



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

Centrifugación a gran escala en la industria biotecnológica

Apellidos, nombre	Seguí Gil, Lucía (lusegil@upvnet.upv.es)
Departamento	Departamento de Tecnología de Alimentos
Centro	Universidad Politécnica de Valencia



1 Resumen

En este artículo se presenta la centrifugación como técnica de separación para la recuperación de productos biotecnológicos producidos a gran escala. Por un lado, se presentarán los principios físicos que rigen esta operación de recuperación y, por otro, se introducirán los principales equipos centrífugos empleados a escala industrial para llevar a cabo esta operación unitaria. Por último, se profundizará en el desarrollo y aplicación de la operación de centrifugación con descarga continua de sólidos, en el contexto de la industria biotecnológica.

2 Introducción

La centrifugación es una técnica de separación por sedimentación, acelerada gracias al uso de una fuerza centrífuga. Se trata de una operación habitual a nivel industrial en industrias tales como la alimentaria, farmacéutica y biotecnológica, entre otras. La separación por centrifugación se basa en la existencia de una diferencia o gradiente de densidad entre las partículas que pretenden separarse y el medio en el que se encuentran suspendidas.

En el contexto biotecnológico, la centrifugación puede aplicarse a la separación de células y micelios del medio de cultivo (recuperación primaria), a la separación del líquido que contiene el compuesto de interés de los sólidos generados por disrupción celular (restos celulares o debris celular), o bien a la separación o fraccionamiento de mezclas de partículas, células, orgánulos o moléculas. Dependiendo de la aplicación, la corriente que constituirá el producto de la operación será la fase sólida precipitada, por ejemplo, cuando se pretende recuperar el microorganismo que contiene el compuesto de interés, antes de una operación de disrupción celular; o bien la fase líquida, cuando se pretende recuperar un metabolito microbiano del medio al que se ha excretado o liberado tras la disrupción celular.

3 Objetivos

Tras leer atentamente este documento, el estudiante será capaz de:

- **Identificar las variables** que condicionan la separación por centrifugación.
- **Seleccionar el equipo centrífugo** apropiado para cada aplicación.
- **Diseñar un proceso de recuperación** que incluya la centrifugación como etapa de recuperación de células, o del medio que contiene el producto de interés.
- **Comprender las limitaciones de la centrifugación a gran escala** y conocer los avances que han permitido su implementación.

4 Desarrollo

En primer lugar, se revisarán los fundamentos de la separación centrífuga, para pasar después a describir los equipos centrífugos empleados a gran escala y sus principales características. Más adelante, se presentarán las limitaciones de la



aplicación de la separación por centrifugación a gran escala en la industria biotecnológica, y los avances tecnológicos que han permitido su aplicación en procesos en continuo para tratar grandes volúmenes.

4.1 Fundamentos teóricos de la sedimentación centrífuga

El estudio de la **separación sólido-líquido** o separación primaria por centrifugación está fundamentada en la **teoría de la sedimentación**, basada en la **ley de Stokes** (Ecuación 1). Esta ley establece el movimiento de una partícula sólida en un medio líquido cuando existe un gradiente de densidad entre la partícula y el medio en el cual se encuentra suspendida (Graham, 2001).

La ley de Stokes describe la velocidad de sedimentación de una partícula esférica en un medio continuo para Reynolds menores a 1 (Tejeda et al., 2011). Cuando se aplica una fuerza a una partícula en un medio continuo, ésta se acelera hasta que alcanza una velocidad a la cual la resistencia a su movimiento iguala la fuerza aplicada. Cuando las fuerzas se igualan, la aceleración se vuelve nula y la velocidad de sedimentación es constante. Esta velocidad de sedimentación puede obtenerse a partir del balance de fuerzas, que resulta en la Ecuación 1. En una sedimentación libre, la fuerza que actúa es la de la gravedad, mientras que en una sedimentación centrífuga actúa el campo centrífugo.

$$v_{\omega} = \frac{d_p^2 \Delta \rho \omega^2 r}{18 \mu} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde:

- v_{ω} : velocidad de sedimentación centrífuga.
- $\omega^2 r$: aceleración centrífuga.
- ω : velocidad de rotación.
- r : Distancia radial del eje de rotación a la partícula.
- d_p : diámetro de la partícula.
- $\Delta \rho$: gradiente de densidades entre partícula y medio.
- μ : viscosidad del medio

