

Escalado de la producción de bioproducto de origen microbiano obtenido por fermentación estática

Robelio Ramos Méndez^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-7006-741X>

Zenaida Rodríguez Negrín¹ <https://orcid.org/0000-0003-0350-1647>

Adonis Huici¹ <https://orcid.org/0000-0002-3277-9771>

Lázaro Miranda¹ <https://orcid.org/0000-0002-6656-068X>

María Isabel Díaz¹ <https://orcid.org/0000-0002-2914-3131>

Raquel Hernández González, <http://orcid.org/0000-0002-4982-0312>

Tatiana Pichardo Moya² <https://orcid.org/0000-0001-9416-2649>

Eloísa Rodríguez² <https://orcid.org/0000-0003-1831-9012>

Yelenys Alvarado-Capó², <http://orcid.org/0000-0003-1721-717X>

¹Centro de Bioactivos Químicos, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuani km 5,5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

²Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuani km 5,5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

*Autor para correspondencia e-mail: robeliorm@uclv.edu.cu

RESUMEN

El desarrollo de bioproductos con aplicaciones agrícolas se requiere que los resultados obtenidos a nivel de laboratorio puedan escalarse. El objetivo de este trabajo fue escalar la producción de un bioproducto de origen microbiano obtenido por fermentación estática de un cultivo mixto. Se realizó un cultivo discontinuo mixto con una mezcla de melaza y suero de leche en agua como fuentes de nutrientes e inóculo. Se estimó la cinética de crecimiento global a través de la biomasa así como las variaciones del pH y °Brix. A partir de los resultados se realizó un escalado de laboratorio (5 litros) y otro de planta piloto (24, 200 y 2100 litros). La biomasa microbiana se incrementó en el tiempo, el pH y los °Brix decrecieron. Los valores se ajustaron a un modelo polinómico de segundo orden, con coeficientes de regresión $R^2 > 0.8$. Tanto el pH como los °Brix mostraron una correlación negativa significativa con la biomasa y entre ellos. El pH y los °Brix se podrían utilizar como indicadores para monitorear el desarrollo de la fermentación y para el control del producto. El proceso de fermentación puede tener una duración entre 7 y 10 días. Con el diseño concebido y manteniendo las proporciones de materias primas se logró escalar el proceso de producción del bioproducto de origen microbiano desde el laboratorio hasta planta piloto. Se conservaron las características del bioproducto medidas a través de los indicadores pH, °Brix, color y olor.

Palabras clave: Brix, cultivo mixto, melaza, planta piloto, suero de leche

Scale up the of production microbial-based bioproduct obtained by static fermentation

ABSTRACT

The development of bioproducts with agricultural applications requires that the results obtained at the laboratory level can be scaled up. The objective of this work was to scale the production of a microbial based bioproduct obtained by static fermentation of a mixed culture. A mixed batch culture was carried out with a mixture of molasses and whey in water as sources of nutrients and inoculum. The global growth kinetics were estimated through the biomass as well as the variations of pH and °Brix. Based on the results, a laboratory scale-up (5 liters) and a pilot plant scale (24, 200 and 2100 liters) were carried out. The microbial biomass increased over time, the pH and °Brix decreased. The values were adjusted to a second order polynomial model, with regression coefficients $R^2 > 0.8$. Both pH and °Brix showed a significant negative

correlation with biomass and between them. The pH and °Brix could be used as indicators to monitor the development of the fermentation and to control the product. The fermentation process can last between 7 and 10 days. With the design conceived and maintaining the proportions of raw materials, it was possible to scale the production process of the microbial based bioproduct from the laboratory to the pilot plant. The characteristics of the bioproduct measured through the pH, °Brix, color and odor indicators were preserved.

Keywords: Brix, mixed culture, molasses, pilot plant, whey

INTRODUCCIÓN

La aplicación de microorganismos en la agricultura ha crecido en sistemas orgánicos y en todo el mundo en desarrollo y se considera que los microorganismos juegan un papel esencial en la producción agrícola (Russo *et al.*, 2012). Los bioproductos de origen microbiano, se han ido integrando a los sistemas de producción con el objetivo de modificar procesos fisiológicos en las plantas que conduzcan a un incremento de la productividad (Ravensberg, 2015; Hemant *et al.*, 2016; Yakhin *et al.*, 2017).

