

Determinación de parámetros claves en el proceso de escalamiento para la producción de *Lactobacillus spp.*

Foliano Sandoval, D. J., Valdez Barros, L. M.,
Gómez Nussbaumer, S. J., Ganem Torres, Y. P.¹

RESUMEN

Con el objetivo de describir los parámetros claves en el proceso de escalamiento de *Lactobacillus sp.*, se realizó una revisión bibliográfica de 55 artículos a través de diferentes motores de búsqueda. Durante la selección de los artículos no se discriminó por fechas de publicación debido a la corta información que se encontraba acerca del tema. Los resultados bibliográficos indicaron que las principales variables de escalamiento de *Lactobacillus sp.* son las condiciones fisicoquímicas para el crecimiento del microorganismo, las condiciones geométricas para el diseño y el funcionamiento de un biorreactor. En general, el rango de pH para el crecimiento de *Lactobacillus sp.* varía de 3.2 a 9.6 según la cepa y rangos de temperatura, que oscilan entre 2°C y 53°C. La alta producción y el rendimiento de biomasa se reflejan en el tipo de turbinas y flujo de aire que se le suministre al biorreactor. Adicionalmente, los puntos de operación vienen dados para cada cepa, por lo que se recomienda hallarlos experimentalmente con apoyo de modelos matemáticos predictivos.

Palabras clave: *Lactobacillus spp.*, escalamiento, parámetros cinéticos, parámetros operaciones, biorreactor, bacterias ácido lácticas (BAL).

Recibido: Septiembre 2018 - Aceptado: Noviembre 2018

1. Universidad Libre Barranquilla, Grupo de Investigación GEA, Línea de Investigación Microorganismos y Metabolitos de Interés Industrial - Correos: davidy24@hotmail.com, linavaldez28@gmail.com, yinagnm@gmail.com, santing2008@hotmail.com

Determination of key parameters in the climbing process for the production of *Lactobacillus sp*

ABSTRACT

In order to describe the key parameters in the scaling process of *Lactobacillus sp.*, a bibliographic review of 55 articles was carried out through different search engines. During the selection, the articles were not discriminated by publication dates due to the short information that was found on the subject. The bibliographic results indicated that the main scaling variables of *Lactobacillus sp.* are the physicochemical conditions for the growth of the microorganism, the geometric conditions for the design and operation of a bioreactor. In general, the pH range for the growth of *Lactobacillus sp.* varies from 3.2 to 9.6 depending on the strain and temperature ranges, which range between 2°C and 53°C. The high production and biomass yield are reflected in the type of turbines and airflow that is supplied to the bioreactor. Additionally, the operation points are given for each strain, so it is recommended to find them experimentally with the support of predictive mathematical models.

Keywords: *Lactobacillus sp.*, scaling, kinetic parameters, operational parameters, bioreactor, acid lactic bacteria (LAB).

INTRODUCCIÓN

Colombia es un país muy diverso que ofrece muchas oportunidades para el crecimiento económico; por consiguiente, se debe fomentar la creación de productos con denominación de origen que contribuyan a la economía del país, además de la creación de nuevas estrategias que contribuyan a la obtención de sellos de calidad, los cuales pueden apoyarse en la aplicación de herramientas biotecnológicas, de bioprospección, y el uso de recursos biológicos, genéticos y derivados, sus componentes y propiedades, para su producción a escala industrial^{1,2}. Según el documento CONPES 3697, el mercado biotecnológico en países desarrollados ha demostrado ser un campo que contribuye al desarrollo socioeconómico.

El queso costeño es un producto de gran aceptación organoléptica al elaborarse con leche cruda, la cual contiene microorganismos propios que influyen de manera significativa en su sabor, olor y textura; sin embargo, la elaboración de queso con leche cruda no está permitido en Colombia debido a que se asocia con enfermedades transmitidas por alimentos.

La elaboración de queso costeño con *Lactobacillus spp.* representa una ventaja, ya que no se necesitaría utilizar la leche cruda para proporcionarle el aroma, sabor y textura, sino que se fabricaría a partir de leche pasteurizada, lo cual contribuiría a la obtención de sellos de calidad, que a su vez facilitaría su aceptación en los mercados tanto nacionales como internacionales.

Es de particular interés alimenticio la producción de biomasa microbiana de bacterias lácticas, para su utilización a gran escala. Para ello se deben tener en cuenta los conceptos que giran alrededor del **escalamiento**, es decir, un cambio en el volumen de un proceso, el cual requiere de modelización de variables físicas, químicas y operacionales que influyen en el crecimiento microbiano³. Con el cambio de volumen se deben estudiar algunas variables, como los parámetros cinéticos de crecimiento microbiano de *Lactobacillus sp.*, que permiten predecir el desarrollo de la fermentación y evaluar el rendimiento y la productividad de los procesos. Para ello se deben realizar ensayos a escala piloto en el laboratorio antes de llevarlos a industrial⁴.

