron seis ácidos fenólicos por el método HPLC-DAD (36).

Los cultivos in vitro de células de *Buddleja cordata* producen ácidos hidroxicinámicos, en un trabajo de investigación en el que se determinó el efecto de la velocidad de agitación en el crecimiento y la producción de ácidos fenólicos hidroxicinámicos se optimizaron 2 reactores de 2 L y 3 L a diferentes velocidades de agitación (120 y 400 RPM) obteniéndose en el reactor STR de 2 L, 11,8 g/L de rendimiento, el contenido de fenoles fue dos veces más alto en STR (74). Similarmente en otro estudio se utilizó un cultivo de células en suspensión de *S. striata* desde matraces de agitación hacia un biorreactor de 10 L para la producción de feniletanoides, se evaluaron diversos parámetros para el crecimiento óptimo de la biomasa como pH, rango del flujo de aire y la velocidad de agitación a cierta temperatura en la oscuridad, obteniéndose 30,68 $\mu\text{g/g}$ de acteosidos y 1449,39 $\mu\text{g/g}$ de echinacósido (81).

El control de diferentes parámetros dentro de los biorreactores de células vegetales hace posible monitorear la concentración de oxígeno disuelto, el pH, temperatura y la agitación del medio determinando la producción de metabolitos secundarios y el crecimiento celular (81). Usar este tipo de cultivo en biorreactores representan desafíos importantes como mantener en suspensión el cultivo luego de la transferencia de matraz al biorreactor, la obtención de una mezcla homogénea que garantice una correcta transferencia de materia y energía la que se puede mejorar con el uso de impellers (74). Las técnicas de elicitation pueden contribuir con una óptima producción de compuestos bioactivos, el ácido jasmonico y el ácido salicílico son hormonas y moléculas señalizadoras que fueron utilizadas en cultivos en suspensión celular de *Polygonun multiflorum* para la producción de antraquinonas y compuestos fenólicos obteniéndose gran acumulación de biomasa y síntesis de bioactivos (83). Los biorreactores conductores de aire influyen en el crecimiento del cultivo de células de *Morus alba* interviniendo varios factores como la aireación, circulación de biomasa y la hidrólisis enzimática endógena los cuales bajo condiciones apropiadas se obtuvo gran cantidad de biomasa, pero baja cantidad de metabolitos secundarios estos debido al daño celular mecánico en el biorreactor y la posterior hidrólisis enzimática (75). Los cultivos en suspensión demuestran que poseen altas tasas de crecimiento sin embargo se observa una tendencia a necrosis, además el oscurecimiento en el medio y el tejido indican una correcta liberación de compuestos fenólicos en el medio (36).

d) Callos

Los callos vegetales se cultivan in vitro con reguladores de crecimiento en medios específicos. Los compuestos bioactivos producidos dependen del medio y del explante. Un estudio en callos de *A. absinthium* sugiere que los reguladores NAA y TDZ promueven la acumulación de biomasa y fenoles (88). Se evaluaron cultivos in vitro de *Schisandra henryi* con diferentes medios, períodos de cultivo y reguladores de crecimiento. Los microbrotes mostraron mayor producción de metabolitos que los callos. *S. henryi* produjo mayores cantidades de lignanos y ácidos fenólicos que otras especies de *Schisandra* (90).

Los resultados del estudio muestran una condición óptima para la producción de compuestos fenólicos en cultivos de callos de *Nepeta binaloudensis*. La combinación de glutatión reducido y 1 B, 2 N incrementó la producción de compuestos fenólicos, lo que sugiere su uso en la producción in vitro de estos compuestos (69). Es común observar la utilización de hormonas que son utilizadas a diferentes concentraciones tal es el caso de las auxinas y citoquininas en medio MS basal para establecer cultivos de callos de rápida proliferación a partir de explantes y posteriormente obtener un buen crecimiento de los callos (85).

Los cultivos de callos también tienen algunas desventajas estas pueden ser genéticamente inestables y pueden perder su capacidad para producir compuestos bioactivos con el tiempo. Además, los cultivos de callos pueden ser difíciles de mantener y pueden requerir un cuidado y atención constantes para evitar la contaminación y el crecimiento excesivo (85). Los cultivos de callos tienen desventajas, como altos costos y necesidad de mantener la esterilidad. El escalado para producción a gran escala es difícil debido a condiciones precisas y estériles. Hay limitaciones en la producción de metabolitos, e incluso falta de producción en algunos casos (65).

El tipo de explante y la luz afectan las respuestas morfogénicas y la producción bioquímica de los callos. Los cotiledones producen más biomasa, mientras que los callos de hojas tienen mayor cantidad de polifenoles y flavonoides, pero menos taninos condensados que los callos de cotiledones (70). En general, los resultados del estudio indicaron que los callos de algarrobo tienen el potencial de producir compuestos fenólicos

con actividad antioxidante mejorada que se favorece mediante el cultivo en condiciones de oscuridad.

Varios factores, como el diámetro del difusor, la intensidad de luz, la concentración de sacarosa y la fuerza de la sal, afectan el cultivo de callos de *Rhodiola sachalinensis* en un biorreactor. La duración del cultivo también es crucial para la producción masiva de compuestos bioactivos (82). En otras especies de plantas, la intensidad de luz y otros factores fisicoquímicos también pueden afectar el crecimiento de los callos y la biosíntesis de metabolitos.

Entonces, los compuestos bioactivos producidos por los cultivos de callos se utilizan en diversas aplicaciones, como en la producción de medicamentos, productos cosméticos, alimentos funcionales y otros productos. Los cultivos de callos son una alternativa prometedora a la producción convencional de compuestos bioactivos, ya que se pueden optimizar las condiciones de cultivo para maximizar la producción de los compuestos de interés.

e) Brotes

Los brotes son plantas que se cultivan específicamente para consumo. Estos brotes son las partes jóvenes y tiernas de las plantas que se cosechan antes de que se desarrollen completamente. Los brotes son ricos en nutrientes y se utilizan comúnmente en la cocina asiática y en la alimentación saludable (72). Esta técnica se utiliza comúnmente en la producción de plantas ornamentales, frutales y hortalizas, así como en la producción de plantas para la investigación y la cría de mutantes. Los brotes se cultivan en un medio de cultivo estéril y se pueden multiplicar rápidamente en grandes cantidades (80). Estos cultivos tienen como características principales la capacidad de producir una gran cantidad de brotes en un espacio reducido, la posibilidad de obtener plantas genéticamente idénticas a partir de un solo explante y la capacidad de producir compuestos bioactivos de interés farmacéutico o alimentario (86).

Los biorreactores pueden ser utilizados para producir una gran cantidad de plantas de manera eficiente y económica, los cultivos de brotes múltiples pueden ser utilizados en biorreactores a escala comercial para producir compuestos bioactivos útiles para las

industrias farmacéutica y cosmética (78). El sistema de inmersión temporal Plantform ha tenido éxito en la cultivación de tejidos vegetales. Es rentable, fácil de usar y puede escalarse a niveles industriales debido a su buena tolerancia, bajo costo y capacidad de conexión en serie (63).

El biorreactor Plantform se considera el sistema más ventajoso en términos de productividad de metabolitos secundarios seleccionados de tres grupos químicos: centellosidos, ácidos fenólicos y flavonoides. Su productividad en el sistema Plantform es 2,8 veces, mayor que en los cultivos agitados con elicitores, y 1,2 veces mayor que en los cultivos agitados de control (79). La columna de burbujas es un biorreactor utilizado para cultivar brotes. Con un sistema sumergido y un chorro de gas de burbuja, se logra una alta transferencia de gas y nutrientes, sin dañar el cultivo debido a un mínimo estrés de corte (66).

En un estudio sobre *Dracocephalum forrestii*, se cultivaron brotes en biorreactores y tubos de vidrio utilizando medio Murashige y Skoog con 0,2 mg/L de BAP y 0,2 mg/L de IAA. Los brotes cultivados en biorreactores mostraron un mayor crecimiento y acumulación de biomasa, resultando en una mayor producción de metabolitos bioactivos como el ácido rosmarínico y el ácido salvianólico (73). En un estudio con cultivos de Maqui en biorreactores de inmersión temporal fotomixotróficos, se evaluó el efecto de diferentes concentraciones de ABA en la inducción de fenilpropanoides. Los tratamientos con 1 mg/L y 2 mg/L de ABA mostraron una mayor producción de fenilpropanoides según los valores de absorbancia a 320 nm (67).

3.5. Configuraciones más utilizadas

Los costos de procesos muchas veces son la principal causalidad de la configuración de los biorreactores que se utilizan para la producción de biomasa, en tal sentido el diseño y la operatividad óptima juegan un papel determinante (103). Las configuraciones comunes de biorreactores utilizados comercialmente consisten en biorreactores de tanque agitado (STR), biorreactor Airlift (ALB), columna de burbujeo (BC), biorreactores de niebla o aspersión de nutrientes y sistemas de inmersión temporal (TIB), la actividad metabólica y la cinética de los cultivos además de los costos de operación junto con la flexibilidad del manejo condicionan la selección del biorreactor asimismo se debe considerar las

condiciones operativas tales como temperatura, pH, mezclado, asepsia, aireación y el grado de escalabilidad. La **Tabla 4** muestra algunas características, ventajas y desventajas de estos biorreactores.

3.5.1. Comparación de configuración de biorreactores comúnmente utilizadas para el cultivo de células vegetales

A continuación se presentan las configuraciones más utilizadas, una representación esquemática la descripción y las ventajas y desventajas de su uso para la producción de compuestos bioactivos polifenólicos

a) Columna de burbujas

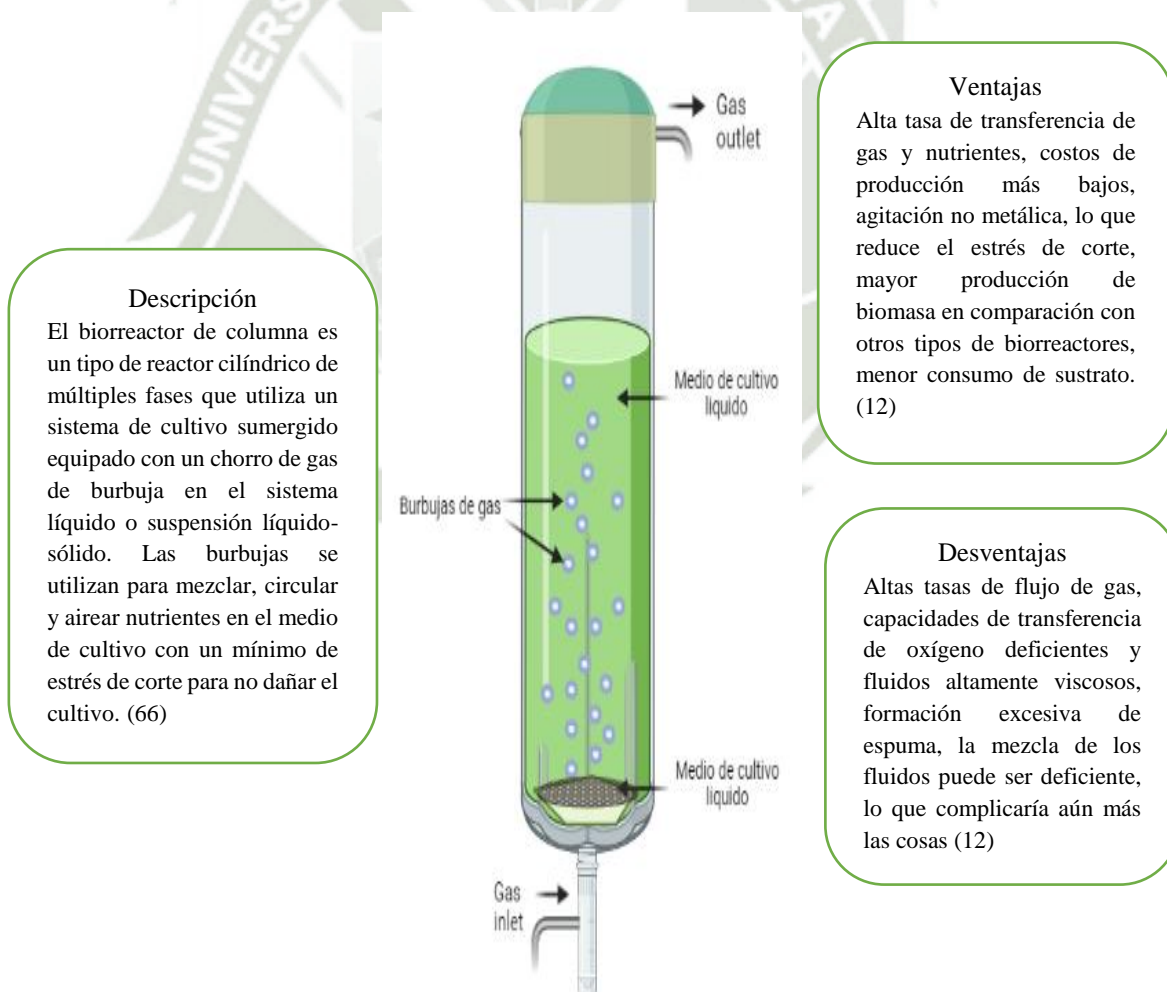


Figura 9. Representación esquemática del biorreactor de columna de burbujas, su descripción, sus ventajas y desventajas (12).

b) Airlift

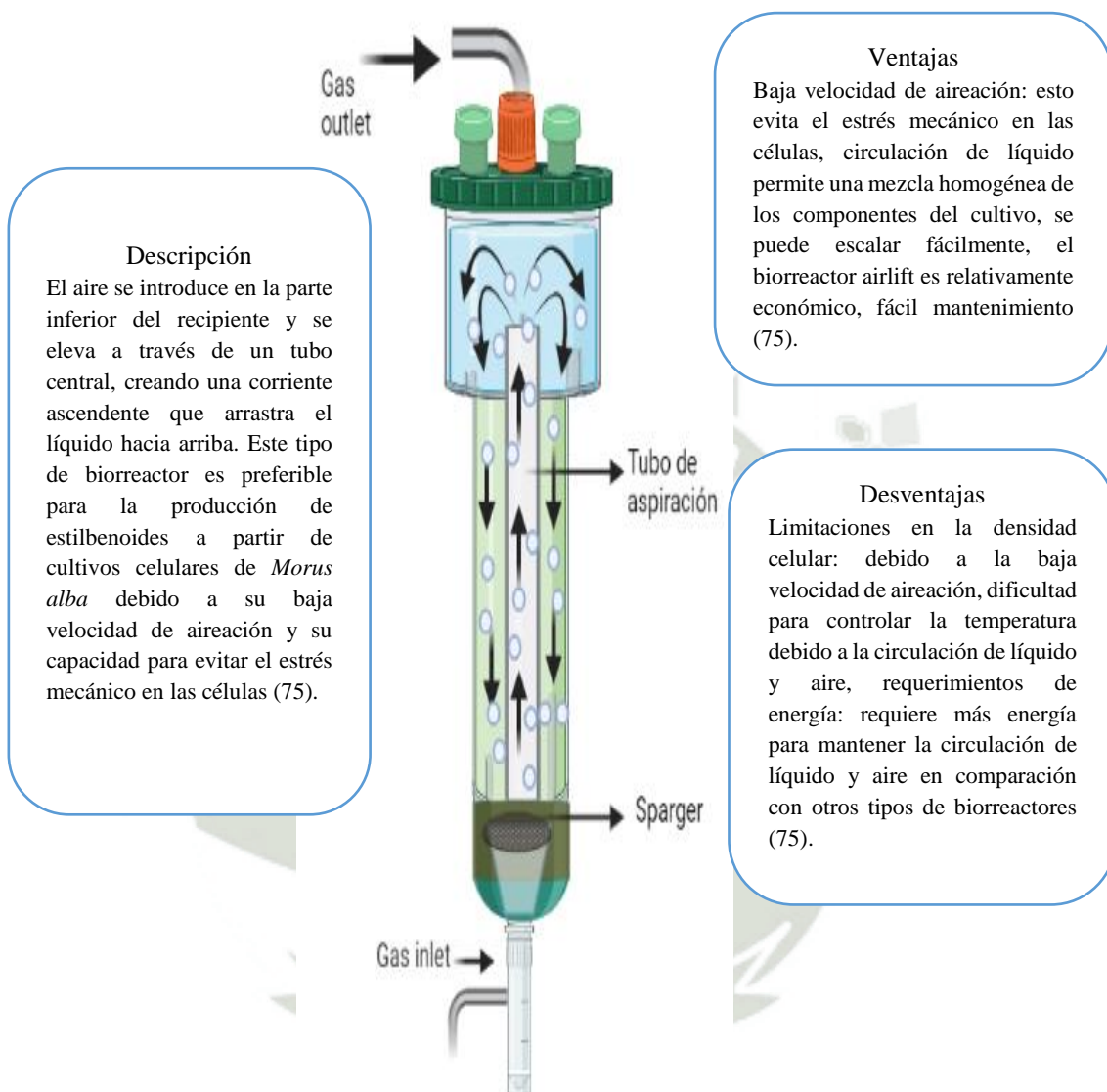


Figura 10. Representación esquemática del biorreactor airlift, su descripción, sus ventajas y desventajas (75).

c) Biorreactor de tanque agitado



Descripción

El sistema consiste en un tanque agitado que contiene el medio de cultivo y las células, y se agita constantemente para asegurar una distribución uniforme de nutrientes y oxígeno en todo el sistema. Además, se proporciona aireación continua para mantener las células en un ambiente óptimo para su crecimiento y producción de metabolitos (36).