Para incrementar la disponibilidad de bioproductos con aplicaciones agrícolas se requiere del diseño y optimización de procesos que garanticen su producción estable y con calidad. En este sentido, es necesario que los resultados obtenidos a nivel de laboratorio puedan escalarse para aumentar los volúmenes, mantener la productividad y eficiencia. El proceso de escalado es un aspecto esencial del desarrollo de procesos biotecnológicos (Schmidt, 2005; Nienow, 2006; Quiroga-Cubides *et al.*, 2017). Los bioproductos se elaboran tanto a partir de cultivos puros como cultivos mixtos.

Los consorcios microbianos son una parte esencial de la biosfera donde los sustratos se convierten en productos por la acción sinérgica de los microorganismos que intervienen (Hoffner y Barton, 2014; Antoniewicz, 2020). A partir de su observación se han desarrollado tecnologías de cultivo. De esta forma se ha considerado que como cultivo mixto a aquel cultivo indefinido donde ocurre una fermentación espontánea de diferentes microorganismos, en condiciones aerobias o anaeróbicas y no estériles (Bader *et al.*, 2018). Numerosos procesos para la obtención de productos alimenticios tienen lugar con cultivos mixtos donde participan, por ejemplo, bacterias

ácido lácticas, acéticas y levaduras (Ravyts *et al.*, 2012; Canon *et al.*, 2020).

De igual forma los bioproductos obtenidos con tecnología de tipo Microorganismos eficientes (Higa, 2000) se elaboran a partir de cultivos mixtos en condiciones de fermentación poco exigentes. La industria biotecnológica cada vez apuesta más por el potencial de consorcios microbianos para producir diferentes compuestos y minimizar los riesgos del uso de cultivos puros tales como la contaminación y disminuir los costos por las exigencias elevadas de las condiciones de cultivo (Qian *et al.*, 2020).

Instituciones de la Universidad Central Marta Abreu de Las Villas han trabajado en el desarrollo de bioproductos con aplicaciones industriales y agrícolas a través de procesos de fermentación. El objetivo de este trabajo fue escalar la producción de un bioproducto de origen microbiano obtenido por fermentación estática de un cultivo mixto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Bioproducto

Se empleó una formulación de bioproducto de origen microbiano, resultado de un proceso de innovación tecnológica entre centros de investigación de la Universidad Central Marta Abreu de Las Villas que se obtiene por fermentación microbiana y toma como base la tecnología de microorganismos eficientes (Higa, 2000) y los resultados previos del bioproducto MEF32 (Martirena *et al.*, 2014).

Para todos los ensayos se emplearon como materias primas melaza, suero de leche y agua.

Suero de leche: procedente de la industria láctea del territorio con color y olor característicos, pH 3.0 – 5.0, acidez > 0.12%, conductividad eléctrica ≤ 25.0 mS cm⁻¹ y sin otros aditivos químicos.

Melaza: procedente de la UEB Central azucarero Ifraín Alfonso, Ranchuelo, Villa Clara con Brix: 90.00, azúcares reductores 16.67, sacarosa 37.03, azúcares totales 53.70 y ceniza: 12.20. Todos expresados en % (m/m).

Agua: se empleó agua potable, declorada y sin organismos patógenos.

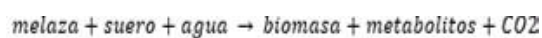
Procedimientos generales

Para la caracterización general del bioproducto y las soluciones se realizaron determinaciones de pH (pHmetro PHSJ-3F), conductividad eléctrica (CE) (mS cm^{-1} , conductímetro DDS-307A, China), sólidos solubles disueltos expresados como grados Brix ($^{\circ}\text{Brix}$) (refractómetro manual RHB32HTC, 0-32% BRIX-HUALIX) y la densidad (g l^{-1}) se determinó utilizando un picnómetro de borosilicato (marca ALAMO) de 50 ml. Se describió el color y el olor.

Estimación de parámetros cinéticos

Se realizó un cultivo discontinuo mixto donde se emplearon como fuentes de nutrientes e inóculo la mezcla de melaza y suero de leche en agua.

Luego de iniciada la fermentación no hay entradas de nutrientes o salida de productos de los recipientes de cultivo que se llenaron a su máxima capacidad y se cerraron para mantener una baja tensión de oxígeno en su interior. En estas condiciones el volumen se asumió constante. Como ecuación general del proceso de fermentación se estableció: (ecuación 1)



La cinética de crecimiento global a través de la biomasa así como las variaciones del pH y $^{\circ}\text{Brix}$ en el tiempo (días) se determinaron experimentalmente. Como recipientes de cultivo se utilizaron tubos (Falcon) de 50 ml de capacidad. Se observó además, el inicio y finalización del burbujeo como resultado de la liberación de CO_2 , presencia de sedimento, cambios de color y olor.