Bajo determinadas condiciones de centrifugación, cada partícula sedimenta a una velocidad diferente: las partículas de mayor tamaño equivalente y densidad tenderán a sedimentar en primer lugar, siendo el tamaño la variable de mayor influencia al estar elevada al cuadrado. De la ley de Stokes también se deduce que la velocidad de sedimentación puede incrementarse mediante el uso de la fuerza centrífuga, aumentando la velocidad de giro, por ejemplo, o que la distancia al eje de giro aumenta la velocidad de sedimentación. Así mismo, de esta ecuación también se deduce que la separación por centrifugación puede verse limitada en medios viscosos, ya que esta variable es inversamente proporcional a la velocidad a la que se separa la partícula.

Además de la velocidad, el tiempo también es una variable a tener en cuenta en la separación centrífuga, ya que un mayor tiempo de centrifugación tendrá como consecuencia un mayor número de partículas separadas debido a que partículas más pequeñas o de menor densidad tendrán tiempo de sedimentar.

4.2 Equipos centrífugos empleados a nivel de planta piloto y escala industrial

Los equipos centrífugos que se utilizan en la industria se clasifican en centrífugas sedimentadoras y centrífugas filtrantes. Los **equipos de filtración centrífuga** disponen de un filtro o una canasta perforada a través de la cual se recoge el líquido clarificado. Se basan en los principios de separación por filtración, por lo que no se profundizará en ellas en este objeto de aprendizaje. En cuanto a las **centrífugas sedimentadoras**, en la Figura 1 se presentan los principales equipos centrífugos utilizados a mediana y gran escala (planta piloto y escala industrial), de las que posteriormente se resumen sus principales características y aplicaciones.