Ventajas

La aireación continua proporciona un ambiente óptimo para el crecimiento y producción de metabolitos, el biorreactor STR es fácilmente escalable permite un control preciso de las condiciones de cultivo, como la temperatura, pH y concentración de nutrientes, lo que permite optimizar el crecimiento y producción de metabolitos (36).

Desventajas

Mayor control y monitoreo de las condiciones de cultivo, la necesidad de equipos especializados y la posibilidad de contaminación del cultivo. Además, el costo de adquisición y mantenimiento de un biorreactor puede ser alto, lo que puede limitar su uso en algunos entornos de investigación o producción (36).

Figura 11. Representación esquemática del biorreactor de tanque agitado, su descripción sus ventajas y desventajas. (55)

d) Biorreactor de niebla



Figura 12. Representación esquemática del biorreactor del biorreactor de niebla, su descripción, sus ventajas y desventajas. Adaptado de (55).

e) Biorreactor de inmersión temporal

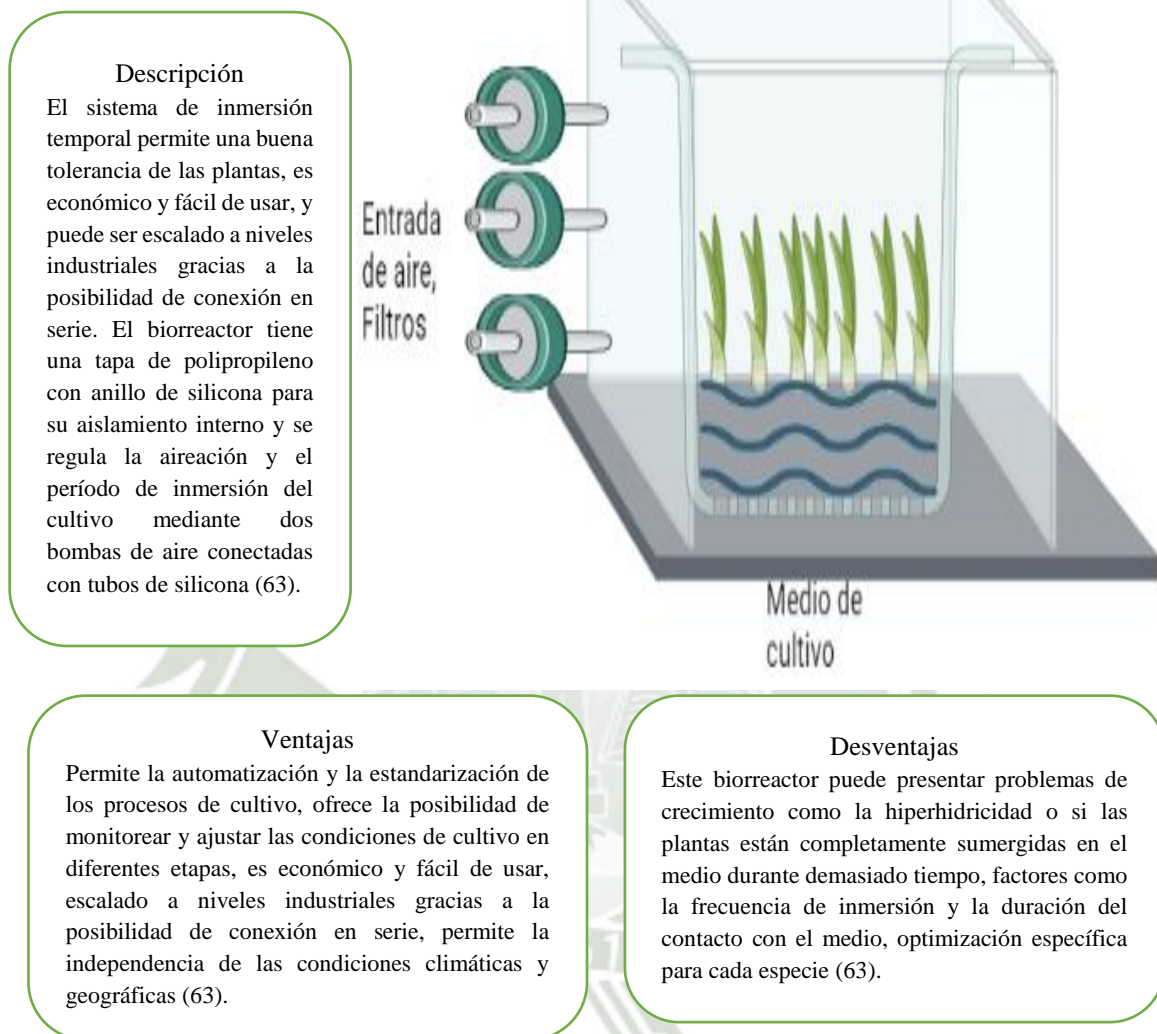


Figura 13. Representación esquemática del biorreactor de inmersión temporal, su descripción, las ventajas y desventajas.

En la revisión sistemática se encontró que en 7 documentos científicos la configuración utilizada fue el biorreactor Airlift y en otros 7 los biorreactores de inmersión temporal para la producción de compuestos bioactivos polifenólicos a partir de tejidos vegetales, siendo ambas configuraciones las más utilizadas en la revisión. Cabe destacar que independientemente del uso de biorreactores también se usaron matraces, placas petri y tubos de ensayo utilizando tanto medios de cultivo sólido como líquido en otros

documentos científicos para determinar la presencia de compuestos fenólicos y en algunos casos la acumulación de estos.

Los biorreactores airlift permiten un control preciso del ambiente de cultivo, los biorreactores airlift tienen un sistema de control de espuma incorporado que pueden reducir la cantidad de espuma generada y mejorar la eficiencia del proceso, pueden mejorar la calidad del producto final al aumentar la producción de compuestos activos y antioxidantes en las raíces adventicias (58).

El biorreactor de burbuja tipo globo fue beneficioso para la producción de biomasa y compuestos bioactivos en cultivos de raíces adventicias de *Morinda citrifolia*. La tasa de aireación, densidad de inoculación y fuerza de la sal del medio MS afectaron la producción, y una tasa de aireación de 0.3 vvm se determinó como óptima (78). El uso de este biorreactor ofrece ventajas como crecimiento rápido, alta acumulación de metabolitos y producción estable, lo que reduce costos y tiempo de producción y mejora la calidad del producto final.

El biorreactor de inmersión temporal RITA es eficiente y requiere menos medio de cultivo, lo que reduce costos y desperdicio. Su sistema de dosificación de presión permite un suministro preciso de nutrientes. Ha demostrado eficacia en la producción de compuestos fenólicos y lactonas sesquiterpénicas, siendo una herramienta valiosa para la producción de metabolitos secundarios (62). Los biorreactores de inmersión temporal RITA y Plantform son utilizados para la producción de biomasa y compuestos fenólicos. En estudios con brotes de Centella asiática, se encontró que el sistema Plantform es más ventajoso en términos de productividad de metabolitos secundarios, permitiendo la combinación de múltiples biorreactores y con un mayor volumen de trabajo (70).

3.6. Ingeniería de biorreactores

Los ingenieros biotecnólogos que diseñan u optimizan tecnologías de biorreactores deben considerar el efecto de las condiciones de operación en la compleja interacción entre los fenómenos de transporte, la termodinámica, la cinética de crecimiento, la actividad metabólica y el mantenimiento de los cultivos celulares vegetales. Basados en esto, deben proponer metodologías para transferir la información observada en cultivos en frascos a

escalas más grandes de biorreactores. Algunas condiciones operativas son críticas porque pueden provocar una disminución en la biomasa, una baja producción de compuestos bioactivos o una pérdida de viabilidad celular.

En la **Tabla 4** se clasificaron los diferentes modelos de operación y condiciones de los biorreactores que se utilizan para la producción de compuestos bioactivos a partir de tejidos vegetales.

Tabla 4. Condiciones utilizadas en los biorreactores y los modos de operación.

| Tipo de cultivo | Diseño de biorreactor | Modo de operación | Condiciones de operación (temperatura, fotoperiodo, aireación) | Referencia |
|---|------------------------------|--------------------------|---|-------------------|
| Suspensión celular de <i>Scrophularia striata</i> | STR | Batch | 25 ± 1 °C, oscuridad, 0.5 o 1.5 L/min. | (81) |
| Suspensión celular de <i>Scrophularia striata</i> | STR | Batch | 25 °C, oscuridad, 0.5 mL/min | (64) |
| Callos de <i>Verbena officinalis</i> | STR | Batch | 23 ± 1 °C, fotoperiodo de 17 horas luz y 24 horas oscuridad, 0.5 vvm | (36) |
| Líneas celulares de <i>Buddleja cordata</i> | STR | Batch | 26 ± 2 °C, 16 horas de luz, 0.1 vvm | (74) |
| Brotos de <i>Dracocephalum forrestii</i> | Biorreactor de niebla | Batch | 16 horas luz 8 horas de oscuridad | (73) |
| Raíces peludas, <i>Leonurus Sibiricus L.</i> | Biorreactor de niebla | - | 25 ± 2 °C | (55) |

Continuación de tabla 4

| Tipo de cultivo | Diseño de biorreactor | Modo de operación | Condiciones de operación (temperatura, fotoperiodo, aireación) | Referencia |
|--|-----------------------|-------------------|--|------------|
| Brotes de Musa acuminata | Columna de burbujeo | Continuo | 25 °C, 24 horas de luz, 1mL/s y 2 ml/s | (66) |
| Raíces adventicias, Polygonum multiflorum | Airlift | Batch | 24 ± 1 °C, condiciones oscuridad total 0.1 vvm | (8) |
| Raíces adventicias de Rehmannia glutinosa | Airlift | - | 24 ± 1 °C, condiciones de oscuridad, 0.1 vvm, | (68) |
| Raíces adventicias de Eurycoma longifolia | Airlift | Batch | 0.1 vvm | (84) |
| Raíces adventicias de Hypericum perforatum | Airlift | Batch | 25 °C, oscuridad, 0.1 vvm | (91) |
| Callos de Rhodiola sachalinensis | Airlift | Batch | 25 ± 2 °C con un fotoperiodo de 16 horas bajo luz fluorescente blanca, | (82) |
| Raíces adventicias, Morinda citrifolia | Airlift | Batch | 23 ± 2 °C, oscuridad, 0.05 a 0.3 vvm | (87) |
| Callos de Morus alba | Airlift | - | 0.10 L/min to 0.4 L/min | (75) |

Continuación tabla 4

| Tipo de cultivo | Diseño de biorreactor | Modo de operación | Condiciones de operación (temperatura, fotoperiodo, aireación) | Referencia |
|-----------------------------------|-----------------------|-------------------|---|------------|
| Brotes de Salvia viridis L. | TIBs | Batch y fed-batch | 26 ± 2 °C, bajo un fotoperiodo de 16 h con luz artificial. | (63) |
| Brotes de Centella asiática | TIBs | - | 25 ± 2 °C, 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad, 1 vvm y 5 min/90 min. | (79) |
| Brotes de Aristotelia chilensis | TIBs | Fed-batch | 25 ± 2 °C, 12 horas de luz | (67) |
| Brotes de Dracocephalum forrestii | TIBs | Fed-batch | 26 ± 2 °C, bajo un fotoperiodo de 16 horas luz | (72) |
| Brotes de Saccharum officinarum | TIBs | - | Fotoperiodo de 8 horas | (80) |
| Brotes de Bacopa Monniera | TIBs | - | 26.0 ± 0.5 °C, Irradiación total de $36 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ durante 16 h de fotoperíodo, 10 % v/v de aireación | (86) |
| Brotes de Rosa Rugosa | TIBs | batch | 24 ± 1 °C, fotoperíodo de 16 horas proporcionado por luz fluorescente blanca fría ($60 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) 0,1 vvm. | (78) |

En la **Tabla 4** el VVM es una medida en biorreactores que es utilizada para expresar la velocidad de suministro de aire o gas al medio de cultivo, crucial para mantener niveles de oxígeno adecuados. Es esencial para el crecimiento y producción de células y compuestos bioactivos, expresado como cantidad de aire o gas por unidad de volumen y tiempo (generalmente minutos) (104).

Una unidad de medida que indica el flujo volumétrico de líquido en un minuto es L/min. En biorreactores, se utiliza para medir el flujo de aire o gas que suministra oxígeno a las células del cultivo. Es esencial para controlar la transferencia de masa y asegurar un crecimiento adecuado de las células y la producción de metabolitos. Además, el flujo de aire afecta la mezcla y homogeneidad del medio de cultivo en el biorreactor, y puede ajustarse según las necesidades del cultivo y el biorreactor utilizado (105). En resumen, VVM se refiere a la velocidad de aireación volumétrica en un biorreactor mientras que L/min, se refiere a la medida del flujo de gas suministrado, que se puede ajustar para proporcionar la velocidad de aireación deseada (106).

La medida de intensidad de luz señalada en la **Tabla 4** $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ es, en fotobiorreactores utilizada para evaluar la tasa de fotosíntesis en microalgas. Es esencial para asegurar una iluminación adecuada en la producción de compuestos bioactivos, siendo afectada por factores como la luz, temperatura, CO_2 y nutrientes (107).

3.7. Efecto de las variables operativas en el rendimiento del biorreactor

De acuerdo con la **Tabla 5** el modo de operación para la producción de compuestos bioactivos a partir de tejidos vegetales en biorreactores fue el batch y en menor medida el fed-batch y con las condiciones de operación estrictamente aeróbicas. En todos los procesos se utilizaron fotoperiodos El fotoperiodo es muy importante en el cultivo ya que proporciona las condiciones de luz adecuadas para el crecimiento del tejido que se utiliza para la producción de los compuestos bioactivos. En las siguientes secciones describimos las variables operativas y su efecto en el rendimiento del biorreactor

3.7.1. Temperatura

La temperatura es crucial para el cultivo de células y la producción de metabolitos. El aumento de la temperatura puede causar envejecimiento prematuro y reducir el rendimiento, es así como se utilizó una temperatura de 26 ± 2 °C determinada anteriormente por experimentación, para optimizar el crecimiento y la producción de metabolitos en la línea celular CSCBc (64).

Sin embargo, la temperatura también puede actuar como un estímulo abiótico en algunos casos. En biorreactores, la temperatura generalmente se mantiene en un rango de 23 a 28°C. Como se puede observar en la **Tabla 5**, aunque la mayoría de los estudios revisados han fijado la temperatura en 25 ± 1 °C. Para controlar la temperatura, se utilizan sondas de temperatura conectadas a biocontroladores o dobles chaquetas que transfieren calor para activar reacciones metabólicas o enfriar el biorreactor debido al calor generado por las reacciones, estos controladores de temperatura se dan en su mayoría en los biorreactores STR (81)(74). Los documentos acerca de los biorreactores de niebla no proporcionan información específica sobre cómo se controló la temperatura. Sin embargo, sí menciona que las células se cultivaron en una atmósfera humidificada con 5 % de CO₂ y que el experimento se realizó a 25 ± 2 °C (55)(73). Se puede suponer que la temperatura se controló dentro de este rango utilizando equipo de laboratorio estándar, como incubadoras de CO₂, cámaras de temperatura controlada o termostatos que mantuvieron la reacción a temperatura constante.

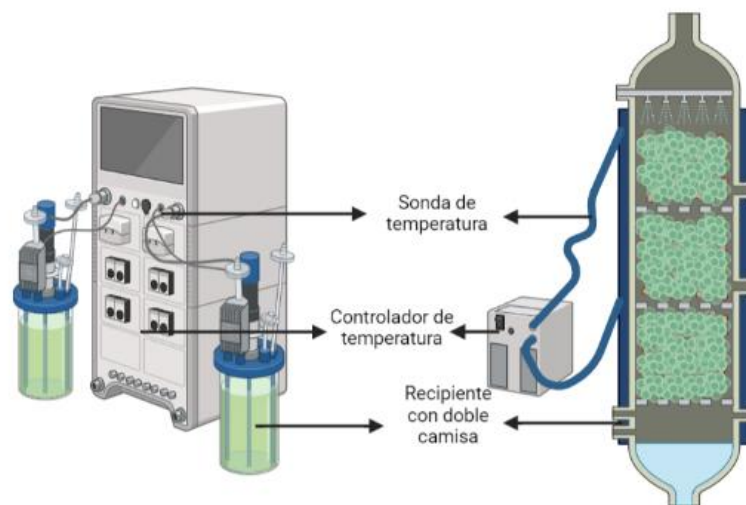


Figura 14. Métodos empleados para el control de temperatura en biorreactores, utilizando sondas de temperatura y recipientes con doble camisa para transferir calor y regular las reacciones metabólicas y el enfriamiento del biorreactor (81).

En los biorreactores airlift desafortunadamente, los documentos no indican explícitamente la información específica sobre cómo se controló la temperatura en el biorreactor. Sin embargo, es una práctica común controlar la temperatura en los biorreactores mediante un sistema de control de temperatura que incluye un sensor de temperatura, un sistema de calefacción o refrigeración y un controlador que regula la temperatura en función del punto de referencia. El sistema de control de temperatura

mantiene la temperatura dentro de un rango específico que es óptimo para el crecimiento del cultivo.

En los biorreactores de inmersión temporal, el control de la temperatura se logra utilizando luz solar natural y tubos fluorescentes blancos fríos. Se mantuvo una temperatura de cultivo de 25 ± 2 °C con una intensidad de luz de $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (67).