Dos litros de la mezcla inicial de materias primas se distribuyeron en los tubos (50 ml) hasta el máximo de su capacidad. Los tubos se incubaron en condiciones de oscuridad a 28°C (Incubadora Memet) y estático. Al

momento de iniciar el ensayo y durante 10 días (tiempo seleccionado a partir de resultados preliminares) se tomaron tres muestras a las cuales se midió pH y $^{\circ}\text{Brix}$. El crecimiento microbiano se determinó por el método gravimétrico (Arnaiz *et al.*, 2000) luego de centrifugar las muestras a 5 000 rpm a 4°C durante 10 min (Centrífuga Eppendorff 5810R) y eliminar el sobrenadante. El ensayo se repitió tres veces.

Además se determinó la velocidad específica de crecimiento máxima en la fase exponencial $\mu_{\text{max}} = (\ln_{x_2} - \ln_{x_1}) / (t_2 - t_1)$ donde t: tiempo, x: biomasa (mg ml^{-1}).

Atendiendo a los resultados se seleccionó el tiempo de fermentación y posibles indicadores de control del proceso.

Escalado experimental

A partir de la estimación de los parámetros cinéticos se realizó un escalado experimental del proceso de obtención del bioproducto de origen microbiano que incluyó un escalado de laboratorio y otro de planta piloto.

Escalado de laboratorio

Se emplearon recipientes de cultivo plásticos de 5 litros de capacidad y se prepararon 25 lotes de bioproducto (cada recipiente se consideró un lote) (Figura 1). Las condiciones de cultivo fueron temperatura ambiente, oscuridad y estático. El tiempo de fermentación fue de 10 días. Al final del proceso se midió el pH, $^{\circ}\text{Brix}$ y se determinó la densidad (g l^{-1}). Los resultados se analizaron mediante estadística descriptiva.

Escalado planta piloto

A partir de los resultados, se realizó el escalado en planta piloto basado en la teoría de la semejanza (Bisio y Kabel, 1985; García y Rodríguez, 2005; Hewitt y Nienow, 2007). El factor de escala volumétrica se calculó como $m' = k \times m$.

Dónde: m' es la variable a la escala del modelo (escala menor), k es el factor de escala y m la variable en el prototipo a escalar (escala mayor) (Quiroga-Cubides *et al.*, 2017). De esta manera se emplearon como fermentadores recipientes de 24, 200 y 2100 litros



Figura 1. Recipientes empleados como fermentadores para el escalado de bioproducto de origen microbiano por fermentación. a. 5 litros, b. 24 litros, c. 200 litros, d. 2100 litros.

disponibles, con factor de escala de 4.8, 8.3 y 10.5, respectivamente. Se mantuvieron constantes en las tres escalas las relaciones entre los volúmenes y concentraciones de las materias primas empleadas. Se utilizaron como fermentadores un recipiente metálico con cierre hermético (24 litros) y tanques plásticos (200 y 2100 litros) (Figura 1) que se limpiaron con agua y detergente y se enjuagaron con abundante agua potable. Para 2100 litros se emplearon tres recipientes.

La disolución de las materias primas se realizó en el propio recipiente con auxilio de un aditamento de madera y se completó el volumen de cada uno con agua de clorada, sin dejar espacio de aire, hasta la abertura. Se aseguró el cierre lo más hermético posible. Las condiciones de cultivo fueron temperatura ambiente y estático. A los 10 días de incubación se tomaron muestras del centro del recipiente y se midió el pH, conductividad eléctrica, °Brix y se determinó la densidad (g l^{-1}).

Análisis estadístico

Los datos de todos los ensayos se compilaron en documentos Excel y para su análisis se empleó el software SPSS versión 26. Los datos se sometieron a análisis de distribución normal mediante la prueba de Shapiro-Wilk y de homogeneidad de varianzas a través de la prueba de Levene. Con los datos experimentales de la estimación de parámetros cinéticos se hicieron análisis de regresión y

se ajustaron a un modelo con valor de $R^2 > 0.8$. Además, se hicieron análisis de correlación entre los datos de °Brix, pH y biomasa para $p \leq 0.05$. Los datos del escalado se analizaron mediante estadística descriptiva.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estimación de parámetros cinéticos

En las condiciones experimentales ensayadas se observó desprendimiento de gas (burbujeo) dentro de los recipientes de cultivo desde las primeras 24 h de incubación como evidencia de actividad de la biomasa microbiana, que disminuyó y fue imperceptible después del noveno día. Además, el sedimento en el fondo de los recipientes se incrementó con el tiempo, lo cual es común en los cultivos donde hay presencia de bacterias lácticas que se desarrollan en bajas tensiones de oxígeno (Krieg y Holt, 1986). Fueron perceptibles también cambios de olor de dulzón a posteriormente avinado y de color marrón a pardo.