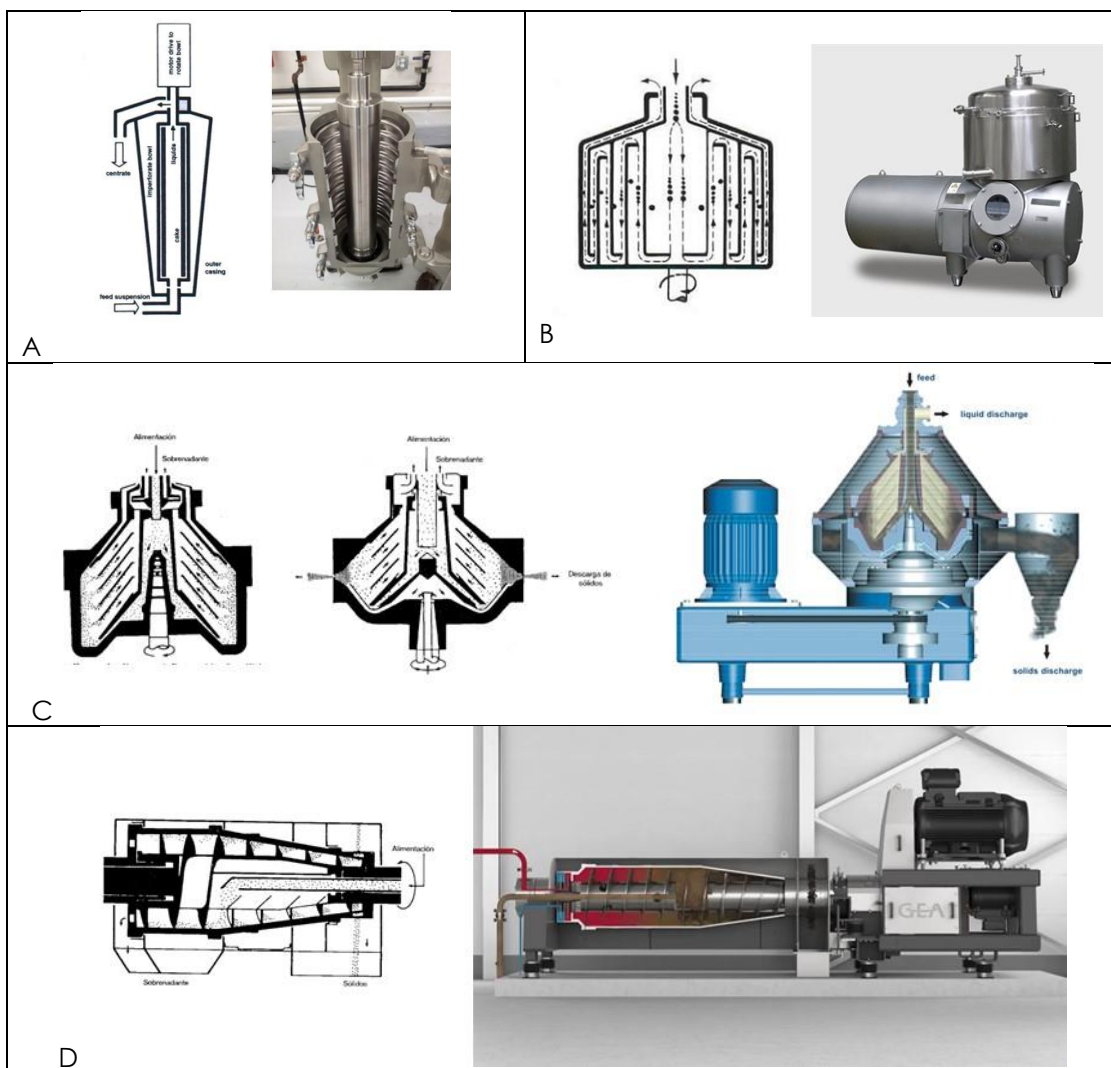


Figura 1. Centrífugas sedimentadoras comúnmente empleadas para llevar a cabo separaciones a escala industrial. A. Centrífuga tubular, B. centrifuga de cámara múltiple, C. Centrifuga de discos (tazón cerrado, tazón abierto). D. Centrifuga decantadora o de tornillo. (<https://www.gea.com>; <https://www.lenntech.com>)



- A. Centrífuga tubular.** Tubo hueco giratorio por el que se hace circular la suspensión o mezcla de líquidos. Se trata de un equipo sencillo y eficiente que generalmente se aplica a la separación de líquidos o partículas finas. Los sólidos sedimentan en la pared interior, de modo que se requiere de la descarga de la torta (sólido sedimentado) una vez finalizada la centrifugación. Funcionamiento en régimen intermitente o por cargas.
- B. Centrífugas de cámara múltiple.** Variación de la centrífuga tubular por incorporación de varias cámaras (tazones concéntricos con deflectores). La fuerza centrífuga varía entre las cámaras, de forma que se crea un gradiente de clasificación: las partículas más finas se asientan en la cámara externa, mientras que las más grandes se acumulan en la región cercana al eje de giro debido a su mayor velocidad de sedimentación.
- C. Centrífugas de discos:** Dispone de una serie de discos en forma de conos truncados que se alimentan por un tubo central. La disposición de varios discos permite aumentar enormemente la superficie de sedimentación, resultando en equipos de mayor capacidad. Los sólidos sedimentan en la cara inferior de los conos, de modo que resbalan debido al ángulo que forma el cono truncado, mientras el líquido asciende y es recuperado en la zona superior gracias a una bomba centrípeta. Las centrífugas de discos son capaces de aplicar fuerzas entre 4.000 y 14.000 veces la fuerza gravitacional, reduciendo de forma significativa el tiempo de separación. Son los equipos centrífugos más habitualmente empleados a escala industrial, aunque su consumo energético es generalmente elevado (Amaro et al., 2017). En función de su diseño, requiere de descargas o pueden operar de forma continua.
- D. Centrífugas decantadoras o de tornillo:** Presentan un tazón horizontal con un tornillo axial sinfín, que rotan a diferente velocidad. Los sólidos sedimentados son arrastrados por el tornillo de forma que se eliminan por el extremo cónico, mientras que el líquido clarificado rebosa por el extremo opuesto. Se trata de equipos adecuados para altas concentraciones de sólidos (Figura 2). Se emplean habitualmente para separar lodos (tratamiento de aguas residuales) y aumentar la densidad celular en cultivos previamente concentrados por otros métodos (por sedimentación o flotación, por ejemplo).