En el cultivo de brotes de *Salvia viridis* en TIBs, no se proporciona información explícita de cómo se controló la temperatura en el biorreactor. Sin embargo, menciona que los cultivos fueron sembrados en cámara de crecimiento a 26 ± 2 °C, 80-90 % de humedad, bajo un fotoperíodo de 16 horas en luz artificial (lámparas fluorescentes; $40 \mu\text{m m}^{-2}$). Es posible que la temperatura se controlara utilizando la cámara de crecimiento y la fuente de luz artificial (63). Otro estudio no brinda detalles específicos sobre el control de temperatura en el TIB. Sin embargo, menciona que los biorreactores se esterilizaron con vapor a 120 °C durante 20 minutos antes de su uso. También se mencionan condiciones de temperatura y luz para los cultivos, aunque no está claro si se controlaron específicamente en el biorreactor (79).

3.7.2. Luz

La luz afecta el crecimiento, morfogénesis y producción de metabolitos en cultivos in vitro. La especie, etapa de crecimiento, tipo y duración de la exposición a la luz son factores que influyen en la respuesta fisiológica de los cultivos (11). La mayoría de los cultivos de plantas se exponen a un fotoperíodo de 12/16 horas luz/oscuridad, aunque también se han informado exposiciones a la oscuridad total y a la luz continua, la luz es un factor clave a considerar en el diseño y la optimización de los biorreactores para la producción de compuestos bioactivos (108).

El fotoperíodo de 16/8 h (día/noche) se utilizó para promover el crecimiento de plántulas de *Rosa rugosa*. El fotoperíodo adecuado influye en el desarrollo, metabolismo y producción de metabolitos secundarios. Es un factor crucial a considerar en la producción de cultivos (78). Las condiciones aeróbicas son necesarias para el crecimiento de los cultivos de tejidos vegetales, ya que requieren oxígeno para la respiración y la producción de energía, en algunos casos de utiliza grandes volúmenes de aireación dependientemente de la cantidad de medio de cultivo (86). Se utilizó una iluminación cíclica de 17/24 horas

a una temperatura de 23 ± 1 °C y una intensidad de luz de 88 ± 8 mol m⁻² s⁻¹ en la producción de biomasa de *Verbena officinalis*. Los experimentos demostraron que optimizar el fotoperiodo mejoró la producción selectiva de verbascosido y ácidos fenólicos bioactivos en la biomasa (36).

Se utilizó un ciclo de luz blanca (400-700 nm) y oscuridad (16/8 h) en un biorreactor para mejorar la síntesis de fitoquímicos en cultivos de callos de plantas medicinales. Esta estrategia de elicitación abiótica mediada por luz controló la producción de compuestos derivados de los fenilpropanoides a afectando la actividad enzimática clave en la ruta metabólica de estos (109). Para preservar los metabolitos sensibles a la luz, los cultivos de raíces adventicias de *H. perforatum* se mantuvieron en total oscuridad en el biorreactor. Del mismo modo, las raíces adventicias de *Rehmania glutinosa* son sensibles a la luz, por lo que se cultivaron en la oscuridad para asegurar una alta producción de biomasa y metabolitos estables.(91)(68).

3.7.3. pH

El pH es crucial para el crecimiento y producción de metabolitos en cultivos de células vegetales. Es necesario mantener un equilibrio adecuado de acidez/alcalinidad para evitar la lisis celular. Cambios bruscos pueden afectar la absorción de nutrientes y provocar variaciones o pérdida de producción de metabolitos (110). En el caso específico de la producción de glicósidos de feniletanoides en *Scophularia striata*, se logró mantener un pH de 4,8 mediante la adición automática de alícuotas de NaOH (0,5 mol/L) o HCl (0,5 mol/L) durante el cultivo (81).

El pH en la producción de biomasa y compuestos bioactivos de *Morinda Citrifolia* se mantuvo de 5,0 - 6,0 para el crecimiento de las raíces, pH 7 para la extracción enzimática y la acidificación citoplasmática, es posible que los investigadores indujeran la acidificación citoplasmática agregando un agente acidificante al medio de cultivo o manipulando el pH del medio (87).

La relación NH₄⁺: NO₃⁻ afecta el crecimiento y la acumulación de compuestos bioactivos en brotes de *R. rugosa*. Los resultados mostraron que el nitrato fue más beneficioso que el amonio para el crecimiento y la acumulación de metabolitos. La alta concentración de

amonio acidificó el medio e inhibió la captación de nutrientes, lo que causó estrés en las plantas y aumentó los flavonoides totales. Por lo tanto, el estudio sugiere que la relación $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ afecta el crecimiento y la acumulación de compuestos bioactivos de los brotes de *R. rugosa* (78).

3.7.4. Agitación

Los mecanismos de transporte controlan la producción de compuestos bioactivos y biomasa en los biorreactores, influyendo en la distribución de sustratos y eliminación de productos. La dinámica de fluidos y la mezcla en operaciones por lotes evitan el agotamiento local de sustratos como el oxígeno (111). La capacidad de transferencia de oxígeno (OTR) variará dependiendo de la configuración del biorreactor. A pesar de que los STR exhiben una mejor OTR, tienen algunas restricciones relacionadas con la dispersión del gas a través del recipiente, ya que la mayor transferencia se produce cerca del agitador, reduciendo la concentración de oxígeno disuelto en el medio acuoso (112).

La elección de un difusor adecuado en un biorreactor tipo airlift es crucial para el éxito del cultivo celular. La agitación adecuada mejora la transferencia de masa y oxígeno, lo que aumenta el crecimiento celular y la producción de metabolitos. El diámetro del difusor de aire puede afectar la transferencia de oxígeno y la producción de metabolitos (82). La aireación a alta velocidad en un biorreactor reduce la acumulación de mulberrosido A, mientras que la baja velocidad favorece la producción de estilbenoides en cultivos celulares de *M. alba*. Sin embargo, el tamaño y la forma del biorreactor limitan la tasa de flujo de aire óptima y afectan los niveles de estilbenos (75).

Se utilizó una velocidad de agitación de 110-170 rpm en un biorreactor STR para optimizar la producción de PeG en cultivos de *Scrophularia striata*. La tasa de flujo de aire, los regímenes de aireación y la velocidad de agitación influyeron en el crecimiento celular, el metabolismo y la producción de PeG (36).

La agitación en el biorreactor afecta el crecimiento y la producción de metabolitos secundarios. La velocidad y el tipo de biorreactor influyen en las fases, los parámetros de crecimiento y la producción de metabolitos. Altas velocidades de agitación pueden reducir el crecimiento, los metabolitos y la viabilidad celular (74). La velocidad de agitación afecta el crecimiento y la producción de metabolitos secundarios. Bajas velocidades pueden causar baja oxigenación y agregación celular. En un estudio con *Buddleja cordata*, la velocidad de agitación y el tipo de biorreactor influyeron en el crecimiento y la producción de metabolitos. La mejor producción se observó a 400 rpm en un biorreactor de 2 L con difusor anular (74).

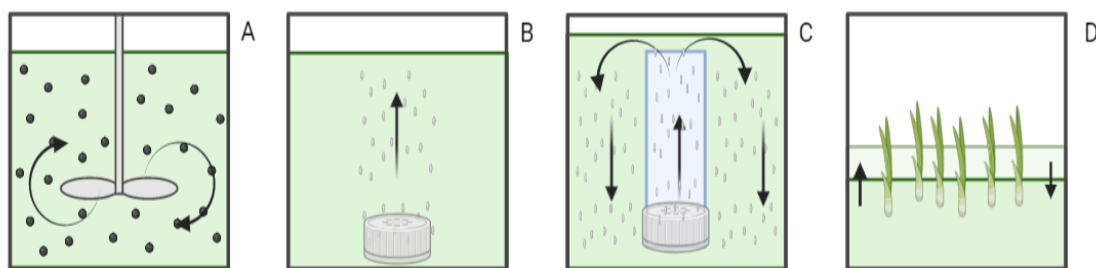


Figura 15. Tipos de agitación en los encontrados en los estudios. A agitación mecánica B agitación neumática columna de burbujas C agitación neumática airlift D inmersión temporal.

Los biorreactores de inmersión temporal sumergen brevemente el material vegetal en el medio líquido, mejorando la absorción de nutrientes y el intercambio de gases. La frecuencia y duración de la inmersión se adaptan a las necesidades de cada especie vegetal cultivada (79). En un experimento de perfiles fenólicos, se aplicó un método en el que los explantes se sumergieron en el medio de cultivo cada 3 horas durante 2 minutos, durante 30 días. Esta técnica mejoró la multiplicación de brotes al permitir la absorción de nutrientes en toda la superficie del explante y restablecer el intercambio planta-aire una vez retirado el medio de cultivo (80). Entonces podemos inferir de los estudios de TIBs que no se da como tal una agitación, pero la transferencia de oxígeno y masa se da mediante el contacto del tejido o plántula con el medio mediante intervalos de inmersión que mejora ambas transferencias y por lo tanto la producción de biomasa y en consecuencia mejores rendimientos de compuestos bioactivos.

Los biorreactores de columna de burbujas también pueden experimentar agotamiento de oxígeno, aunque la transferencia de oxígeno es más notable cerca del sparger y es mayor

a los STR. El tiempo de agotamiento depende de la concentración de oxígeno fuera del área del sparger (113). El biorreactor de columna de burbujas tiene agitación no metálica para un suministro constante de oxígeno. Sin embargo, los brotes no se sumergen por completo en el medio, lo que requiere más energía para transferir nutrientes al tejido meristemático en contacto directo con el medio. (66).

La agitación mostró diferencias significativas entre los sistemas de producción de biomasa en estudio. El tipo de recipiente y sistema de cultivo afecta la composición gaseosa y el contenido de oxígeno en el medio. El biorreactor CIB con 0,1 vvm de aireación logró la máxima acumulación de biomasa (78). Por lo tanto, la tasa de crecimiento celular y la tasa de consumo de sustrato dependen en gran medida de las resistencias fenómenos de transporte y de los tiempos característicos involucrados en cada configuración de biorreactor.

3.8. Rendimiento de los biorreactores

Se estudiaron varios TIB para el análisis in vitro de la respuesta de los brotes de piña a la salinidad y la sequía, así como para la micropropagación y mutagénesis de la caña de azúcar. Se encontró que el TIB es versátil, rentable y reproducible, y mejoró significativamente las tasas de multiplicación de brotes (80). El sistema CIB y TIB produjeron la biomasa más alta de *Rosa Rugosa*, múltiples brotes cultivados en el sistema CIB dieron como resultado la acumulación de 39,21 mg/g de peso seco de fenoles totales y 13,28 mg/g de flavonoides totales. La productividad de fenoles y flavonoides totales fue más alta en los brotes cosechados del sistema CIB (78).

El metil jasmonato en el biorreactor de inmersión temporal Platform aumentaron la acumulación de compuestos en cultivos de *Centella asiática*. Platform fue el más productivo, con incrementos significativos en centellosidos, ácidos fenólicos y flavonoides en comparación con los cultivos agitados de control (79). El sistema de cultivo en lotes de tres semanas fue el más eficiente para la producción de compuestos fenólicos y feniletanoides en brotes de *Salvia viridis* en un biorreactor. El ácido rosmarínico (RA) y el verbascósido (VB) fueron los compuestos predominantes en todos los extractos, con un contenido de RA un 20 % mayor en el sistema de cultivo en lotes de tres semanas que en los brotes cultivados durante dos semanas, y un contenido de VB de

9,80 mg/g de peso seco (63).

Los brotes cultivados en el biorreactor RITA mostraron la mayor producción de compuestos fenólicos totales, mientras que el cultivo en el biorreactor de niebla en plántulas de *Dracocephalum forrestii* tuvo el contenido más alto de compuestos en peso seco. Estos sistemas favorecieron el desarrollo de biomasa y compuestos fenólicos (72). El aumento de la sal en el medio de cultivo promovió la acumulación de salidrósido en callos de *R. sachalinensis*. La concentración de $1 \times MS$ fue óptima para la producción de polisacáridos y flavonoides, mientras que $0,5 \times MS$ fue adecuada para la producción de fenoles. Estos hallazgos son útiles para optimizar la producción de compuestos bioactivos en plantas medicinales (82).

El cultivo en biorreactores mostró mejores resultados en la producción a gran escala de raíces adventicias de *E. longifolia* en comparación con los frascos agitados. Se logró una mayor producción de biomasa, fenoles y flavonoides, alcanzando valores de 38.59 mg/L y 11,27 mg/L de medio, respectivamente, con una relación $NH_4^+ : NO_3^-$ de 15:30 (84). El sistema de biorreactor de inmersión continua (CIB) produjo la biomasa más alta, seguido por el sistema de biorreactor de inmersión temporal (TIB). Múltiples brotes cultivados en el sistema CIB dieron como resultado la acumulación de 39,21 mg/g de peso seco (PD) de fenoles totales y 13,28 mg/g de flavonoides totales (91). La productividad de fenoles y flavonoides totales fue más alta en los brotes cosechados del sistema CIB. La producción eficiente del metabolito secundario acteosido se logró al aplicar los elicitores MeJa y SA en raíces adventicias de *R. glutinosa*. El sistema de producción escalable desarrollado aumentó significativamente la biosíntesis de acteosido en comparación con el sistema de frascos (68).

Se presentan los valores de producción de compuestos fenólicos en varios cultivos de raíces adventicias de plantas, incluyendo *Polygonum multiflorum*. Se encontró que la producción de compuestos fenólicos fue similar en diferentes tamaños de biorreactores. Además, se observó una alta capacidad antioxidante en los extractos de sus raíces adventicias (8). El biorreactor mostró un rendimiento superior en la producción de feniletanoides, con un aumento significativo en la producción de acteosido y echinacosido en comparación con los frascos agitados. La concentración de acteosido fue tres veces mayor y la concentración de echinacosido aumentó 1.36 veces. Además, la biomasa

celular fue similar en el biorreactor y los frascos agitados (81).

La biomasa celular máxima fue similar en el biorreactor y los frascos agitados (15,64 g/L de peso seco vs. 14,16 g/L de peso seco). El contenido de acteosido en el biorreactor fue tres veces mayor (1404,20 $\mu\text{g/g}$ de peso seco) que en los frascos agitados (459,71 $\mu\text{g/g}$ de peso seco). Sin embargo, la concentración de echinacosido disminuyó en el biorreactor, mientras que aumentó en los frascos agitados (1973,03 $\mu\text{g/g}$ de peso seco) (64)

Se obtuvieron cantidades máximas de verbascósido (9,18 %) y una cantidad alta de isoverbascósido (0,34 %) en el biorreactor de tanque agitado con cultivo de *Verbena Officinalis*, se identificaron también seis ácidos fenólicos en los extractos de biomasa de cultivos de suspensión y cultivos de agar (36). En general, los resultados sugieren que los cultivos mantenidos en biorreactores podrían ser una fuente valiosa de compuestos bioactivos alternativos a la planta madre cultivada in vivo.

El biorreactor de columna de burbuja se evaluó en términos de crecimiento de la planta y biomasa. El flujo de 1 ml/s mostró un mayor aumento en la biomasa, 1,9 veces mayor que el peso inicial en 14 días. Concluimos que el crecimiento y producción de antioxidantes en el biorreactor fueron mejores a 1 ml/s que a 2 ml/s (66). El estudio encontró que el uso de un biorreactor de 5 L de niebla resultó en el mayor aumento de peso seco (20.83 g/L) y los rendimientos más altos de ácidos fenólicos (ácido clorogénico 448 mg/L y ácido cafeico 302 mg/L) en las raíces transgénicas de *Leonurus sibiricus* (55). RITA mostró la mayor producción de compuestos fenólicos totales (239,5 mg/L), mientras que el biorreactor de niebla produjo la mayor cantidad de compuestos en peso seco. Los resultados pueden variar según las condiciones de cultivo y la planta utilizada (73).

3.9. Producción de compuestos bioactivos en matraces

En un estudio, se analizó la capacidad biosintética de *Schisandra henryi* mediante cultivos in vitro con diferentes condiciones y reguladores de crecimiento. Se encontró que los cultivos in vitro produjeron más metabolitos secundarios que las hojas de la planta original, lo que ofrece posibles aplicaciones en la industria farmacéutica y nutracéutica (90).

El estudio evaluó el efecto del thidiazuron (TDZ) en cultivos de callos de *Artemisia absinthium*. Se encontró que una concentración de 1,0 mg/L de TDZ y 1,0 mg/L de NAA resultaron en la mayor producción de biomasa fresca y seca, así como en un contenido más alto de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en los callos. Esto sugiere el potencial de los cultivos in vitro de *A. absinthium* para la producción de compuestos fenólicos medicinales (88). Además, el estudio encontró que la acumulación de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante dependen de la concentración y el tipo de reguladores del crecimiento de plantas utilizados, así como de la edad del callo.

El estudio examinó la producción de biomasa y metabolitos secundarios en *Rosa rugosa* durante el cultivo in vitro y la aclimatación ex vitro. Una concentración de 4,4 μ M de BA promovió el crecimiento de brotes y los brotes de un año cultivados ex vitro tuvieron un mayor contenido de fenoles y flavonoides. Las plantas jóvenes, cultivadas in vitro y aclimatadas, produjeron niveles más altos de metabolitos secundarios que las plantas adultas en campo. El estudio desarrolló un protocolo de regeneración de plantas y evaluó cambios en el crecimiento y compuestos bioactivos durante la aclimatación. Las plantas jóvenes cultivadas in vitro y aclimatadas produjeron niveles más altos de metabolitos secundarios en comparación con las plantas adultas en campo (92).