La biomasa microbiana se incrementó rápidamente en el tiempo, luego se mantuvo estable y posteriormente decayó, con lo cual describió una curva típica del crecimiento microbiano (Madigan *et al.*, 2018) (Figura 2). En contraposición el pH y los °Brix decrecieron. La velocidad específica de crecimiento máxima en la fase exponencial (μ_{max}) fue 0.087 d^{-1} .

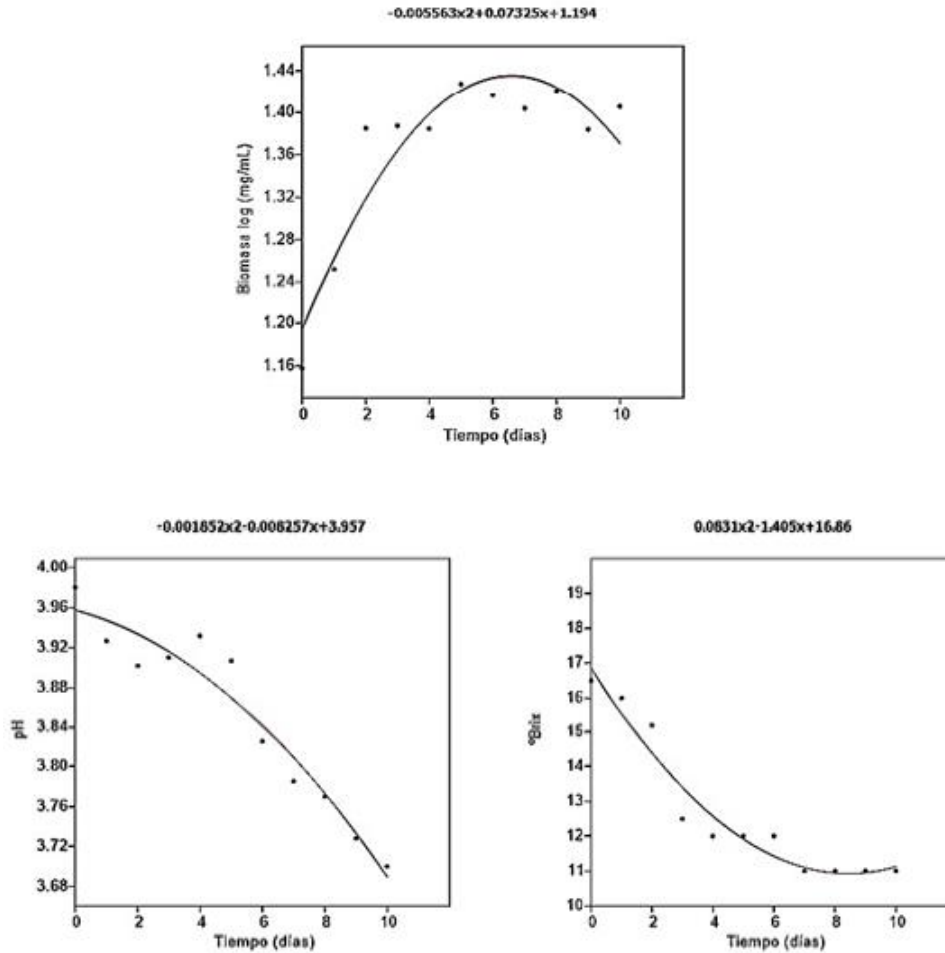


Figura 2. Modelos ajustados de la cinética de crecimiento de consorcio microbiano en la obtención de bioproducto mediante fermentación.

Los valores de las variables biomasa, pH y °Brix en el tiempo durante el proceso de fermentación se ajustaron a un modelo polinómico de segundo orden, con coeficientes de regresión superiores a 0.8 ($R^2 > 0.8$) (Tabla 1).