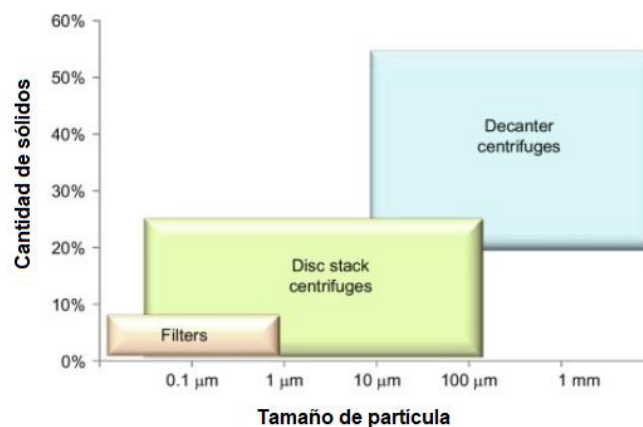


Figura 2. Tamaños de partícula e intervalos de concentración en los que tienen aplicación las centrífugas de discos y las centrífugas decantadoras (Adaptado de Amaro et al., 2017)



4.3 Centrifugación a gran escala aplicada a la industria biotecnológica

La **centrifugación** tiene **aplicación en numerosos bioprocesos**, entre los que se incluyen la **clarificación** de medios de cultivo para la producción de hormonas, vacunas o enzimas; la **recuperación y concentración** de bacterias u otros cultivos celulares; o la **concentración y separación** de fracciones sanguíneas. Los equipos centrífugos más habituales para estas aplicaciones biotecnológicas son las centrífugas tubulares, empleadas para procesar pequeños volúmenes; las centrífugas decantadoras, especialmente indicadas para elevadas concentraciones de sólidos (lodos de tratamiento de aguas residuales, cosechas de microalgas pre-concentradas); y las centrífugas de discos, siendo estos últimos equipos los más comúnmente empleadas en la industria en general, tanto biotecnológica como otras industrias afines.

En los procesos de purificación de anticuerpos monoclonales y otras proteínas a partir de cultivos de células de mamíferos, la centrifugación se emplea habitualmente para eliminar las células y restos celulares del medio de cultivo, y producir un sobrenadante clarificado, en condiciones adecuadas para continuar el proceso de recuperación y purificación (Richardson y Walker, 2019). No obstante, con anterioridad al año 2000, la microfiltración (tangencial y en profundidad) era la tecnología estándar empleada en clarificación en la industria biofarmacéutica, ya que la centrifugación industrial se consideraba cara en términos de inversión de capital, y los equipos tenían una habilidad limitada para controlar o minimizar el efecto de los esfuerzos cortantes en las células, que podían verse notablemente dañadas durante el procesado.

En la siguiente década, la industria adoptó la centrifugación con descarga periódica de sólidos como técnica habitual para la clarificación primaria de estos cultivos celulares. Este cambio estuvo conducido por la necesidad de escalar procesos capaces de gestionar volúmenes de biorreactor de 10.000 a 15.000 L, con elevadas densidades celulares, lo que promovió una serie de desarrollos tecnológicos en el diseño de equipos centrífugos, que permitió por ejemplo minimizar los efectos de los esfuerzos cortantes en las células.

4.4.1. Centrifugación con descarga continua de sólidos

En la actualidad, las **centrífugas de discos** se emplean comúnmente en la **industria biofarmacéutica** para recuperación o clarificación primaria. En estos equipos, la corriente alimento se introduce en la canasta de la centrífuga por la zona superior, mientras ésta gira a elevada velocidad. Las diferencias de densidad entre las partículas y el medio fuerzan a las células a acumularse en la periferia de la canasta (en un espacio reservado a los sólidos). A su vez, el líquido libre de células fluye hacia la zona superior y es recuperado gracias a una bomba centrípeta, para su posterior recolección y procesado. Estos equipos se alimentan continuamente, y los sólidos separados se descargan periódicamente (Figura 3) o continuamente (Figura 4).

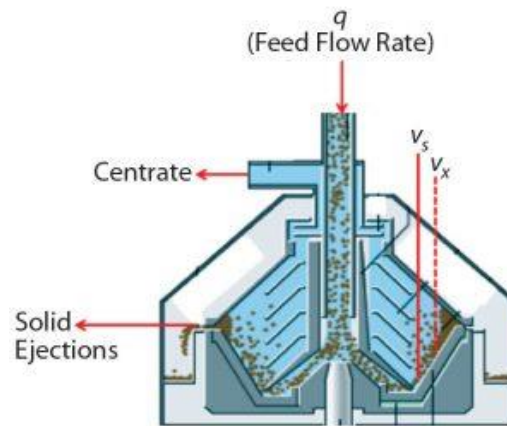


Figura 3. GEA disc-stack centrifuge for periodic solids discharge (<https://www.gea.com>, en Richardson y Walker, 2018).