El estudio investigó formas de mejorar el crecimiento y la producción de compuestos fenólicos en cultivos de callos de *Rhodiola rosea* L. Se encontró que la proporción NH_4^+/K^+ y la concentración de NO_3^- influyen en el crecimiento y producción de compuestos fenólicos, y el uso de un elicitador aumentó su producción. También se discutieron métodos para mejorar la producción de compuestos bioactivos en plantas de *Rhodiola*, como biorreactores, cultivos de callos y la optimización de medios y reguladores del crecimiento.(65)

Se investigó el efecto del explante y la luz en la producción de compuestos antioxidantes en cultivos de callo de *Ceratonia siliqua*. Se observó que los cotiledones generaron más callo, mientras que las hojas produjeron mayor cantidad de polifenoles y flavonoides. La luz incrementó los taninos condensados, pero redujo la actividad antioxidante (70). Investigadores desarrollaron cultivos de callos eficientes y ricos en antioxidantes fenólicos en *Jasminum malabaricum*. Utilizando concentraciones específicas de auxinas y citoquininas en explantes de hojas, se logró obtener una mayor cantidad de

antioxidantes fenólicos. Estos cultivos de callos mostraron una actividad antioxidante significativa y contenían más fenoles totales que las hojas y tallos. El estudio propone un método rentable y productivo para la extracción de antioxidantes fenólicos a partir de cultivos de callos de *J. malabaricum* (85).

El estudio buscó aumentar la producción de compuestos fenólicos en *Dionaea muscipula*, una planta carnívora, mediante el uso de agitación rotatoria y elicitors bióticos. Se encontró que el cultivo en medio líquido con agitación rotatoria generó mayor acumulación de compuestos fenólicos en comparación con el medio sólido. Además, la elicitación con lisado de células bacterianas de *Cronobacter sakazakii* aumentó la síntesis de ciertos compuestos fenólicos en el tejido de la planta. El extracto resultante mostró una mayor actividad antioxidante y bactericida contra *Staphylococcus aureus*, pero no contra *Escherichia coli* (71).

Un estudio investigó la producción de compuestos fenólicos y antioxidantes en la planta medicinal *Nepeta binaloudensis* mediante cultivo de tejidos estos fueron cultivados en frascos de 200 ml a un pH de 5.8, se encontró que el uso de explantes de hojas y un medio de cultivo con una combinación de BAP, NAA y glutatión reducido resultó en la producción más alta de compuestos fenólicos y antioxidantes (69). El estudio encontró que las raíces pilosas de *Polygonum multiflorum* cultivadas en medio líquido con sacarosa mostraron la mayor acumulación de biomasa, antocianinas y compuestos fenólicos. Estas raíces también exhibieron mayor actividad antioxidante y antimicrobiana. Se destaca la importancia de la transformación genética y el uso de biorreactores para la producción a gran escala de estos compuestos (89).

Varios estudios investigaron la producción de compuestos bioactivos en cultivos de raíces pilosas y clones transgénicos de *Hypericum perforatum*. Los clones transgénicos mostraron una mayor producción de compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes y antibacterianas. Se discuten los métodos de transformación y cultivo para aumentar la producción de estos compuestos, se destacó la importancia de optimizar las condiciones de cultivo y la composición del medio para obtener el máximo rendimiento (77).

Para aumentar la producción de compuestos farmacológicos, se establecieron cultivos de raíces pilosas de *Salvia viridis* utilizando *Agrobacterium rhizogenes*. Se identificaron 10 compuestos derivados del ácido cafeico en las raíces transformadas, destacando el ácido

rosmarínico. El cultivo de raíces pilosas es una técnica prometedora para la producción de compuestos valiosos en *S. viridis* (76).

4. PERSPECTIVAS FUTURAS

Tenemos entonces un concepto claro de la importancia de la utilización de biorreactores para la producción de compuestos bioactivos a partir de tejidos vegetales los cuales muestran resultados prometedores para el escalamiento a nivel industrial en algunos casos. La investigación en esta área ha sido estudiada durante décadas debido a la demanda de compuestos bioactivos. Se sugiere desarrollar estrategias para mejorar la producción de estos compuestos en cultivos celulares de plantas bajo estrés osmótico. Además, se proponen modelos metabólicos para futuros estudios en la producción de compuestos bioactivos en plantas (64). Trasladar los procesos biosintéticos de frascos agitados a biorreactores es crucial para la producción comercial de cultivos celulares de plantas. Los biorreactores ofrecen beneficios en el control y monitoreo de parámetros de cultivo, permitiendo el estudio del comportamiento celular y producción de metabolitos. La investigación futura se enfocará en optimizar la producción de metabolitos secundarios mediante biorreactores (81).

La posibilidad de utilizar cultivos *in vitro* mantenidos en biorreactores como fuente valiosa de compuestos bioactivos alternativos a las plantas parentales cultivadas *in vivo* tiene un futuro prometedor, destacar la importancia de los productos naturales para encontrar nuevos candidatos a fármacos como el verbascósido e isoverbascósido estos podrían ser utilizados como medicamentos multitarget que apuntan a diferentes objetivos intracelulares (36). El desarrollo de métodos más eficientes y sostenibles para la producción de metabolitos secundarios, así como la optimización de los procesos de cultivo en biorreactores para mejorar la productividad y la calidad de los metabolitos producidos. También se espera que los resultados del estudio contribuyan al desarrollo de alternativas más sostenibles y rentables para la producción de medicamentos y productos naturales derivados de plantas (74).

R. rugosa tiene potencial a gran escala para la producción de compuestos fenólicos y flavonoides mediante genes extranjeros y proteínas recombinantes. Un estudio busca

aplicar la tecnología de biorreactores de forma eficiente y económica en la producción comercial de compuestos bioactivos de plantas a gran escala. (78). Los estudios indican que los biorreactores podrían ser utilizados en la producción comercial de compuestos bioactivos. Es importante seleccionar y optimizar los parámetros del biorreactor para satisfacer la demanda de plantas medicinales y futuras investigaciones en este campo. (8,68,91).

Las plantas endémicas son una valiosa fuente de compuestos bioactivos únicos. Estudios en *Corpus Huay* (*Gentianella bicolor*), una planta medicinal peruana, buscaban identificar los metabolitos secundarios en los callos inducidos a partir de hojas. Se encontraron esteroides, flavonoides, taninos, leucoantocianidinas y aminoácidos (114). *Ligaria cuneifolia* crece en diferentes regiones geográficas de Argentina, incluyendo la provincia de San Juan y la provincia de Catamarca. La planta produce compuestos fenólicos, incluyendo flavonoides, ácidos hidroxicinámicos y proantocianidinas (115). Es necesario continuar optimizando otras variables, como la fuente de carbono, el medio de cultivo base o la adición de otras combinaciones de reguladores de crecimiento para lograr mejores rendimientos de biomasa para su posterior escalado en el biorreactor. Es así como con los antecedentes de producción de compuestos bioactivos de plantas medicinales regionales se puede realizar en nuestro país investigaciones con carácter de escalabilidad a biorreactores.

Mejorar la producción de metabolitos secundarios en cultivos de células y tejidos de plantas implica: (1) Entender los mecanismos de regulación metabólica; (2) Usar ingeniería metabólica para manipular enzimas reguladoras; (3) Diseñar biorreactores económicos con control mínimo; y (4) Mejorar técnicas de bioprocesamiento y buscar nuevos polímeros para inmovilizar células y separar productos (116).

La ingeniería genética ha permitido desarrollar bacterias recombinantes que producen compuestos bioactivos. Las bacterias endófitas también producen metabolitos secundarios como péptidos, alcaloides, esteroides y flavonoides, ayudando a controlar patógenos. Ejemplos incluyen *Streptomyces exfoliatus* UC5319 (pentaleneno sintasa) y *Pseudomonas fluorescens* ALEB7B (aumento de sesquiterpenoides oxigenados) (117). El estudio evaluó las propiedades antimicrobianas de compuestos bioactivos sintetizados por actinomicetos aislados de vermicompost. Se identificaron actinomicetos productores

de antibióticos y se caracterizaron. El perfil de compuestos bioactivos reveló presencia de fenol, milbemicina y cercosporina mediante análisis GC-MS (118). Microorganismos endófitos de plantas medicinales silvestres en los Andes peruanos fueron aislados e identificados. Mostraron habilidades promotoras del crecimiento vegetal, como solubilizar fosfato, producir sideróforos e inhibir el crecimiento de *Fusarium oxysporum*. Estos microorganismos podrían usarse como inoculantes para mejorar la agricultura sostenible y conservar plantas medicinales frente a la recolección excesiva (119).

Polifenoles actuales que se producen en la industria se utilizan células madre vegetales en biorreactores para producir polifenoles y otros bioactivos. Ejemplos incluyen el PhytoCellTec™, derivado de células madre de un manzano suizo, utilizado en cosméticos y productos farmacéuticos, y variedades de biorreactores utilizados por Innova BM en *Rosa damascena*, *Haberlea rhodopensis* y *Calendula officinalis* para proteger la piel y retrasar el envejecimiento. También se han patentado composiciones antienvjecimiento y antioxidantes con células madre vegetales de ginseng y extractos de *Ajuga reptans* y *Echinacea angustifolia* (15). Además, se está trabajando en soluciones técnicas para permitir el cultivo simple y económico de células vegetales a mayor escala. La **Tabla 5** proporciona ejemplos de biorreactores patentados para el cultivo de células vegetales.

Las perspectivas futuras incluyen investigar metabolitos secundarios farmacéuticos escasos o difíciles de obtener de plantas naturales, optimizar el diseño y cultivo de biorreactores, combinar estrategias para mejorar la producción de compuestos deseados y explorar técnicas de permeabilización de membrana y eliminación de productos para mejorar la secreción en el medio extracelular (120).

Tabla 5. Ejemplos seleccionados de patentes relacionadas con biorreactores para el cultivo de material vegetal.

| Patente/Numero de aplicación de la patente | Cesionario | Tipo de cultivo vegetal | Año |
|---|---|----------------------------------|------------|
| WO2012044239A1 | - | Cultivo de tejidos | 2012 |
| CN102408991B | Bright Oceans Corp. (Shaanxi, China) | Celulas, tejidos y organos | 2014 |
| CN103120126B | Nanjing University of Science and Technology | Cultivo de tejidos vegetales | 2014 |
| US20140026260A1 | Worcester Polytechnic Institute | Tejidos y órganos, planta entera | 2014 |
| WO2015066779A1 | - | Cultivo de tejidos | 2015 |
| EP2674479B1 | Eppendorf AG (Hamburgo, Alemania) | Cultivo celular | 2015 |
| CN103270946B | Nanjing Biofunction Biological Science & Technology Co Ltd. | Cultivo de tejidos vegetales | 2016 |
| WO2016092098A1 | - | Células, cultivo de tejidos | 2016 |
| CN104770304B | Nanjing Biofunction Biological Science & Technology Co Ltd. | Cultivo de tejidos vegetales | 2017 |
| EP3069591B1 | Fibria Celulose SA (Sao Paulo, Brazil) | Cultivo de tejidos vegetales | 2018 |
| CN104379722B | Eppendorf AG (Hamburgo, Alemania) | Cultivo celular | 2018 |
| USD822223S1 | University of Guelph | Cultivo de tejidos | 2018 |

Continuación tabla 5

| Patente/Numero de aplicación de la patente | Cesionario | Tipo de cultivo vegetal | Año |
|--|--|--|------|
| EP3502229A1 | Evologic Technologies GmbH (Vienna, AT) | Cultivo de Raíces peludas | 2019 |
| US20190282983A1 | Life Technologies Corp (Carlsbad, CA) | Cultivo celular | 2019 |
| CN208857314U | PURUIKANG BIOTECHNOLOGY CO Ltd. (Shenzhen, China) | Celulas vegetales, organos | 2019 |
| CN111226794A | Beijing Forestry University | Embriones maduros somáticos | 2020 |
| CN21224747083U | Zhejiang University of Technology ZJUT | Cultivo celular | 2020 |
| ES2763637B2 | Institut Recerca i Tecnologia Agroalimentaries IRTA | Tejidos vegetales, órganos, semillas y/o células vegetales | 2020 |
| US20200032185A1 | Oklahoma State University | Cultivo celular | 2020 |
| US20200230568A1 | ABEC Inc | Cultivo celular | 2020 |
| US20200339931A1 | Sartorius Stedim Biotech GmbH (Goettingen, Alemania) | Cultivo celular | 2020 |
| US20210130765A1 | Ori biotech Ltd. (London, United Kingdom) | Cultivo celular | 2021 |
| US20210214668A1 | Membio Inc (Mississauga, ON, Canada) | Celulas o tejido de cultivos | 2021 |

Nota: La tabla representa algunos ejemplos seleccionados de patentes relacionadas con el uso de biorreactores en la industria. Tomado de Kowalczyk T, et al. (15).

La luz afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas a través de fotoreceptores que perciben diferentes longitudes de onda. Estos activan la señalización y regulación genética para procesos como fotosíntesis, germinación y producción de compuestos bioactivos cuya interacción aún se investiga (121). El uso de diferentes longitudes de onda de luz LED mejora la calidad y producción de compuestos fitoquímicos en plantas, pero se requiere más investigación para comprender su aplicación y los mecanismos subyacentes. Estudios detallados sobre los efectos fisiológicos y moleculares también son necesarios (122).

Un enfoque a futuro es el uso de nuevos elicitores abióticos y bióticos y los cambios fisiológicos y bioquímicos en las plantas en respuesta a diferentes tipos de estrés, lo que podría tener implicaciones para la producción de metabolitos secundarios (123). Enfoques futuros para la producción de compuestos fenólicos en biorreactores incluyen la selección de líneas celulares productoras, optimización de condiciones de cultivo, ingeniería genética para mejorar la producción y exploración de biodiversidad vegetal en busca de nuevas fuentes de metabolitos secundarios (124). La comprensión de las vías biosintéticas y la regulación de las vías metabólicas secundarias son necesarias para mejorar la producción de compuestos deseados. La producción rápida de plantas y la inducción de raíces *in vitro* son estrategias efectivas para reducir el estrés en las poblaciones naturales (125).

5. CONCLUSIONES

A partir de la revisión de varios estudios, se puede concluir en base al objetivo general que los aspectos más importantes a considerar en el diseño de biorreactores para la producción de compuestos bioactivos polifenólicos, recae en el tipo de cultivo que se va utilizar, es decir las propiedades de las células que varían según la especie en estudio (estrés de corte, formación de agregados y reología) y los fenómenos de transporte relacionados con la configuración del biorreactor ya que, la producción de compuestos polifenólicos se dan varios procesos y requieren enfoques distintos para planificar un experimento en un biorreactor. A continuación, se detallan tres conclusiones del estudio realizado:

Los estudios demostraron que el diseño de biorreactores para la producción de compuestos bioactivos polifenólicos, mediante los datos analizados indican que un biorreactor airlift y un biorreactor de inmersión temporal son los más populares utilizados para la producción de dichos compuestos, ya que, el diseño airlift tiene una estructura simple y no requiere accesorios mecánicos para la mezcla y circulación de fluidos, además, permite la creación de diferencias de densidad y desplazamiento hacia arriba mediante la mezcla de caldo de fluido con una corriente de gas comprimido, es más eficiente en términos de transferencia de masa y transferencia de oxígeno, en general, el biorreactor airlift es una opción atractiva para la producción de metabolitos de plantas debido a sus ventajas en términos de eficiencia y simplicidad de diseño.

Los biorreactores de inmersión temporal permiten un mayor control sobre las condiciones de cultivo, como la temperatura, la agitación y la aireación, tienen una alta eficiencia en la transferencia de masa y la transferencia de oxígeno, son fáciles de operar y mantener, tienen un bajo costo de inversión y operación en comparación con otros tipos de biorreactores. En general, los biorreactores de inmersión temporal son una opción atractiva para la producción de metabolitos secundarios de plantas debido a sus ventajas en términos de eficiencia, control y costo.

Los modelos de operación y condición de los biorreactores usados para la producción de compuestos bioactivos polifenólicos a partir de tejidos vegetales se dan mediante el modo batch (lotes) seguido del fed-batch (lotes alimentados) y con las condiciones de operación

estrictamente aeróbicas. En todos los procedimientos se emplearon fotoperíodos, ya que el fotoperíodo es crucial en el cultivo, al proporcionar las condiciones lumínicas adecuadas para el desarrollo del tejido destinado a la producción de los compuestos bioactivos.

En cuanto a rendimiento, los resultados indican que el uso de biorreactores resultó en una mejor producción de biomasa y compuestos fenólicos en comparación con el cultivo en frascos agitados. En particular, se encontró que el sistema de biorreactor de inmersión continua (CIB) produjo la biomasa más alta y la productividad de fenoles y flavonoides totales fue más alta en los brotes cosechados del sistema CIB. Además, se presentan valores de producción de compuestos fenólicos en diferentes cultivos de raíces adventicias de plantas, y se concluye que los cultivos mantenidos en biorreactores podrían ser una fuente valiosa de compuestos bioactivos alternativos a la planta madre cultivada in vivo. Sin embargo, es importante tener en cuenta que los resultados pueden variar según las condiciones específicas de cultivo y el tipo de planta utilizado.

El cultivo en matraces o frascos de tejidos vegetales son una etapa inicial para experimentación, especialmente adecuada para producción en pequeña escala, investigación y desarrollo de productos. Permite obtener compuestos bioactivos polifenólicos y recolectar datos para escalabilidad y producción masiva en espacios reducidos. También se aplica a la conservación de especies en peligro.