En las fermentaciones discontinuas el crecimiento microbiano generalmente se ajusta a una curva con fases definidas (latencia o lag, exponencial, estacionaria y decadencia o muerte) (Madigan *et al.*, 2018). Este cultivo mixto, con aporte microbiano tanto del suero de leche como de la melaza, que lleva a cabo una fermentación en condiciones no estériles, también se observó esta respuesta en el crecimiento. La fase lag fue solo de horas. En los primeros dos días se produjo un rápido aumento de la biomasa que luego se mantuvo por seis días y posteriormente después del 7mo día comenzó a decaer. En cultivos mixtos, los microorganismos que inician la fermentación

son los que consumen las sustancias más fácilmente degradables (ej. monosacáridos) y crean las condiciones que favorecen o limitan el desarrollo de otros por la secreción de productos de su metabolismo entre los que se mencionan a los ácidos orgánicos que disminuyen el pH. Muchos alimentos que se obtienen por fermentación a través del uso de microorganismos en cultivo mixto, a partir de fuentes naturales, contienen bacterias en combinación con levaduras donde las primeras generalmente predominan y a pesar del bajo pH, por ejemplo las bacterias ácido lácticas, se pueden mantener activas (Ravyts *et al.*, 2012; Bader *et al.*, 2018; Canon *et al.*, 2020).

Los grados Brix del bioproducto aportan criterios sobre el contenido de azúcares u otros sólidos solubles presentes que pueden ser usados como sustrato por los microorganismos para su crecimiento y

desarrollo. En este ensayo se demostró una correlación negativa significativa entre la biomasa y los grados Brix (-0.801, $p=0.003$). En la industria alimentaria, azucarera y de producción de bebidas por fermentación la medición de grados Brix es muy común para monitorear el desarrollo del proceso y la calidad de los productos finales (Eggleston y Lima, 2015).

Por otra parte, el bajo pH podría contribuir a limitar la actividad metabólica de los microorganismos. En este ambiente los ácidos orgánicos no disociados producidos en la fermentación, principalmente por las bacterias ácido lácticas inoculadas con el suero de leche, pasan libremente a través de las membranas celulares y el citoplasma se acidifica. Por tanto, se producen afectaciones en el funcionamiento de las enzimas, al transporte de nutrientes a la célula, la síntesis de proteínas, ácido ribonucleico (ARN), etc. (Cotter y Hill, 2003; Mani-López *et al.*, 2012). Los valores más bajos coincidieron con el decrecimiento de la biomasa y puede ser un indicativo de finalización de la fermentación. En este sentido, se comprobó también una correlación negativa significativa entre la biomasa y el pH (-0.589, $p=0.05$).

Este elemento podría tener influencia, además, en la conservación del bioproducto. Se conoce que durante las fermentaciones donde intervienen bacterias ácido lácticas, acéticas, entre otras, se producen ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico, acético y otros compuestos como bacteriocinas, péptidos, etc., que tienen efecto antimicrobiano y se emplea como una vía para la preservación de alimentos (Li *et al.*, 2015; Teneva-Angelova *et al.*, 2018).

Tanto el pH como los °Brix mostraron una correlación negativa significativa con la biomasa y entre ellos (0.755, $p=0.007$). La

asociación entre estas variables indicó que con el aumento de la biomasa microbiana decreció el pH y los °Brix. Atendiendo a los resultados, se podrían utilizar como indicadores para monitorear el desarrollo de la fermentación y para el control del producto.

Considerando los resultados, el proceso de fermentación puede tener una duración entre 7 y 10 días. El control de los procesos industriales de fermentación se basa principalmente en las características de los productos de salida (Gersharter y Aceves-Lara, 2012) y por tanto el pH y los °Brix podrían utilizarse como variables de control del proceso y del producto final en la producción del bioproducto.

Escalado experimental

Durante el escalado experimental, aun cuando las dimensiones de los recipientes de cultivo empleados así como su forma fueron diferentes, al mantener constante la relación de volumen y proporciones de materias primas y las condiciones de fermentación fue posible obtener el bioproducto en todas las escalas.

Las características del proceso de obtención del bioproducto contribuyeron a estos resultados. La secuencia ordenada de procesos y operaciones definidas en una fermentación espontánea, sin requerimientos de agitación, control de aireación, esterilidad, temperatura, formación de espuma, adición de agentes controladores de pH, etc., que generalmente se afectan durante el escalado (Jem, 1989; Schmidt, 2005; Nienow, 2006; Hewitt y Nienow, 2007) contribuyeron a la obtención de resultados en los indicadores de control, de forma repetible.

Escala de laboratorio

El escalado de 25 lotes de 5 litros corroboró los hallazgos de ensayos previos sobre la

Tabla 1. Ecuaciones y coeficiente de regresión utilizados para estimar la cinética de crecimiento microbiano en el proceso de fermentación del bioproducto.