La descarga periódica de sólidos es una solución adecuada para determinados volúmenes y densidades. No obstante, las densidades de los cultivos han aumentado en tal medida en los últimos años que la robustez de la operación de centrifugación se ha visto comprometida, debido a intervalos de descarga demasiado cortos e inmanejables, resultando en una mayor turbidez del sobrenadante y pérdidas de producto. Esto ha llevado al desarrollo de equipos de descarga continua de sólidos (Figura 4).

La descarga continua de sólidos difiere de la descarga periódica o discontinua en que, en lugar de descargarse periódicamente, los sólidos son dirigidos hacia la zona superior a través de canales para una descarga continua mediante boquillas a una cámara que tiene su propia bomba centrípeta (diferente de la central), que bombea una corriente de sólidos altamente concentrada a través de una tubería de descarga.

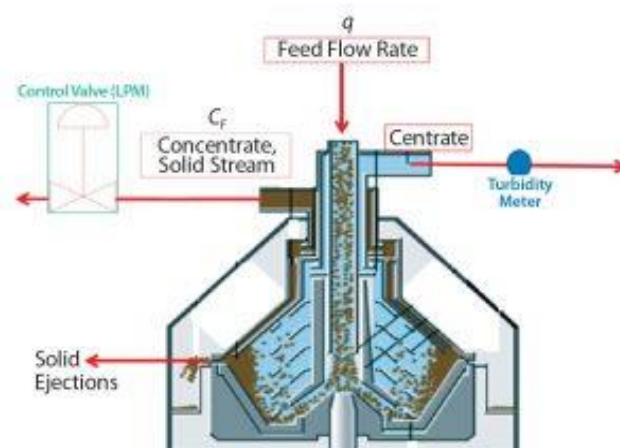


Figura 4. GEA disc-stack centrifuge for continuous solids discharge (<https://www.gea.com>, en Richardson y Walker, 2018).



Puede que el funcionamiento de las centrifugas de discos con descarga de sólidos te resulte más claro tras visualizar las siguientes animaciones:

- GEA Westfalia Self-Cleaning Disc Stack Separation Technology: https://youtu.be/l6r_ghAIA4U
- Centrifugation for Green Fluorescence Protein Recovery: <https://youtu.be/snVkTBzUWDY>

5 Cierre

En este objeto de aprendizaje hemos revisado la centrifugación como operación unitaria de separación a gran escala y, en particular, su aplicación a los bioprocesos y la industria biotecnológica.

A partir de lo aprendido, ¿podrías responder a las siguientes preguntas?

1. La operación de centrifugación puede aplicarse con éxito en la industria biotecnológica. ¿Qué aplicaciones concretas podrías mencionar?
2. Elabora una pequeña lista con los tipos de centrifugas más comúnmente utilizadas para aplicaciones biotecnológicas a gran escala.
3. En el pasado, ¿Qué limitaciones encontraba la centrifugación para su implementación a gran escala? ¿Cuál era el procedimiento alternativo de separación sólido-líquido habitualmente empleado?
4. En la actualidad, la centrifugación se propone como una técnica de separación adecuada para productos biotecnológicos producidos a gran escala. ¿Qué ha impulsado el desarrollo tecnológico requerido?
5. ¿Qué modificación de la centrifuga de discos se ha propuesto para lograr la descarga continua de sólidos?

6 Bibliografía

Amaro, H.J., Sousa-Pinto, I., Malcata, F.X. y Guedes, A.C. Microalgal fatty acids-From harvesting until extraction Microalgae-Based Biofuels Bioprod. From Feed. Cultiv. to End-Products (2017), pp. 369-400, 10.1016/B978-0-08-101023-5.00016-9.

GEA, centrifugas y equipos de separación. <https://www.gea.com>

Graham, D.J. (2001). Biological Centrifugation (1st ed.). Garland Science. <https://doi.org/10.1201/9781003076797>

NcBionetwork. Green Fluorescent Protein (GFP) Recovery. <https://www.ncbionetwork.org/iet/gfp/>

Richardson, A. y Walker, J. (2018). Continuous Solids-Discharging Centrifugation: A Solution to the Challenges of Clarifying High-Cell-Density Mammalian Cell Cultures. Bioprocess international, April 18.

Tejeda, A., Montesinos, R.M. y Guzmán R. (2011). Bioseparaciones (2ª Ed). Capítulo II.4. Pearson Educación de México.