No obstante, tiene limitaciones como costos altos, complejidad de equipos, y necesidad de pericia técnica. Algunos compuestos se generan en menor cantidad que en campo, afectando viabilidad comercial. Los biorreactores, en comparación, ofrecen mayor control en condiciones de cultivo, optimizando producción precisa de compuestos. Pero son más complejos y costosos, requieren adaptación de cultivos.

Las condiciones de operación en el biorreactor afectan el rendimiento celular, por lo que la mezcla y la aireación son factores que influyen en la dinámica de fluidos y en la transferencia de masa y calor a nivel inter e intracelular. Por lo tanto, la optimización de los biorreactores mediante la elucidación del efecto de las condiciones de operación en las propiedades celulares es esencial para obtener mayores rendimientos de compuestos bioactivos. En conclusión, se necesitan más estudios centrados en correlacionar las

variables de operación con la cinética y los fenómenos de transporte para comprender el comportamiento de las células vegetales y proporcionar más bases para el crecimiento óptimo y la producción máxima de compuestos bioactivos en biorreactores.



6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aware CB, Patil DN, Suryawanshi SS, Mali PR, Rane MR, Gurav RG, et al. Natural bioactive products as promising therapeutics: A review of natural product-based drug development. *South African J Bot.* 2022;
2. Pachuau L, Laldinchhana, Roy PK, Zothantluanga JH, Ray S, Das S. Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications. *Adv Struct Mater* [Internet]. 2021 [citado el 2 de julio de 2022];140:687–714. Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-3-030-54027-2.pdf>
3. Caballero Galván AS, Orrego Alzate CE, Cardona Álzate CA. Economic assessment of polyphenolic compounds production at different purities and applications. *Polyphenolics Food Sources, Biochem Heal Benefits* [Internet]. 2017 [citado el 2 de julio de 2022];1–20. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Carlos-Orrego-4/publication/330369288_Economic_assessment_of_polyphenolic_compounds_production_at_different_purities_and_applications/links/5fc7a177a6fdcc697bd36b01/Economic-assessment-of-polyphenolic-compounds-product
4. Giordano A, Morales-Tapia P, Moncada-Basualto M, Pozo-Martínez J, Olea-Azar C, Nestic A, et al. Polyphenolic Composition and Antioxidant Activity (ORAC, EPR and Cellular) of Different Extracts of *Argylia radiata* Vitroplants and Natural Roots. *Molecules* [Internet]. 2022 [citado el 2 de julio de 2022];27(3). Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/3/610>
5. Kundu S, Haque SM, Ghosh B. In Vitro Exploitation of Medicinal Plants for Continuous Supply of Antidiabetic Bioactive Compounds. *Biotechnol Anti-diabetic Med Plants* [Internet]. 2021 [citado el 2 de julio de 2022];25–64. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-16-3529-8_2
6. Datir SS. Plant metabolites as new leads to anticancer drug discovery: Approaches and challenges. *Anticancer Plants Nat Prod Biotechnol Implements.* el 1 de enero de 2018;2:141–61.
7. Smetanska I. Sustainable Production of Polyphenols and Antioxidants by Plant In Vitro Cultures. *Springer* [Internet]. 2018 [citado el 2 de julio de 2022];1–45. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-54600-1_2
8. Ho TT, Lee KJ, Lee J Du, Bhushan S, Paek KY, Park SY. Adventitious root culture of *Polygonum multiflorum* for phenolic compounds and its pilot-scale

- production in 500 L-tank. *Plant Cell Tissue Organ Cult* [Internet]. el 1 de julio de 2017 [citado el 2 de julio de 2022];130(1):167–81. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11240-017-1212-9>
9. Patel P, Patel V, Modi A, Kumar S, Shukla YM. Phyto-factories of anti-cancer compounds: a tissue culture perspective. *Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci* [Internet]. el 1 de diciembre de 2022 [citado el 2 de julio de 2022];11(1). Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1186/s43088-022-00203-5>
 10. Marisol Ochoa-Villarreal, Howat S, Hong SM, Jang MO, Jin YW, Lee EK, et al. Plant cell culture strategies for the production of natural products. *BMB Rep* [Internet]. 2016 [citado el 4 de agosto de 2022];49(3):149–58. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4915229/>
 11. Motolinía-alcántara EA, Castillo-araiza CO, Rodríguez-monroy M, Román-guerrero A, Cruz-sosa F. Engineering considerations to produce bioactive compounds from plant cell suspension culture in bioreactors. *Plants*. 2021;10(12).
 12. Alejandra Motolinía-Alcántara E, Castillo-Araiza CO, Rodríguez-Monroy M, Román-Guerrero A, Cruz-Sosa F, Baptista P, et al. Engineering considerations to produce bioactive compounds from plant cell suspension culture in bioreactors. *mdpi.com* [Internet]. 2021 [citado el 2 de julio de 2022]; Disponible en: <https://www.mdpi.com/1404536>
 13. Kowalczyk T, Merecz-Sadowska A, Rijo P, Isca VMS, Picot L, Wielanek M, et al. Preliminary phytochemical analysis and evaluation of the biological activity of *leonotis nepetifolia* (L.) r. br transformed roots extracts obtained through rhizobium rhizogenes-mediated transformation. *Cells*. el 1 de mayo de 2021;10(5).
 14. Espinosa-Leal CA, Puente-Garza CACA, García-Lara S. In vitro plant tissue culture: means for production of biological active compounds. *Planta* [Internet]. el 1 de julio de 2018 [citado el 2 de julio de 2022];248(1). Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00425-018-2910-1>
 15. Kowalczyk T, Merecz-Sadowska A, Picot L, Brčić Karačonji I, Wieczfinska J, Śliwiński T, et al. Genetic Manipulation and Bioreactor Culture of Plants as a Tool for Industry and Its Applications. 2022 [citado el 2 de julio de 2022];27(3). Disponible en: <https://www.mdpi.com/1467292>
 16. Urrútia G, Bonfill X. PRISMA declaration: A proposal to improve the

- publication of systematic reviews and meta-analyses. Vol. 135, *Medicina Clinica*. 2010. p. 507–11.
17. Page M, McKenzie J, Bossuyt P, ... IB-RE, 2021 U. Declaración PRISMA 2020_ una guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas _ Elsevier Enhanced Reader.pdf. Elsevier [Internet]. [citado el 19 de julio de 2022]; Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300893221002748>
 18. Yepes-Nuñez JJ, Urrútia G, Romero-García M, Alonso-Fernández S. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *Rev Esp Cardiol*. 2021;74(9):790–9.
 19. Namdeo AG, Ingawale DK. Ashwagandha: Advances in plant biotechnological approaches for propagation and production of bioactive compounds. *J Ethnopharmacol*. 2021;271.
 20. Tsao R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*. 2010;2(12):1231–46.
 21. Vuolo MM, Lima VS, Roberto M, Junior M. Classification , and Antioxidant Power [Internet]. *Bioactive Compounds*. Elsevier Inc.; 2019. 33–50 p. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>
 22. Del Rio D, Rodriguez-Mateos A, Spencer JPE, Tognolini M, Borges G, Crozier A. Dietary (poly)phenolics in human health: Structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants Redox Signal*. 2013;18(14):1818–92.
 23. Ray S, Chattopadhyay N, Mitra A, Siddiqi M, Chatterjee A. Curcumin exhibits antimetastatic properties by modulating integrin receptors, collagenase activity, and expression of Nm23 and E-cadherin [Internet]. Vol. 22, *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*. 2003 [citado el 16 de mayo de 2023]. p. 49–58. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12678405/>
 24. Sharifi-Rad J, Rajabi S, Martorell M, López MD, Toro MT, Barollo S, et al. Plant natural products with anti-thyroid cancer activity. *Fitoterapia*. 2020;146(February).
 25. Montané X, Kowalczyk O, Reig-Vano B, Bajek A, Roszkowski K, Tomczyk R, et al. Current perspectives of the applications of polyphenols and flavonoids in cancer therapy. *Molecules*. 2020;25(15).
 26. Zhang CY, Zhang L, Yu HX, Bao JD, Lu RR. Curcumin inhibits the metastasis

- of K1 papillary thyroid cancer cells via modulating E-cadherin and matrix metalloproteinase-9 expression. *Biotechnol Lett.* 2013;35(7):995–1000.
27. Zhang L, Cheng X, Gao Y, Zhang C, Bao J, Guan H, et al. Curcumin inhibits metastasis in human papillary thyroid carcinoma BCPAP cells via down-regulation of the TGF- β /Smad2/3 signaling pathway. *Exp Cell Res.* el 15 de febrero de 2016;341(2):157–65.
28. Bahadoran Z, Mirmiran P, Azizi F. Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: A review. *J Diabetes Metab Disord.* 2013;12(1):1–9.
29. Suresh Y, Rajasekar G, Lavanya T, Lakshminarsimhulu B, Reddy KS, Reddy SR. Antioxidant and antidiabetic properties of isolated fractions from methanolic extract derived from the whole plant of *Cleome viscosa* L. *Futur J Pharm Sci.* 2020;6(1):1–18.
30. Stagos D. Antioxidant activity of polyphenolic plant extracts. *Antioxidants.* 2020;9(1).
31. Mishra A, Sharma AK, Kumar S, Saxena AK, Pandey AK. *Bauhinia variegata* leaf extracts exhibit considerable antibacterial, antioxidant, and anticancer activities. *Biomed Res Int.* 2013;2013.
32. Jarial R, Thakur S, Sakinah M, Zularisam AW, Sharad A, Kanwar SS, et al. Potent anticancer, antioxidant and antibacterial activities of isolated flavonoids from *Asplenium nidus*. *J King Saud Univ - Sci [Internet].* 2018;30(2):185–92. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2016.11.006>
33. Dzoyem JP, Tchamgoue J, Tchouankeu JC, Kouam SF, Choudhary MI, Bakowsky U. Antibacterial activity and cytotoxicity of flavonoids compounds isolated from *Pseudarthria hookeri* Wight & Arn. (Fabaceae). *South African J Bot [Internet].* 2018;114(43234):100–3. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.11.001>
34. Syama HP, Arya AD, Dhanya R, Nisha P, Sundaresan A, Jacob E, et al. Quantification of phenolics in *Syzygium cumini* seed and their modulatory role on tertiary butyl-hydrogen peroxide-induced oxidative stress in H9c2 cell lines and key enzymes in cardioprotection. *J Food Sci Technol.* 2017;54(7):2115–25.
35. Su X, Zhang J, Wang H, Xu J, He J, Liu L, et al. Phenolic acid profiling, antioxidant, and anti-inflammatory activities, and miRNA regulation in the polyphenols of 16 blueberry samples from China. *Molecules.* 2017;22(2).

36. Kubica P, Szopa A, Kokotkiewicz A, Miceli N, Gniewosz M, Elansary HO, et al. Production of Verbascoside, Isoverbascoside and Phenolic Acids in Callus, Suspension, and Bioreactor Cultures of *Verbena officinalis* and Biological Properties of Biomass Extracts Paweł. *Molecules*. 2020;
37. Kapche GDWF, Fozing CD, Donfack JH, Fotso GW, Amadou D, Tchana AN, et al. Prenylated arylbenzofuran derivatives from *Morus mesozygia* with antioxidant activity. *Phytochemistry* [Internet]. 2009;70(2):216–21. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.12.014>
38. Nono ECN, Mkounga P, Kuete V, Marat K, Hultin PG, Nkengfack AE. Pycnanthulignenes A-D, antimicrobial cyclolignene derivatives from the roots of *pycnanthus angolensis*. *J Nat Prod*. 2010;73(2):213–6.
39. Chen SK, Zhao P, Shao YX, Li Z, Zhang C, Liu P, et al. Moracin M from *Morus alba* L. is a natural phosphodiesterase-4 inhibitor. *Bioorganic Med Chem Lett* [Internet]. 2012;22(9):3261–4. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.03.026>
40. Tsopmo A, Awah FM, Kuete V. Lignans and Stilbenes from African Medicinal Plants [Internet]. *Medicinal Plant Research in Africa: Pharmacology and Chemistry*. Elsevier Inc.; 2013. 435–478 p. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-405927-6.00012-6>
41. Pivari F, Mingione A, Brasacchio C, Soldati L. Curcumin and Type 2 Diabetes Mellitus: Prevention and Treatment. *Nutr* 2019, Vol 11, Page 1837 [Internet]. el 8 de agosto de 2019 [citado el 24 de agosto de 2022];11(8):1837. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/8/1837/htm>
42. Rahmani A, Alsahli M, Aly S, Khan M, Aldebasi Y. Role of Curcumin in Disease Prevention and Treatment. *Adv Biomed Res* [Internet]. 2018 [citado el 24 de agosto de 2022];7(1):38. Disponible en: </pmc/articles/PMC5852989/>
43. Diaconeasa Z, Știrbu I, Xiao J, Leopold N, Ayvaz Z, Danciu C, et al. Anthocyanins, vibrant color pigments, and their role in skin cancer prevention. *Biomedicines*. 2020;8(9):1–50.
44. Silveira ES, Castro Rodrigues NL De, Machado NJ, Marciano Fonseca FR, Teixeira MJ, Almeida Moreira Leal LK. Medicinal Plants Containing Coumarin or Essential Oils from the Brazilian Biome May be New Option for Treating Leishmaniasis? *Pharmacogn Rev*. 2021;14(27):53–61.
45. Tao L, Zhuo YT, Qiao ZH, Li J, Tang HX, Yu QM, et al. Prenylated coumarins

- from the fruits of *Artocarpus heterophyllus* with their potential anti-inflammatory and anti-HIV activities. *Nat Prod Res* [Internet]. 2022;36(10):2526–33.
Disponible en: <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1913590>
46. Tamene D, Endale M. Antibacterial Activity of Coumarins and Carbazole Alkaloid from Roots of *Clausena anisata*. *Adv Pharmacol Sci* [Internet]. 2019 [citado el 24 de agosto de 2022];2019. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/aps/2019/5419854/>
 47. Atanasov AG, Waltenberger B, Pferschy-Wenzig EM, Linder T, Wawrosch C, Uhrin P, et al. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnol Adv* [Internet]. 2015 [citado el 16 de mayo de 2023];33(8):1582–614. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26281720/>
 48. Morales-Rubio ME, Espinosa-Leal C, Garza-Padrón RA. Cultivo de tejidos vegetales y su aplicación en productos naturales. *Investig en plantas importancia médica*. 2016;351–410.
 49. Monfort LEF, Bertolucci SKV, Lima AF, de Carvalho AA, Mohammed A, Blank AF, et al. Effects of plant growth regulators, different culture media and strength MS on production of volatile fraction composition in shoot cultures of *Ocimum basilicum*. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2018;116(December 2016):231–9. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.075>
 50. George P, Manuel J. Low Cost Tissue Culture Technology for the Regeneration of Some Economically Important Plants for Developing Countries. *Int J Agric Environ Biotechnol Cit*. 2013;6(December (Special Issue)):703–11.
 51. Ahloowalia BS. Stability of micropropagated plants and mini-tubers of potato. *Acta Hortic*. 2000;530:163–4.
 52. Matsuura HN, Malik S, de Costa F, Yousefzadi M, Mirjalili MH, Arroo R, et al. Specialized Plant Metabolism Characteristics and Impact on Target Molecule Biotechnological Production. *Mol Biotechnol*. el 1 de febrero de 2018;60(2):169–83.
 53. Babich O, Sukhikh S, Pungin A, Ivanova S, Asyakina L, Prosekov A. Modern Trends in the In Vitro Production and Use of Callus, Suspension Cells and Root Cultures of Medicinal Plants. *Molecules* [Internet]. 2020 [citado el 5 de septiembre de 2022];25(24). Disponible en: <https://www.mdpi.com/918162>
 54. Barh D, Azevedo V. Omics technologies and bio-engineering: Volume 2:

- Towards improving quality of life. Omi Technol Bio-engineering Vol 2 Towar Improv Qual Life [Internet]. 2018 [citado el 7 de septiembre de 2022];1–420. Disponible en:
<https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=9klkCwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=V.+Omics+Technologies+and+Bio-Engineering%3B+Elsevier:+Amsterdam,&ots=W5-qkeFxSF&sig=i5Kg7LF222UExS4n777iUsYEqGU>
55. Sitarek P, Kowalczyk T, Picot L, Michalska-Hejduk D, Bijak M, Białas AJ, et al. Growth of *Leonurus sibiricus* L. roots with over-expression of AtPAP1 transcriptional factor in closed bioreactor, production of bioactive phenolic compounds and evaluation of their biological activity. *Ind Crops Prod.* 2018;122(April):732–9.
56. Sun J, Peebles CAM. Engineering overexpression of ORCA3 and strictosidine glucosidase in *Catharanthus roseus* hairy roots increases alkaloid production. *Protoplasma* [Internet]. el 8 de septiembre de 2016 [citado el 8 de septiembre de 2022];253(5):1255–64. Disponible en:
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00709-015-0881-7>
57. Exposito O, Bonfill M, Moyano E, Onrubia M, Mirjalili MH, Cusido RM, et al. Biotechnological Production of Taxol and Related Taxoids: Current State and Prospects. *Anticancer Agents Med Chem.* el 7 de noviembre de 2012;9(1):109–21.
58. Marchev ASAAS, Yordanova ZPZP, Georgiev MIMI, ... ZY-C reviews in, 2020 undefined, Yordanova ZPZP, et al. Green (cell) factories for advanced production of plant secondary metabolites. *Crit Rev Biotechnol* [Internet]. el 18 de mayo de 2020 [citado el 2 de julio de 2022];40(4):443–58. Disponible en:
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07388551.2020.1731414>
59. Li B, Cui G, Shen G, Zhan Z, Huang L, Chen J, et al. Targeted mutagenesis in the medicinal plant *Salvia miltiorrhiza*. *Sci Rep* [Internet]. el 3 de marzo de 2017 [citado el 9 de septiembre de 2022];7(1):1–9. Disponible en:
<https://www.nature.com/articles/srep43320>
60. Wang SJ, Zhong JJ. Bioreactor Engineering. *Bioprocess Value-Added Prod from Renew Resour.* el 1 de enero de 2007;131–61.
61. Sivakumar G, Yu KW, Paek KY. Biosafe ginseng: A novel source for human well-being. *Eng Life Sci.* 2005;5(6):527–33.