Variable	Ecuación	Coefficiente de regresión (R^2)
Biomasa (log mg ml ⁻¹)	$y = -0.005563x^2 + 0.07325x + 1.194$	0.86
°Brix	$y = 0.0831x^2 - 1.405x + 16.86$	0.94
pH	$y = -0.001852x^2 - 0.008257x + 3.957$	0.93

disminución del pH y los °Brix en el proceso de fermentación del bioproducto bajo las condiciones experimentales ensayadas (Tabla 2).

Desde los primeros días de incubación se observó burbujeo dentro de los recipientes, incluso algunos se deformaron por la acumulación de gas. El pH y los °Brix iniciales tuvieron una variación menor que los finales de acuerdo con las variables estadísticas analizadas.

Las materias primas fueron las mismas para iniciar el proceso de fermentación y las mezclas se hicieron de forma manual en iguales proporciones para todos los lotes. Las mediciones iniciales de pH se realizaron con el mismo equipo y operario, por ello los valores de error estándar, desviación estándar, varianza y coeficiente de variación posiblemente fueron más bajos. Sin embargo, en el resultado final donde los valores de estas variables fueron superiores pudieron influir las diferencias en la hermeticidad de los recipientes de cultivo.

En el caso de los °Brix las determinaciones implican la observación directa del operario por el empleo de un refractómetro manual y los resultados están influenciados por el error humano. La densidad se mantuvo en valores similares al agua. El olor cambió de dulzón hacia avinado y el color de marrón a pardo.

Los resultados de esta etapa experimental corroboraron que tanto el pH como los °Brix pueden utilizarse como indicadores para el control de finalización del proceso en el tiempo de fermentación definido. Además, demostró la importancia de la mezcla adecuada de las materias primas para lograr homogeneidad y de la hermeticidad de los recipientes de cultivo. Estos factores deben ajustarse para mejorar la repetitividad del proceso y disminuir la dispersión de los datos.

Escala de planta piloto

En el escalado a 24 y 200 litros se logró mayor hermeticidad de los recipientes. Ello favoreció que los valores de pH y °Brix fueran bajos a

Tabla 2. Variables medidas a 25 lotes del bioproducto de origen microbiano a los 10 días de iniciada la fermentación.

Variable	pH (i)	pH (f)	°Brix (i)	°Brix (f)	Densidad (g l ⁻¹)
N	25	25	25	25	25
Media	4.17	3.85	14.4	9.00	1.01
Mínimo	4.02	3.55	13.8	7.60	1.01
Máximo	4.23	4.13	15.2	12.40	1.04
Mediana	4.20	3.96	14.40	8.40	1.02
Error estándar	0.010	0.045	0.083	0.243	0.002
Varianza	0.003	0.051	0.176	1.485	0.0001
Desv. estándar	0.054	0.226	0.419	1.218	0.010
Coef. variación	1.31	5.86	2.90	13.53	1.03

Leyenda: (i): inicial, (f) final

Tabla 3. Valores de pH y °Brix en el escalado de la producción del bioproducto hasta el volumen de 2100 litros después de 10 días de iniciada la fermentación.

Variable	Volumen de los recipientes de cultivo (litros)		
	24	200	2100 *
pH	3.7	3.7	3.56
°Brix	13	11.0	8.66

* Valores medios de tres lotes de 2100 litros

los 10 días de iniciado el proceso (Tabla 3). El recipiente de 200 l se deformó por la acumulación de CO₂ en su interior.

Al aumentar los volúmenes de materias primas que se deben procesar se incrementan las posibilidades de error. En este escalado el mezclado del suero y la melaza se hizo manual, no obstante, incluso con 2100 litros se logró un producto con características similares en olor avinado, color pardo y pH por debajo de 3.85 (valor medio de lotes de 5 litros). Los °Brix se apreciaron en valores más bajos en la medida que aumentó el volumen de escalado y más cercano a la media de los lotes de 5 litros. El mezclado de las materias primas es un punto crítico en los procesos de fermentación microbiana. Con el incremento de la escala, y con mayor énfasis en este sistema diseñado para condiciones estáticas, se pueden originar zonas de pobre mezclado donde las células microbianas sufren un estrés fisiológico que afecta su viabilidad y en consecuencia los productos esperados (Schweder y Hecker, 2004).

Para el escalado de procesos fermentativos no se dispone de un método único que sea factible, la aplicación de un método u otro es específico para cada proceso (Bisio y Kabel, 1985; García y Rodríguez, 2005; Hewitt y Nienow, 2007). En este escalado experimental en laboratorio y planta piloto se lograron los propósitos de obtener un bioproducto mediante fermentación microbiana desde cinco hasta 2100 litros. Aunque es un proceso sencillo por las operaciones y condiciones en que se produce, puede tener fuentes importantes de variación en las materias primas que aportan tanto los nutrientes como el inóculo para una fermentación espontánea no controlada. Adicionalmente, lograr una homogeneización de la mezcla de materias primas y la hermeticidad de los recipientes para garantizar bajas tensiones de oxígeno son determinantes en la repetitividad del proceso y al final en la calidad del bioproducto. El proceso de escalado es uno de los aspectos más relevantes de la producción industrial ya que se requiere mantener la productividad y eficiencia alcanzada a escala de laboratorio. Para un escalado apropiado es necesario conocer las variables del proceso que tienen mayor influencia en los resultados (Quiroga-Cubides *et al.*, 2007).

Con el diseño concebido se logró escalar el proceso de producción del bioproducto de origen microbiano desde el laboratorio hasta planta piloto. Se conservaron las características del bioproducto medidas a través de los indicadores pH, °Brix, color y olor. Se evidenció que el conocimiento del proceso fermentativo, su cinética y resultados, pueden garantizar resultados repetibles a escala productiva (Quiroga-Cubides *et al.*, 2007).

CONCLUSIONES

Manteniendo las proporciones de materias primas en la mezcla inicial, las especificaciones de calidad y las condiciones de hermeticidad de los recipientes de cultivo se puede escalar la producción del bioproducto de origen microbiano desde 5 a 2100 litros y conservar sus características principales de color, olor, °Brix y pH.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue en parte financiado a través del proyecto: Alternativas para la nutrición y protección fitosanitaria de cultivos agrícolas mediante el uso de bioproductos de origen microbiano (código P131LH001316) financiado por el Programa Nacional de Alimento Humano del CITMA. Los financistas no tuvieron participación en el diseño del estudio, la colecta y análisis de los datos. La decisión de publicar o la preparación del manuscrito fue de las instituciones participantes y el colectivo de autores del proyecto.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no tienen intereses personales o financieros que atenten contra los resultados de este trabajo.

Contribución de los autores

Conceptualización YAC, RRM, ZNR, Análisis formal YAC, RRM, Investigación RRM, YAC, TO, RE, AH, LM, Metodología RRM, YAC, ZRN, MID, Supervisión YAC, ZRN, Escritura-Primera redacción YAC, RRM, ZNR, Escritura-Revisión y Edición YAC, RRM, ZNR.

REFERENCIAS

Antoniewicz MR (2020) A guide to deciphering microbial interactions and metabolic fluxes in microbiome communities. *Current Opinion in*