62. Sivakumar G. Bioreactor technology: A novel industrial tool for high-tech production of bioactive molecules and biopharmaceuticals from plant roots. *Biotechnol J* [Internet]. el 1 de diciembre de 2006 [citado el 2 de julio de 2022];1(12):1419–27. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/biot.200600117>
63. Grzegorzczuk-Karolak I, Staniewska P, Lebelt L, Piotrowska DG. Optimization of cultivation conditions of *Salvia viridis* L. shoots in the Plantform bioreactor to increase polyphenol production. *Plant Cell Tissue Organ Cult* [Internet]. el 1 de mayo de 2022 [citado el 2 de julio de 2022];149(1–2):269–80. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02168-2>
64. Ahmadi-Sakha S, Sharifi M, Niknam V, Zali H. Production of phenylethanoid glycosides under PEG-induced osmotic stress in *Scrophularia Striata* Boiss. *Cell culture in bioreactor*. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2022 [citado el 2 de julio de 2022];181. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669022003260>
65. Erst ASAAAAS, Petruk AA, Erst ASAAAAS, Krivenko DADA, Filinova NVNV, Maltseva SYSY, et al. Optimization of biomass accumulation and production of phenolic compounds in callus cultures of *rhodiola rosea* L. Using design of experiments. *Plants* [Internet]. 2022 [citado el 2 de julio de 2022];11(1). Disponible en: <https://www.mdpi.com/1432896>
66. Nurhayati N, Esyanti RR, Lambangsari K. Analysis of Plant Growth and Gallic Acid Content for Cavendish Banana (*Musa acuminata*) Shoot Culture with Bubble Column Bioreactor. *J Integr Adv Eng* [Internet]. 2022 [citado el 2 de julio de 2022];2(1):33–44. Disponible en: <http://asasijournal.id/index.php/jiae/article/view/37>
67. Trentini GE, Rojas M, Gajardo D, Alburquenque D, Villagra E, Gómez A, et al. Elicitation of phenylpropanoids in maqui (*Aristotelia chilensis* [Mol.] Stuntz) plants micropropagated in photomixotrophic temporary immersion bioreactors (TIBs). *Plant Cell Tissue Organ Cult* [Internet]. el 1 de septiembre de 2021 [citado el 2 de julio de 2022];146(3):607–19. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11240-021-02097-0>
68. Rahmat E, Okello D, Kim H, Lee J, Chung Y, Komakech R, et al. Scale-up production of *Rehmannia glutinosa* adventitious root biomass in bioreactors and improvement of its acteoside content by elicitation. *Ind Crops Prod* [Internet].

- 2021 [citado el 2 de julio de 2022];172. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669021008244>
69. Sagharyan M, Ganjeali A, Cheniany M, Kouhi SMM. Optimization of callus induction with enhancing production of phenolic compounds production and antioxidants activity in callus cultures of nepeta binaloudensis jamzad (Lamiaceae). *Iran J Biotechnol*. 2020;18(4):47–55.
70. Lozzi A, Mentag R, Alami-Halimi D, Abdelwahd R, Abousalim A. Optimization of callus induction with enhancing production of phenolic compounds production and antioxidants activity in callus cultures of carob (*Ceratonia siliqua L.*). *Nov Biotechnol Chim [Internet]*. 2021 [citado el 2 de julio de 2022];20(2). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8148645/>
71. Makowski W, Tokarz KM, Tokarz B, Banasiuk R, Witek K, Królicka A. Elicitation-based method for increasing the production of antioxidant and bactericidal phenolic compounds in *Dionaea muscipula J. Ellis* tissue. *Molecules [Internet]*. 2020 [citado el 2 de julio de 2022];25(8). Disponible en: <https://www.mdpi.com/690672>
72. Weremczuk-Jezyna I, Lisiecki P, Gonciarz W, Kuzma lukasz, Szemraj M, Chmiela M, et al. Transformed shoots of *dracocephalum forrestii* w.w. smith from different bioreactor systems as a rich source of natural phenolic compounds. *Molecules [Internet]*. 2020 [citado el 2 de julio de 2022];25(19):1–16. Disponible en: <https://www.mdpi.com/846666>
73. Weremczuk-Jeżyna I, Kochan E, Szymczyk P, Lisiecki P, Kuźma Ł, Grzegorzczuk-Karolak I. The antioxidant and antimicrobial properties of phenol-rich extracts of *Dracocephalum forrestii* W. W. Smith shoot cultures grown in the nutrient sprinkle bioreactor. *Phytochem Lett [Internet]*. 2019 [citado el 2 de julio de 2022];30:254–60. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1874390018305986>
74. Vazquez-Marquez AM, Zepeda-Gómez C, Burrola-Aguilar C, Bernabé-Antonio A, Nieto-Trujillo A, Cruz-Sosa F, et al. Effect of stirring speed on the production of phenolic secondary metabolites and growth of *Buddleja cordata* cells cultured in mechanically agitated bioreactor. *Plant Cell Tissue Organ Cult [Internet]*. 2019;139(1):155–66. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01673-9>
75. Komaikul J, Kitisripanya T, Inyai C, Likhitwitayawuid K, Sritularak B, Tanaka H, et al. Phytostilbenoid production in white mulberry (*Morus alba L.*) cell

- culture using bioreactors and simple deglycosylation by endogenous enzymatic hydrolysis. *Vitr Cell Dev Biol - Plant* [Internet]. el 15 de abril de 2019 [citado el 2 de julio de 2022];55(2):199–208. Disponible en:
<https://link.springer.com/article/10.1007/s11627-018-09953-3>
76. Grzegorzczak-Karolak I, Kuźma Ł, Skała E, Kiss AK. Hairy root cultures of *Salvia viridis* L. for production of polyphenolic compounds. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2018 [citado el 2 de julio de 2022];117:235–44. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669018302231>
77. Tusevski O, Vinterhalter B, Krstić Milošević D, Soković M, Ćirić A, Vinterhalter D, et al. Production of phenolic compounds, antioxidant and antimicrobial activities in hairy root and shoot cultures of *Hypericum perforatum* L. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 2017;128(3):589–605.
78. Jang HR, Lee HJ, Shohael AM, Park BJ, Paek KY, Park SY. Production of biomass and bioactive compounds from shoot cultures of *Rosa rugosa* using a bioreactor culture system. *Hortic Environ Biotechnol* [Internet]. el 1 de febrero de 2016 [citado el 2 de julio de 2022];57(1):79–87. Disponible en:
<https://link.springer.com/article/10.1007/s13580-016-0111-z>
79. Skrzypczak-Pietraszek E, Urbańska A, Żmudzki P, Pietraszek J. mq (L.) Urban shoot culture. *Eng Life Sci*. 2019;19(12):931–43.
80. Gómez D, Hernández L, Martínez J, Escalante D, Zevallos BEBEBE, Yabor L, et al. Sodium azide mutagenesis within temporary immersion bioreactors modifies sugarcane in vitro micropropagation rates and aldehyde, chlorophyll, carotenoid, and phenolic profiles. *Acta Physiol Plant*. 2019;41(7).
81. Ahmadi-Sakha S, Sharifi M, Niknam V. Bioproduction of phenylethanoid glycosides by plant cell culture of *Scrophularia striata* Boiss.: from shake-flasks to bioreactor. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 2016;124(2):275–81.
82. Li H, Piao XC, Gao R, Jin MY, Jiang J, Lian ML. Effect of several physicochemical factors on callus biomass and bioactive compound accumulation of *R. sachalinensis* bioreactor culture. *Vitr Cell Dev Biol - Plant*. 2016;52(3):241–50.
83. Thiruvengadam M, Rekha K, Rajakumar G, Lee TJ, Kim SH, Chung IM. Enhanced production of anthraquinones and phenolic compounds and biological activities in the cell suspension cultures of *Polygonum multiflorum*. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2016 [citado el 2 de julio de 2022];17(11). Disponible en:

- <https://www.mdpi.com/165964>
84. Lulu T, Park SY, Ibrahim R, Paek KY. Production of biomass and bioactive compounds from adventitious roots by optimization of culturing conditions of *Eurycoma longifolia* in balloon-type bubble bioreactor system. *J Biosci Bioeng* [Internet]. 2015;119(6):712–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.11.010>
 85. Gadkar SS, Pai SR, Pramod HJ, Hegde H V., Kholkute SD. Optimization of callus culture and extraction method for elevated production of phenolic antioxidants from *Jasminum malabaricum* Wight. *Natl Acad Sci Lett* [Internet]. el 1 de junio de 2015 [citado el 2 de julio de 2022];38(3):225–9. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40009-014-0339-z>
 86. Jain N, Sharma V, Ramawat KG. Shoot culture of *Bacopa monnieri*: Standardization of explant, vessels and bioreactor for growth and antioxidant capacity. *Physiol Mol Biol Plants* [Internet]. abril de 2012 [citado el 6 de octubre de 2022];18(2):185–90. Disponible en: [/pmc/articles/PMC3550505/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23550505/)
 87. Baque MA, Shiragi MHK, Moh SH, Lee EJ, Paek KY. Production of biomass and bioactive compounds by adventitious root suspension cultures of *Morinda citrifolia* (L.) in a liquid-phase airlift balloon-type bioreactor. *Vitr Cell Dev Biol - Plant*. 2013;49(6):737–49.
 88. Ali M, Abbasi BH. Thidiazuron-induced changes in biomass parameters, total phenolic content, and antioxidant activity in callus cultures of *Artemisia absinthium* L. *Appl Biochem Biotechnol*. 2014;172(5):2363–76.
 89. Thiruvengadam M, Praveen N, Kim EHE-H, Kim SHS-H, Chung IMI-M. Production of anthraquinones, phenolic compounds and biological activities from hairy root cultures of *Polygonum multiflorum* Thunb. *Protoplasma* [Internet]. el 1 de mayo de 2014 [citado el 2 de julio de 2022];251(3):555–66. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00709-013-0554-3>
 90. Jaferník K, Szopa A, Barnaś M, Dziurka M, Ekiert H. *Schisandra henryi* C. B. Clarke in vitro cultures: a promising tool for the production of lignans and phenolic compounds. *Plant Cell Tissue Organ Cult* [Internet]. el 1 de octubre de 2020 [citado el 2 de julio de 2022];143(1):45–60. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11240-020-01895-2>
 91. Cui XH, Murthy HN, Paek KY. Pilot-scale culture of *Hypericum perforatum* L. adventitious roots in airlift bioreactors for the production of bioactive

- compounds. *Appl Biochem Biotechnol*. 2014;174(2):784–92.
92. Jang HR, Park BJ, Park SASYSA, Pee OJ, Park SASYSA, Paek KY. Optimization of shoot cultures and bioactive compound accumulation in *Rosa rugosa* during acclimatization. *J Plant Biotechnol* [Internet]. 2016 [citado el 2 de julio de 2022];43(1):104–9. Disponible en: <https://www.koreascience.or.kr/article/JAKO201614137725725.page>
93. Rahmat E, Kang Y. Adventitious root culture for secondary metabolite production in medicinal plants: A review. *J Plant Biotechnol* [Internet]. el 30 de septiembre de 2019 [citado el 2 de julio de 2022];46(3):143–57. Disponible en: <https://doi.org/10.5010/JPB.2019.46.3.143>
94. Eatemadnia A, Ansari S, Abedi P, Najar S. The effect of *Hypericum perforatum* on postmenopausal symptoms and depression: A randomized controlled trial. *Complement Ther Med*. el 1 de agosto de 2019;45:109–13.
95. Wang MY, West BJ, Jensen CJ, Nowicki D, Su C, Palu AK, et al. *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in Noni research. *Acta Pharmacol Sin* [Internet]. 2002 [citado el 3 de febrero de 2023];23(12):1127–41. Disponible en: <https://www.academia.edu/download/50646218/DrWangResearch-2006-03-02.pdf>
96. Georgiev MI, Ludwig-Müller J, Bley T. Hairy root culture: Copying nature in new bioprocesses. *Med Plant Biotechnol*. el 26 de noviembre de 2010;156–75.
97. Georgiev MI, Agostini E, Ludwig-Müller J, Xu J. Genetically transformed roots: From plant disease to biotechnological resource. *Trends Biotechnol*. 2012;30(10):528–37.
98. Furusaki S, Takeda T. Bioreactors for plant cell culture. *Compr Biotechnol*. 2019;(January 2016):519–30.
99. Muthusamy B, Shanmugam G. Analysis of flavonoid content, antioxidant, antimicrobial and antibiofilm activity of in vitro hairy root extract of radish (*Raphanus sativus* L.). *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 2020;140(3):619–33.
100. Kowalczyk T, Sitarek P, Toma M, Rijo P, Domínguez-Martín E, Falcó I, et al. Enhanced Accumulation of Betulinic Acid in Transgenic Hairy Roots of *Senna obtusifolia* Growing in the Sprinkle Bioreactor and Evaluation of Their Biological Properties in Various Biological Models. *Chem Biodivers* [Internet]. el 1 de agosto de 2021 [citado el 2 de julio de 2022];18(8). Disponible en:

- <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbdv.202100455>
101. Stiles AR, Liu CZ. Hairy Root Culture: Bioreactor Design and Process Intensification. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 2013;134:91–114.
 102. Gonçalves S, Romano A. Production of Plant Secondary Metabolites by Using Biotechnological Tools. *Second Metab - Sources Appl* [Internet]. el 5 de septiembre de 2018 [citado el 17 de mayo de 2023]; Disponible en: <https://www.intechopen.com/chapters/60723>
 103. Singh J, Kaushik N, Journal SB-T scitech, 2014 U. Bioreactors–technology & design analysis. *researchgate.net* [Internet]. 2014 [citado el 3 de octubre de 2022];01. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Nirmala-Kaushik/publication/281056729_Bioreactors_-_Technology_Design_Analysis_Jagriti_Singh_Nirmala_Kaushik_Soumitra_Biswas/links/5b7e365d4585151fd1293731/Bioreactors-Technology-Design-Analysis-Jagriti-Singh-Nirmala-K
 104. Wan YC, Ma HT, Lu B. MIPs in aqueous environments. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 2015;150:131–66.
 105. Bundele V. A Systematic Approach on Highly Potent Pathogens. *J Bioprocess Biotech*. 2014;04(06).
 106. Romette JL, Yang JS, Kusakabe H, Thomas D. Enzyme electrode for specific determination of L-lysine. *Biotechnol Bioeng*. 1983;25(11):2557–66.
 107. Singh A, Kaushik MS, Srivastava M, Tiwari DN, Mishra AK. Siderophore mediated attenuation of cadmium toxicity by paddy field cyanobacterium *Anabaena oryzae*. *Algal Res* [Internet]. 2016;16:63–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2016.02.030>
 108. Isah T. Secondary metabolism of pharmaceuticals in the plant in vitro cultures : strategies , approaches , and limitations to achieving higher yield. *Plant Cell, Tissue Organ Cult* [Internet]. 2018;132(2):239–65. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-017-1332-2>
 109. Usman H, Ullah MA, Jan H, Siddiquah A, Drouet S, Anjum S, et al. Interactive Effects of Wide-Spectrum Monochromatic Lights on Phytochemical Production, Antioxidant and Biological Activities of *Solanum xanthocarpum* Callus Cultures. *Molecules* [Internet]. 2020;25(9):2201. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/9/2201>
 110. Zhou H, Purdie J, Wang T, Ouyang A. pH Measurement and a Rational and

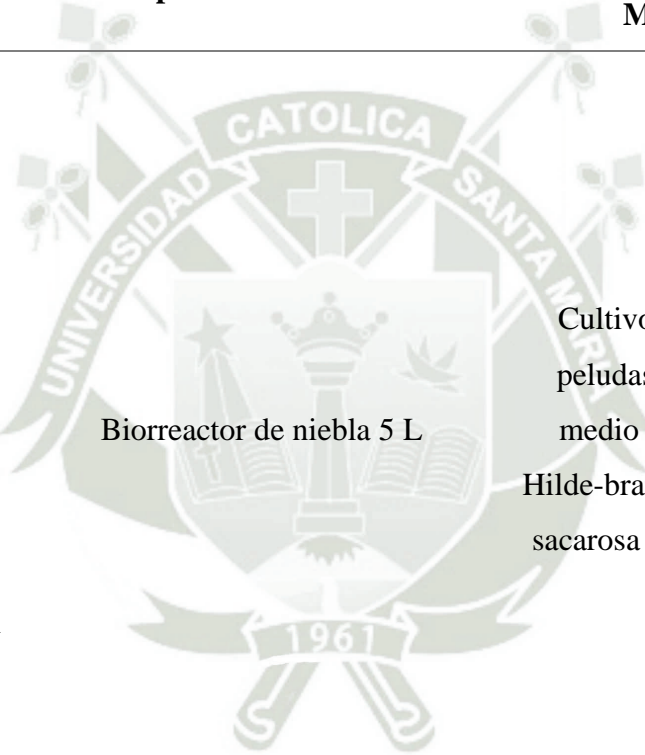
- Practical pH Control Strategy for High Throughput Cell Culture System. *Biotechnol Process* [Internet]. 2009;26(3):870–80. Disponible en: <https://aiche.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/btpr.369>
111. Riet K Van, Lans R Van Der. *Mixing in Bioreactor Vessels* [Internet]. Second Edi. Vol. 1, *Comprehensive Biotechnology*. Elsevier B.V.; 2011. 63–80 p. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00083-0>
 112. Garcia-ochoa F, Gomez E, Santos VE. Fluid dynamic conditions and oxygen availability effects on microbial cultures in STBR : An overview. *Biochem Eng J* [Internet]. 2020;164(June):107803. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107803>
 113. Garcia-ochoa F, Gomez E. Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes : An overview. *Biotechnol Adv* [Internet]. 2009;27(2):153–76. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.10.006>
 114. Solórzano A, Ruíz G, Venegas E. Identificación preliminar de metabolitos secundarios producidos por callos inducidos en “Corpus Way” *Gentiana Bicolor* (Wedd.) Fabris exJ.s. Pringle. *Fabris exJ.s Pringle*. 2014;6(12):137–42.
 115. Ricco MMV, Bari M, Catalano AVA, Plants PL-, 2021 undefined, León Bari M, et al. Dynamics of Polyphenol Biosynthesis by Calli Cultures, Suspension Cultures and Wild Specimens of the Medicinal Plant *Ligaria cuneifolia* (Ruiz & Pav.) Tiegh. *mdpi.com* [Internet]. 2021 [citado el 2 de julio de 2022];10:1713. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/8/1713/pdf?version=1629445391>
 116. Murthy HN, Lee EJ, Paek KY. Production of secondary metabolites from cell and organ cultures: Strategies and approaches for biomass improvement and metabolite accumulation. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 2014;118(1):1–16.
 117. Singh M, Kumar A, Singh R, Pandey KD. Endophytic bacteria: a new source of bioactive compounds. *3 Biotech*. 2017;7(5).
 118. Balachandar R, Karmegam N, Saravanan M, Subbaiya R, Gurumoorthy P. Synthesis of bioactive compounds from vermicast isolated actinomycetes species and its antimicrobial activity against human pathogenic bacteria. *Microb Pathog* [Internet]. 2018;121:155–65. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.05.027>
 119. Ulloa-Muñoz R, Olivera-Gonzales P, Castañeda-Barreto A, Villena GK, Tamariz-Angel C. Diversity of endophytic plant-growth microorganisms from

- Gentianella weberbaueri and Valeriana pycnantha, highland Peruvian medicinal plants. *Microbiol Res.* el 1 de marzo de 2020;233:126413.
120. Yue W, Ming Q-L, Lin B, Rahman K, Zheng C-J, Han T, et al. Medicinal plant cell suspension cultures: Pharmaceutical applications and high-yielding strategies for the desired secondary metabolites. *Crit Rev Biotechnol.* 2016;36(2):215–32.
 121. Muneer S, Kim EJ, Park JS, Lee JH. Influence of Green, Red and Blue Light Emitting Diodes on Multiprotein Complex Proteins and Photosynthetic Activity under Different Light Intensities in Lettuce Leaves (*Lactuca sativa L.*). *Int J Mol Sci* 2014, Vol 15, Pages 4657-4670 [Internet]. el 17 de marzo de 2014 [citado el 7 de junio de 2023];15(3):4657–70. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/15/3/4657/htm>
 122. Jung WS, Chung IM, Hwang MH, Kim SH, Yu CY, Ghimire BK. Application of light-emitting diodes for improving the nutritional quality and bioactive compound levels of some crops and medicinal plants. *Molecules* [Internet]. el 9 de marzo de 2021 [citado el 7 de junio de 2023];26(5):1477. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/5/1477/htm>
 123. Bakrudeen Ali Ahmed A, Arun Kumar R, Musthafa MM, Rajandram D, Marikar FM. Biotic and abiotic stress roles in drugs production through in vitro approaches in plants – a review. *Agric Sci Technol* [Internet]. 2020 [citado el 2 de julio de 2022];12(2):99–106. Disponible en: https://agriscitech.eu/wp-content/uploads/2020/06/1_AST_2_June_2020.pdf
 124. Dias MIMI, Sousa MJMJ, Alves RCRC, Ferreira ICFR. Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds: A review. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2016 [citado el 2 de julio de 2022];82:9–22. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669015306063>
 125. Ahmad N, Fatima N, Ahmad I, Anis M. Effect of PGRs in adventitious root culture in vitro: present scenario and future prospects. *Rend Lincei* [Internet]. el 2 de septiembre de 2015 [citado el 2 de julio de 2022];26(3):307–21. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12210-015-0445-y>

7. ANEXOS



Tabla 6. Relación de artículos científicos consultados incluidos en la revisión sistemática con datos detallados de los experimentos.

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|------------------------------|---|--|---|--|------|
| <i>Leonurus Sibiricus L.</i> | <p>Analizar la productividad de las raíces transgénicas de <i>Leonurus sibiricus</i> y su capacidad productiva de ácidos fenólicos, luego de la transformación con AtPAP1, mientras que varios volúmenes de medio y tamaños de biorreactores son examinados para ver si son candidatos para la producción a escala comercial.</p> |  <p>Biorreactor de niebla 5 L</p> | <p>Cultivo de raíces peludas, 2,5 L de medio Schenk & Hilde-brandt (SH) con sacarosa al 3 % (p/v)</p> | <p>El mayor incremento en peso seco (20.83 g/L) y los mayores rendimientos de ácidos fenólicos (ácido clorogénico 448 mg/L y ácidos cafeicos 302 mg/L)</p> | (55) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|--------------------------|---|--|---|--|------|
| <i>Salvia viridis L.</i> | <p>Establecer el cultivo de brotes de <i>Salvia viridis L.</i> en un biorreactor de inmersión temporal y evaluar el nivel de compuestos fenólicos obtenidos del material vegetal, reconocer el efecto de cambios en la duración del cultivo y la frecuencia de inmersión en el medio, también se probó un sistema semicontinuo (fed-batch) agregando porciones frescas de medio de cultivo dos semanas después.</p> | <p> biorreactor con plataforma de inmersión temporal, (Plantform, Hjärup, Sweden).</p> | <p>Cultivo de brotes, 500 mL de Murashige y Skoog con 0,1 mg/L IAA (ácido indol-3-acético) y 1 mg/L m-Top</p> | <p>La producción más eficiente fue obtenida en el sistema batch de 3 semanas con inmersiones cada 80 minutos, ácidos fenólicos totales, feniletanoides totales y contenido total de fenoles fue de 18,3, 11,4, 29,7 mg/g de peso seco respectivamente.</p> | (63) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de biorreactor | Tipo de cultivo y medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|-----------------------------------|--|------------------------------|--|--|------|
| <i>Scrophularia striata</i> Boiss | Investigar el efecto del estrés osmótico mediada por la elicitación de PEG (polietilenglicol) en la producción de glicósidos de feniletanoides durante el crecimiento del cultivo en suspensión de <i>S. striata</i> en un biorreactor | FS-01-A05P bioreactor system | Cultivo en suspensión celular 5 L me medio MS modificado, incluye sacarosa (60 g/L), PEG 6000 (70 g/L) | El contenido total de fenoles se incrementó significativamente debido al efecto de PEG 6000 (70 g/L) se determinó que se incrementó de 2,40 mg/g de control a 4,48 mg/g de peso seco, es decir 1,8 veces respecto al control, el contenido total de flavonoides fue de 0,51 mg/g de peso seco. | (64) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|------------------------------------|---|--|--|---|------|
| <i>Rhodiola rosea</i> L. | <p>Analizar y optimizar los efectos de la interacción ente compuestos minerales (relación NH_4^+/K^+, concentración de NO_3^-) reguladores de crecimiento (relación BAP/NAA y concentración de BAP + NAA) de plantas sobre la acumulación de biomasa y la producción de compuestos fenólicos totales en callos de <i>R. rosea</i>.</p> | <p>2 matraces Erlenmeyer de 100 mL</p> | <p>Cultivo de callos, cada Erlenmeyer contenía 20 ml de medio MS modificado (NH_4^+/K^+ 0,33, NO_3^- 40 mM) suplementado con NAA 15 μM, BAP 15 μM, y diferentes concentraciones de MJ (100 o 200 μM).</p> | <p>La concentración de compuestos fenólicos totales (CFT) varió entre los cultivos de callos de 14,9 a 71,6 mg/g. El número de compuestos fenólicos varió de 10 a 20; en el control 1, estos valores fueron de 6,5 mg/g y 9, respectivamente.</p> | (65) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|-----------------------|---|--|--|--|------|
| <i>Musa acuminata</i> | Comparar el crecimiento de los brotes, la presencia de ácido gálico y la actividad antioxidante de brotes de <i>Musa acuminata</i> en un biorreactor de columna de burbujeo a diferentes tasas de aeración de 1 mL/s y 2 mL/s | Biorreactor de columna de burbujeo de 200 ml | Cultivo de brotes, medio Murashige & Skoog suplementado con 0,5 ppm de ácido giberélico. | La tasa de crecimiento promedio en el biorreactor fue de $0,22 \pm 0,001$ g/día (1 mL/s) y $0,21 \pm 0,001$ g/día (2 mL/s). Los valores de IC50 en velocidades de aireación de 1 mL/s y 2 mL/s de las hojas fueron 41,35 y 79,54 µg/mL, respectivamente, mientras que los tallos fueron 51,87 y 104,94 µg/mL, respectivamente. Se pudo concluir que el crecimiento de la plántula de banano y la producción de antioxidantes en el biorreactor de columna de burbujas fue mayor en la tasa de aireación de 1 mL/s que en la de 2 mL/s. | (66) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|------------------------------|---|--|---|--|------|
| <i>Aristotelia chilensis</i> | Establecer cultivos en biorreactores de inmersión temporal fotomixotróficos de maqui e inducir a la producción de biomasa vegetal y fenilpropanoides, | 2 biorreactores de inmersión temporal fotomixotróficos de 1 L de capacidad | Cultivo de brotes, 200 mL de medio Murashige & Skoog basal más sacarosa 25 g/l, pH 5,6 con reguladores de crecimiento | El tratamiento con ABA indujo la producción y acumulación de fenilpropanoides en biorreactores de cultivos de maqui, los cuales se evidenciaron en la biomasa en el biorreactor con 2,86 mg/g de peso seco | (67) |
| <i>Rehmannia glutinosa</i> | Desarrollar mediante un biorreactor un sistema de producción a escala de raíces adventicias de <i>Rehmannia glutinosa</i> | 2 biorreactores de columna de burbujeo tipo globo de 2 y 20 L | Cultivo de raíces adventicias, Woody Plant medium + NAA 2.0 mg/L + 30 g/L sucrose + MeJa 200 µM | Los cultivos en el biorreactor de 20 L produjeron raíces de <i>R. glutinosa</i> de buena calidad con mayor biomasa (15,94 g DW), contenido de actósidos (22,13 mg/g DW) y actividad antioxidante (84,22 %) que los cultivos en matraz agitado. | (68) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|-----------------------------|--|---------------------|---|--|------|
| <i>Nepeta binaloudensis</i> | Realizar la inducción de callos y la producción de compuestos fenólicos de <i>N. binaloudensis</i> mediante el diseño de un procedimiento optimo, primero se buscaron los medios adecuados para la inducción de callos, luego se evaluaron experimentos para encontrar la concentración adecuada de reguladores de crecimiento y glutatión reducido para la máxima producción de biomasa y compuestos fenólicos en callos. | 3 frascos de 200 mL | Callos, Tres medios MS, ½ MS y medio B5 | Los reguladores de crecimiento tuvieron un efecto significativo sobre el contenido de compuestos fenólicos (60 mg/g) y flavonoides (35 mg/g) | (69) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|-----------------------------|---|---|---|---|------|
| <i>Ceratonia siliqua L.</i> | Demostrar que el cultivo de callos de algarrobo es una herramienta confiable para la producción de polifenoles, optimizar protocolos de producción de callos de calidad monitoreando los efectos del tipo de explante y condiciones lumínicas, determinar el contenido de fenoles, flavonoides y taninos y evaluar la actividad antioxidante de los callos. | 5 placas petri con porciones de explantes de 4 a 6 mm le largo de | Cotiledones maduros, explantes de hojas, explantes de hipocótilo, epicolito y raíces. Medio LAC suplementado con 5 μ M de 2,4 ácido diclorofenilacetico (2,4-D) 3 % (p/v) de sacarosa y 0,7 % (p/v) de agar | El callo derivado de hojas produjo las mayores cantidades de compuestos fenólicos ($21,4 \pm 1,4$ mg GAE/g en la oscuridad y $20,6 \pm 0,9$ en la luz), similarmente los callos derivados de hojas produjeron una mayor cantidad de flavonoides que los del explante de cotiledón ($7.5 \pm 0,9$ mg. QE/g en oscuridad y $7,0 \pm 0,7$ en luz). | (70) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|------------------------------|--|--|--|---|------|
| <i>Dioneaea muscipula J.</i> | <p>Evaluar los parámetros bioquímicos y biométricos de plantas que crecer en medio líquido con agitación rotatoria, optimizar un protocolo de elicitación de lisado de bacterias para la producción de compuestos fenólicos, verificar las propiedades antioxidantes y antibacterianas de extractos aislados de tejido vegetal obtenido.</p> | <p>Matraces con medio líquido agitación rotatoria (130 RPM × min⁻¹)</p> | <p>Plantas de <i>D. muscipula</i>, medio MS de potencia media sin reguladores de crecimiento, sacarosa al 3 % y pH = 5,5 temperatura 23 ± 1 °C</p> | <p>La mayor acumulación de compuestos fenólicos en plantas de <i>Dioneaea muscipula</i> se dieron al quinto y séptimo día con 118 mg/g de peso seco a una concentración de 5,0 % de lisado de <i>Cronobacter sakazakii</i>.</p> | (71) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|--------------------------------|---|---|--|--|------|
| <i>Dracocephalum forrestii</i> | Evaluar la capacidad de producción de compuestos bioactivos fenólicos mediante cultivo de brotes transformados de <i>D. forrestii</i> . | Dos biorreactores de inmersión temporal (RITA y Plantform) y un biorreactor de rociado de nutrientes (NSB) de 10 L. | Brotos, en todos los sistemas de biorreactores, los cultivos se cultivaron en medio MS con sacarosa (30 g/L) y reguladores de crecimiento: 0,5 mg/L BPA y 0,2 mg/l IAA | La mayor producción de compuestos fenólicos totales se observó en los brotes cultivados del biorreactor RITA el compuesto fenólico predominante fue el ácido rosmarinico 18,35 mg/g de peso seco, por su parte el contenido mayor en peso seco se encontró en el cultivo mantenido en el biorreactor rociado de nutrientes con un contenido total de fenoles 24,15 mg/g de peso seco | (72) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|----------------------------|--|---|--|--|------|
| <i>Verbena officinalis</i> | Optimizar las condiciones para cultivar callos de <i>V. officinalis</i> en agar, mantenidos en medio MS suplementado para mejorar la síntesis de glicósidos de fenilpropanoides, ácidos fenólicos, flavonoides, iridoides, verbascosido e isoverbascósido. | Biorreactor de tanque agitado, disponible comercialmente (Bellco Glass, Vineland, NJ, USA), y un biorreactor tipo balón custom-made | Callos, 30 ml de medio MS con 1 mg/L BAP, 1 mg/L IBA y 30 g/L sacarosa | Las cantidades de ácidos fenólicos fueron muchas veces menores, máx. el contenido total alcanzado fue de 26,90 (callos), 50,72 (suspensión), 19,88 y 36,78 mg/100 g PS, respectivamente. | (36) |