- Biotechnology 64: 230-237; doi: 10.1016/j.copbio.2020.07.001
- Arnáiz C, Isac L, lebrato J (2000) Determinación de la biomasa en procesos biológicos. *Tecnología del agua* 205: 45-52
- Bader J, Brigham C, Stahl U, Milan K, Popovic MK (2018) Development of Controlled Cocultivations for Reproducible Results in fermentation processes in food biotechnology. En: Holban AM, Grumezescu AM (Eds). *Advances in Biotechnology for Food Industry Handbook of Food Bioengineering*, pp. 135-165. Academic Press, London
- Bisio A, Kabel R (1985) *Scale up of Chemical Processes*. John Wiley and Sons, New York
- Canon F, Nidelet T, Guedon E, Thierry A, Gagnaire V (2020) Understanding the mechanisms of positive microbial interactions that benefit lactic acid bacteria co-cultures. *Front Microbiol* 11: 1–16
- Cotter PD, Hill C (2003) Surviving the acid test: responses of Gram-positive bacteria to low pH. *Microbiol Mol Biol Rev* 67: 429-453
- Eggleston G, Lima I (2015) Sustainability Issues and Opportunities in the Sugar and Sugar-Bioprocess Industries. *Sustainability* 7: 12209-12235; doi: 10.3390/su70912209
- García A, Rodríguez I (2005) Diseño y escalado de reactores químicos y biológicos. En: González E (Ed). *Vías para el diseño de nuevas instalaciones de la industria de procesos químicos fermentativos y farmacéuticos*. Editorial Científico-técnica, La Habana
- Gershater CJL, Aceves-Lara CA (2012) Control of industrial fermentations: an industrial perspective. En: El-Mansi EMT, Bryce CFA, Dahhou B, Sanchez S, Demain AL, Allman AR (Eds). *Fermentation Microbiology and Biotechnology*, pp.457-488. CRC Press, Boca Raton
- Hemant J, Patil HJ, Solanki MK (2016) Microbial Inoculant: Modern Era of Fertilizers and Pesticides. En: Singh DP, Singh HB (Eds). *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity*, pp. 319-343. Springer, New Delhi
- Hewitt ChJ, Nienow AW (2007) The Scale-Up of Microbial Batch and Fed-Batch Fermentation Processes. *Adv Appl Microbiol* 62: 105-35; doi: 10.1016/S0065-2164(07)62005-X
- Higa T (2000) What is EM technology? *EM world J* 1: 1-6
- Höffner K, Barton PI (2014) Design of Microbial Consortia for Industrial Biotechnology. En: Eden MR, Siirola JD, Towler GP (eds). *Proceedings of the 8th International Conference on Foundations of Computer-Aided Process Design – FOCAPD 2014 July 13-17 2014*. Elsevier, Washington
- Jem KJ (1989) Scale down techniques for fermentation. *BioPharm* 3: 30-39
- Krieg N, Holt J (1986) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 9th Edition Vol II*. Williams and Wilkins, Baltimore
- Li Y, He DW, Niu DJ, Zhao YC (2015) Acetic acid production from food wastes using yeast and acetic acid bacteria micro-aerobic fermentation. *Bioproc Biosyst Eng* 8(5): 863-869; doi: 10.1007/s00449-014-1329-8
- Madigan MT, Bender KS, Buckley DH, Sattley WM, Stahl DA (2018) *Brock Biology of Microorganisms*. y Pearson, New York
- Mani-López E, García HS, López-Malo A (2012) Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. *Food Res Int* 45: 713-721
- Martirena F, Rodriguez-Rodriguez Y, Callico A, Gonzalez R, Diaz Y, Bracho G, Alujas A, Guerra JO, Alvarado-Capó Y (2014) Microorganism-based bioplasticizer for cementitious materials. *Constr Build Mater* 60: 91-7
- Nienow AW (2006) Reactor engineering in large-scale animal cell culture. *Cytotechnology* 50: 9-33
- Quiroga-Cubides G, Díaz A, Gómez M (2017) Adjustment and Scale-Up Strategy of Pilot Liquid Fermentation Process of *Azotobacter* sp. *World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Bioengineering and Life Sciences* 11(4): 322-330

- Qian X, Chen L, Sui Y, Chen C, Zhang W, Zhou J, Dong W, Jiang M, Xin F, Ochsenreither K (2020) Biotechnological potential and applications of microbial consortia. *Biotechnol Adv* 40: 107500; doi: 10.1016/j.biotechadv.2019
- Ravensberg W J (2015) Commercialisation of microbes: present situation and future prospects. En: Lugtenberg B (Ed). *Principles of Plant-Microbe Interactions*, pp.309-317. Cham, Heidelberg
- Ravyts F, De Vuyst L, Leroy F (2012) Bacterial diversity and functionalities in food fermentations. *Eng Life Sci* 12(4): 356-367
- Russo A, Carrozza GP, Vettori L, Felici C, Cinelli F, Toffanin A (2012) Plant beneficial microbes and their application in plant biotechnology. En: Agbo EC (ed). *Innovations in biotechnology*, pp. 57–72. Intechopen, London; doi: 10.5772/2450
- Schmidt FR (2005) Optimization and scale up of industrial fermentation processes. *Appl Microbiol Biot* 68(4): 1-11
- Schweder T, Hecker M (2004) Monitoring of stress responses En: *Enfors SO* (Ed). *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology—Physiological Stress Responses in Bioprocesses*, pp. 47–72. Springer, New York
- Teneva-Angelova T, Hristova I, Pavlov A, Beshkova D (2018) Lactic Acid Bacteria—From Nature Through Food to Health. En: Holban AM, Grumezescu AM (Eds). *Advances in Biotechnology for Food Industry Handbook of Food Bioengineering*, pp. 91-133. Academic Press, London
- Yakhin OI, Lubyantsov AA, Yakhin IA, Brown PH (2017) Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. *Front Plant Sci* 7:2049; doi: 10.3389/fpls.2016.02049

Recibido: 18-11-2020

Aceptado: 12-01-2021

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC 4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/> Está permitido su uso, distribución o reproducción citando la fuente original y los autores.