Continuación de tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|--------------------------------|--|--|---|--|------|
| <i>Dracocephalum forrestii</i> | <p>Evaluar compuestos fenólicos a partir de tejido vegetal cultivado mediante técnicas de espectrofotometría, determinar el potencial antioxidante y antimicrobiano de los extractos hidrometanolicos obtenidos de los brotes cultivados</p> | <p>Biorreactor de rociado de nutrientes de 10 L.</p> | <p>Brotes, 1 L de medio MS líquido con 0,2 mg/L de BAP y 0,2 mg/L de IAA.</p> | <p>Se evidencio que los cultivos de brotes en biorreactores y tubos de vidrio produjeron ácido rosmarinico y ácido salvianólico en niveles similares de mg/g de peso seco. En los biorreactores el peso seco fue mayor en 10 veces lo que resulto en 309,1 mg/L de ácido rosmarinico, 111,15 mg/L de ácido salvianólico B y 435,5 mg/L de contenido total de compuestos fenólicos.</p> | (73) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|--------------------------------|---|---|--|--|-------------|
| <i>Buddleja cordata</i> | Determinar el efecto de la velocidad de agitación sobre el crecimiento y la producción de compuestos bioactivos polifenólicos en células de <i>B. cordata</i> cultivadas en dos biorreactores | Un biorreactor de tanque agitado de 2 L equipado con un difusor anular y un biorreactor de tanque agitado de 3 L equipado con un difusor sinterizado | líneas celulares de <i>Buddleja cordata</i> , el inoculo fue de 20 % (v/v) de CSCBc proliferado, operados al 50 % del volumen. | En B2RD a 400 rpm se produjo la mayor cantidad de biomasa (13,62 g/L) y de contenido total de compuestos fenólicos de 64,63 mg/g de ácido gálico, 119,24 mg/g de verbascosido y contenido total de flavonoides de 5,02 mg/g de quercetina. | (74) |
| <i>Morus alba</i> | Cultivar en biorreactores cultivos celulares de <i>M. alba</i> y evaluar los efectos de la densidad del inoculo, la aireación y el tipo de biorreactor en la producción de estilbenoides. | Un biorreactor de fondo redondo de 2 L 166 mm de diámetro, un biorreactor de fondo plano d 5 L 233 mm de diámetro, un biorreactor de 6,8 L sin bucle airlift 160 mm y un biorreactor airlift de 6,9 L y 160 mm. | Cultivo de callos, Medio MS pH 5,6, conteniendo 30 g/L de sacarosa, 0,1 mg/L de TDZ, 1 mg/L NAA, y 2,5 g/L de goma gellan. | La condición de cultivo óptima para a la producción de mulberrosido A se dio a partir del cultivo en el biorreactor de fondo redondo de 2 L y 166 mm de diámetro con una producción de 55,56 ± 11,41 μmol/L | (75) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|------------------------------|--|--|--|--|------|
| <i>Polygonum multiflorum</i> | Optimizar los parámetros de diferentes procesos para la producción a escala piloto de biomasa de <i>P. multiflorum</i> . | Biorreactores de burbujas tipos globo (air-lift) de 3 L, 5 L, 20 L y 500 L (escala piloto) | Raíces adventicias, medio MS de concentración completa con un pH inicial de 5,7 – 5,8. El medio se complementó con IBA 9,84 μ M y sacarosa al 5 %. | Se obtuvo un rendimiento óptimo de 4,01 kg de biomasa de raíces secas con 287,12 mg/L de compuestos fenólicos totales en el biorreactor de escala piloto de 500 L. | (8) |
| <i>Salvia viridis</i> | Establecer un cultivo de raíces peludas de <i>Salvia Viridis</i> y evaluar el potencial de producción de compuestos bioactivos | Matraces Erlenmeyer de 100 mL, agitación en skaker a 80 rpm | Raíces peludas, 20 ml de medio liquido Woody plant (WP) sin reguladores de crecimiento y suplementado con 500 mg/L de ampicilina | El análisis cuantitativo mostro que el ácido rosmarinico fue el compuesto predominante con 35,8 mg/g y polifenoles totales 41,24 mg/g de peso seco. | (76) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|-----------------------------|--|---|--|---|------|
| <i>Hypericum perforatum</i> | Determinar características de crecimiento de los clones de raíces peludas en medio líquido, determinación de la producción de compuestos fenólicos totales, cuantificar e identificar las diferentes clases de compuestos fenólicos, determinación de capacidad antioxidante y antimicrobiana. | 4 matraces Erlenmeyer de cuello ancho de 100 mL | raíces peludas, medio basal que contenía macrosales Woody Plant Medium y microsales MS y vitaminas mioinositol 100 mg/L, sacarosa al 2 % y agar al 0,64 %. | Las raíces peludas y los clones de brotes regenerados con raíces peludas mostraron una mayor acumulación significativa de compuestos fenólicos totales (52,49 mg/g) comparado con los cultivos control. | (77) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|--------------------|--|---|--|--|------|
| <i>Rosa rugosa</i> | Producir brotes múltiples en diferentes sistemas de biorreactores y producir compuestos fenólicos y flavonoides totales a partir de brotes de <i>Rosa rugosa</i> in vitro. | 4 biorreactores air -lift de tipo balón de 3 L (inmersión continua, inmersión continua con net, biorreactor de inmersión temporal, biorreactor de inmersión temporal con net. | Brotes, 1 L de medio Murashige and Skoog | El biorreactor de inmersión continua dio como resultado la acumulación de 39,21 mg/g de peso seco de fenoles totales y 13,28 mg/g de flavonoides totales. La productividad de fenoles y flavonoides totales fue más alta en los brotes cosechados del sistema de inmersión continua al igual que la biomasa. | (78) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|--------------------------|--|--|--|--|------|
| <i>Centella asiática</i> | Examinar la influencia de los elicitores jasmonato de metilo y efeton y/o el precursor L – fenilalanina en la acumulación de metabolitos secundarios los cuales son centellosidos, flavonoides y ácidos fenólicos en brotes agitados de <i>C. asiática</i> | Dos tipos de biorreactores de inmersión temporal fueron usados: RITA® y Plantform™ | Brotes, medio MS con 1 mg/L de BAP, 0,5 mg/L de NAA y 0,25 mg/L de GA, MeJa 50 µM Ambos TIB se inocularon en una proporción de 2:100 (p/V) | La suma de los cuatro ácidos fenólicos (ácido clorogénico, vainílico, rosmarínico y p-cumárico) analizados– fue la más alta para la variante H (cultivo de 27 días) alcanzando hasta 1141 ± 15 mg/100 g PS. Fue 3,2 veces mayor en comparación con el cultivo de referencia. | (79) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|------------------------------|---|---------------------------------------|--|--|------|
| <i>Saccharum officinarum</i> | <p>El presente estudio evaluó los efectos de la azida de sodio en caña de azúcar en TIB en relación con la micropropagación establecida (tasa de multiplicación de brotes y peso fresco del racimo de brotes) y bioquímicos (aldehídos, clorofilas, carotenoides y fenoles) indicadores de estrés. También se evaluó el contenido de fenoles solubles en el medio de cultivo.</p> | 3 biorreactores de inmersión temporal | <p>Brotos, Murashige y Skoog, sales inorgánicas; 100 mg/L de inositol; 30 g/L de sacarosa, 0,3 mg/L de 6-benciladenina y 1,0 mg/L de paclobutrazol, suplementado con diferentes niveles de NaN₃ (0, 0,15, 0,30 y 0,45 mM)</p> | <p>Los fenoles en el medio aumentaron de 8 a 18 µg/mL medio de cultivo</p> | (80) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|-----------------------------|--|---|--|---|------|
| <i>Scrophularia striata</i> | Optimizar y ampliar la producción de glucósidos feniletanoides (PeG) mediante un cultivo de células vegetales de <i>Scrophularia striata</i> en un matraz de agitación transferido a un biorreactor. | Un sistema de biorreactor FS-01-A05P de 10 L con doble camisa | Células vegetales, 5 L de medio MS modificado se esterilizaron primero en autoclave a 121 °C durante 20 min y luego se inocularon las células frescas de <i>S. striata</i> en el vaso del biorreactor. | A los 25 días se obtuvo en el biorreactor 30,68 µg/g de acteosidos y 1449,39 µg/g de echinacósido el cual fue el contenido máximo de glucósidos de feniletanoides | (81) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|-------------------------------|---|---|--|---|------|
| <i>Rhodiola sachalinensis</i> | Utilizar biorreactores de transporte aéreo tipo globo de 3 L para investigar los factores fisicoquímicos que afectan la biomasa del callo y la acumulación de compuestos bioactivos (salidrósido, polisacáridos, fenoles y flavonoides). Además, se estudiaron las cinéticas de crecimiento de callos y acumulación de compuestos bioactivos. | Un sistema de inmersión de biorreactor de transporte aéreo de tipo globo de tres litros con un volumen de trabajo de 2 L. | Callos, Medio Murashige y Skoog (MS), suplementado con bencilaminopurina (BA) 13,32 μ M, ácido α -naftaleno acético (NAA) 1,61 μ M y sacarosa 30 g/L. El pH del medio se ajustó a 5.8 | Los mayores contenidos de polisacáridos y fenoles se obtuvieron con sacarosa a 40 y 50 g/L, respectivamente. Las productividades más altas de salidrósido, polisacáridos y flavonoides se encontraron a una concentración de sacarosa de 30 g/L. Sin embargo, la productividad máxima de fenoles se encontró a la concentración de sacarosa más alta de 50 g/L. | (82) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|------------------------------|--|---|--|---|------|
| <i>Polygonum multiflorum</i> | Optimizar los parámetros para el cultivo de suspensión celular establecidos a partir de explantes de raíces y la obtención de cultivos para mejorar la producción de biomasa y fitoquímicos (AQ y compuestos fenólicos) de <i>P. multiflorum</i> . | Cultivos de callos se cultivaron en cámaras de crecimiento, el cultivo en suspensión en matraces Erlenmeyer de 250 mL | Suspensión celular, Medio MS líquido suplementado con 2,4-D (1 mg/L) y tidiazuron (TDZ; 0,5 mg/L; Sigma-Aldrich) | Los contenidos de compuestos fenólicos totales aumentaron significativamente en 12,95 mg/g, 12,11 mg/g y 8,34 mg/g equivalentes de ácido gálico (GAE) en los cultivos de células JA, SA y PGR | (83) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|----------------------------|---|--|---|---|------|
| <i>Eurycoma longifolia</i> | El presente estudio investigó los efectos de diferentes tipos y concentraciones de auxinas y la relación de nitratos, sobre la acumulación de biomasa y la producción de metabolitos (fenólicos y flavonoides) en cultivos en biorreactores de aire de raíces adventicias de <i>E. longifolia</i> . | Biorreactor de burbujas tipo balón (BTBB) de 5 L | Raíces adventicias, 3/4 MS medio líquido suplementado con 3,0 mg/L de IBA y 30 g/L de sacarosa. | Se calculó el contenido de metabolitos secundarios con base en el peso seco. Las mayores producciones de fenoles y flavonoides (38,59 y 11,27 mg/L medio, respectivamente | (84) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|-----------------------------|---|---|---|--|------|
| <i>Jasminum malabaricum</i> | cultivar callos de proliferación rápida a partir de explantes de hojas de <i>J. malabaricum</i> in vitro y también optimizar el protocolo de extracción de fenoles de la planta. Tangencialmente, un posible método de producción de estos metabolitos in vitro también se ha propuesto en el presente estudio. | Continuous shaking extraction (CSE) Orbital Shaker | Callos, Medio de cultivo MS basal suplementado con 2, 4-D | La medición del contenido de fenoles totales realizada en hojas (1,00 %), tallo (0,67 %) y extractos de callos (1,00 %), mostró $834,05 \pm 33,61$, $996,68 \pm 49,83$, $1.109 \pm 55,45$ l g/mL de ácido cafeico equivalente por gramo de tejido vegetal seco, respectivamente. | (85) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|---------------------------|--|--|---|--|------|
| <i>Bacopa Monniera</i> | Estandarizar de los parámetros para la producción máxima de biomasa y el contenido fenólico total y la capacidad antioxidante del cultivo de brotes. | Cuatro tipos de vessel: matraces cónicos (100 y 250 mL), cajas magenta (400 mL), matraces de vidrio comerciales (500 ml) y un biorreactor Growtek (1 L). Biorreactor Growtek | Brotes, Medio MS que contiene BAP (2,5 mg/L) e IAA (0,01 mg/L), sacarosa al 3 % con agar (0,8 %) o sin agar. | El contenido fenólico total de las plantas regeneradas in vitro cultivadas en un matraz cónico de 250 mL fue de 55 mg GAE/g en comparación con los 5,3 mg GAE/g registrados para la planta in vivo, mostrando una actividad ~10 veces mayor en el sistema in vitro | (86) |
| <i>Morinda citrifolia</i> | Optimizar las condiciones de cultivo de raíces adventicias de <i>M. citrifolia</i> en biorreactores para la producción eficiente de AQ, fenoles y flavonoides. | Biorreactores de burbujas tipo balón de 3 L (BTBBs) | Raíces adventicias, 1,5 L de medio MS líquido de un cuarto de potencia (0,25×) suplementado con 5 mg/L de IBA, 15 g/L del tamaño del inóculo y 10 g/L de sacarosa | Considerando la productividad, se demostró que la densidad del inóculo de 15 g/L es óptima para mejorar los rendimientos de AQ (375,36 mg/L DW) y flavonoides (159,44 mg/L DW; no significativamente diferente del valor más alto) en raíces adventicias de <i>M. citrifolia</i> | (87) |

Continuación de tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|-----------------------------|--|--|--|---|------|
| <i>Artemisia absinthium</i> | <p>Buscar la interrelación de la acumulación de biomasa, el contenido fenólico y la actividad antioxidante en respuesta a la aplicación de tidiazuron (TDZ), en cultivos de callos de <i>A. absinthium</i></p> | <p>20 frascos, que contenían 20 g de callos inoculados como cultivo/tratamiento inicial.</p> | <p>Callos, Medios MS suplementados con concentraciones variables de TDZ (0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 y 5,0 mg/L) con o sin combinación de ácido α-naftaleno acético (NAA; 1,0 mg/L).</p> | <p>Se observó una acumulación máxima de biomasa seca de 8,73 g/L el día 42 en respuesta a 1,0 mg/L de TDZ y 1,0 mg/L de NAA. Además, se observó un nivel máximo de contenido fenólico total de 8,53 mg GAE/g DW y la actividad de eliminación de radicales 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) más alta de 72,6 % en los callos formados en respuesta a 1,0 mg/L de TDZ el día</p> | (88) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|------------------------------|--|--------------------------------------|---|--|------|
| <i>Polygonum multiflorum</i> | <p>Establecer cultivos de raíces peludas de <i>P. multiflorum</i> para la producción de AQ y compuestos fenólicos.</p> <p>Evaluar los fenoles totales, el contenido de flavonoides, la actividad antioxidante y antimicrobiana de raíces peludas y raíces no transformadas de <i>P. multiflorum</i>.</p> | <p>Matraces Erlenmeyer de 250 mL</p> | <p>Raíces peludas, 50 ml de medio líquido basal MS suplementado con 10, 20, 30, 40 y 50 g/L de sacarosa</p> | <p>El contenido de AQ aumentó gradualmente durante el curso del cultivo y su concentración fue óptima al final de los 20 días (emodina 211,32 µg/g DW y physcion 353,23 µg/g DW)</p> | (89) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|--------------------------|--|---|---|--|------|
| <i>Schisandra henryi</i> | Examinar diferentes tipos de cultivos de agar con respecto al grado de diferenciación: microbrote y callo, diferentes duraciones de los períodos de crecimiento, estimar los perfiles metabólicos cualitativos y cuantitativos de lignanos, triterpenoides, ácidos fenólicos y flavonoides con el uso de métodos UHPLC-MS/MS y HPLC-DAD en extractos de biomasa de cultivos in vitro, así como en extractos de hojas de la planta madre. | Recipientes de vidrio dedicados a tejidos vegetales de 100 mL (Sigma-Aldrich No. V8630) | Microbrote, callo, Medio MS con 1 mg/L de BA y 1 mg/L de IBA (es decir, variante A) | Usando HPLC-DAD en extractos metanolicos de biomasa se determinó tanto cualitativa y cuantitativamente los perfiles de dibenzociclooctadieno, lignanos, ácidos fenólicos y flavonoides, las cantidades totales máximas de estos grupos de metabolitos fueron 873,71, 840,89 y 421,98 mg/100 g DW, respectivamente. | (90) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|------------------------------------|---|---|---|--|------|
| <i>Hypericum perforatum</i> | Establecer biorreactores a gran escala. Biorreactores airlift de 100 L, 500 L tipo globo y 500 L tipo tambor horizontal para la producción de raíces adventicias de <i>H. perforatum</i> . Se reportó las posibilidades de producción de fenoles, especialmente flavonoides, ácido clorogénico, hiperina, hipericina y quercetina en biorreactores a escala piloto. | biorreactores airlift tipo globo de 100 L, biorreactor airlift tipo globo de 500 L, biorreactor airlift tipo tambor horizontal de 500 L | raíces adventicias, Medio MS de potencia media con una proporción de amonio y nitrato de 5:25 mM y suplementado con 1,0 mg/L de ácido indolbutírico, 0,1 mg/L de kinetina y 3 % (p/v) sacarosa. | Se obtuvieron 4,6 y 6,3 kg de biomasa seca en los 500 L de cada uno de los biorreactores tipo tambor y tipo globo, respectivamente. Acumulación de 66,9 mg/g DW de fenoles totales, 48,6 mg/g DW de flavonoides totales, 1,3 mg/g DW de ácido clorogénico, 0,01 mg/g DW de hiperina, 0,04 mg/g DW de hipericina, y 0,01 mg/g DW de quercetina podrían lograrse con raíces adventicias cultivadas en biorreactores de transporte aéreo tipo globo de 500 L. | (91) |

Continuación tabla 6

| Especie | Objetivos | Tipo de Biorreactor | Tipo de cultivo y Medio | Efecto/rendimiento | Ref. |
|--------------------|--|--------------------------------------|---|---|------|
| <i>Rosa rugosa</i> | <p>Establecer un sistema para la producción de biomasa y la acumulación de metabolitos secundarios durante el cultivo in vitro y la aclimatación de <i>Rosa rugosa</i>. Desarrollar un protocolo de regeneración de plantas reproducible y rápido para <i>Rosa rugosa</i> utilizando explantes nodales e investigar los cambios en el crecimiento y los compuestos bioactivos durante el período de aclimatación ex vitro.</p> | <p>Matraces Erlenmeyer de 100 mL</p> | <p>Brotos, MS (Murashige y Skoog) que contenía 3.0 mg/L de 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético)</p> | <p>Entre varios factores de crecimiento, el peso fresco mostró el aumento más dramático de la tercera semana (88.0 mg/planta) a la cuarta semana (132.7 mg/planta). Esto significa que el peso fresco de las plantas aumentó significativamente durante el período de aclimatación, lo que puede estar relacionado con la producción y acumulación de compuestos fenólicos en los brotes.</p> | (92) |