En la Universidad Libre seccional Barranquilla se han realizado estudios para identificar, caracterizar y seleccionar 3 cepas de *Lactobacillus fermentum*, con alto potencial para la elaboración de queso costeño a partir de leche pasteurizada. La producción de estas cepas se realiza actualmente a escala de laboratorio, lo que sólo permite generar 32 kilos/día de queso costeño, cantidad muy incipiente para suplir la demanda actual, por lo que se requiere establecer un proceso de escalado para ser producidas masivamente, de tal manera que puedan usarse como inóculo para una producción de queso costeño a escala industrial².

Este artículo proporcionará información clave para facilitar la realización de un proceso de escalamiento de *Lactobacillus spp.*, con el cual se lograría elaborar queso costeño inoculado.

PROCESO DE ESCALAMIENTO

El escalamiento es el aumento o disminución en el volumen de trabajo de una reacción biológica. El proceso consta de una parte teórica, una modelización y un dimensionamiento adecuado del proceso a través de variables físicas, químicas y biológicas de manera adecuada³, así como parámetros relacionados con la geometría y tamaño del reactor.

Durante el proceso se pueden presentar muchos problemas, como la variación de respuesta en los procesos y la aparición de fenómenos cinéticos no esperados. Dichos problemas sólo se presentan cuando la interacción entre los parámetros específicos del proceso se ven afectadas por el cambio de escala. De acuerdo a Ruiz y Álvarez (2011), las distintas interacciones marcan las diferencias entre los puntos de operación, que vienen dados por las características físicas y químicas que modulan el crecimiento microbiano, como el pH, la temperatura, el tipo de sustrato, etc., y un régimen de operación que se asocia con los efectos dinámicos de interés ligados al escalamiento, en este caso, coeficiente de transferencia de oxígeno, requerimiento de potencia del biorreactor, entre otros⁵.

Actualmente no existe una metodología que permita aumentar la escala de producción desde el laboratorio a planta piloto directamente, por lo que se requieren pasos en cambio de volúmenes de producción de manera paulatina y controlada⁵.

METODOLOGÍA

Este es un estudio descriptivo de tipo documental. Se realizó una búsqueda biblio-

gráfica en diferentes bases de datos, como Science Direct, Science, Scielo y Springer-Link, a través de motores de búsqueda como Google Scholar, utilizando como palabras clave *Lactobacillus*, escalamiento, cinética de crecimiento de *Lactobacillus*, biorreactor, coeficiente de transferencia de oxígeno, requerimiento de potencia de un biorreactor, geometría del biorreactor, número de Reynolds y agitación. Se seleccionaron 55 artículos para la construcción de este trabajo, estos fueron seleccionados según la cantidad de información referida a algún tema de interés trabajado. Por la escasa información disponible sobre el tema de escalamiento, no se tuvo restricción en las fechas de publicación de los artículos.

RESULTADOS

INFLUENCIA DEL PH EN EL CRECIMIENTO DE BACTERIAS LÁCTICAS

Las BAL pueden crecer en un rango de pH de 3.2 a 9.6. La mayoría crece entre 4 y 4.5, permitiéndoles sobrevivir en medios donde otras bacterias no tolerarían la disminución del pH producido por los ácidos orgánicos⁶. Durante el crecimiento, los microorganismos modifican el pH del medio de cultivo, acidificándolos; por tal motivo, es necesario incluir en los medios sustancias tampón (o buffer) a fin de evitar que el pH se aleje del óptimo⁷.

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN EL CRECIMIENTO DE BACTERIAS LÁCTICAS

Los lactobacilos en su mayoría son mesófilos, con un límite superior de 40°C. Algunos crecen por debajo de 15°C y hay

cepas que crecen por debajo de 5°C. Otras clases de *Lactobacillus spp.* son capaces de crecer a temperaturas mucho más cercanas al punto de congelación, como los que habitan en carnes y pescados congelados. Los termófilos pueden llegar a tener un límite superior de temperatura de 55°C y no llegan a crecer por debajo de 15°C^{8,9,10}.

INFLUENCIA DEL OXÍGENO EN EL CRECIMIENTO DE BACTERIAS LÁCTICAS

La mayoría de las cepas de *Lactobacillus spp.* son aerotolerantes, alcanzando un crecimiento óptimo en condiciones microaerofílicas o anaeróbicas. Un incremento de la concentración de CO₂ del 5% al 10% es capaz de estimular su propio crecimiento¹².

Los lactobacilos pueden pasar de respiración aerobia a anaerobia. En condiciones aerobias generan proporciones variables de ácido acético y etanol por su dependencia al suministro de oxígeno. Mínimos cambios en el oxígeno ambiental pueden provocar alteraciones en los rendimientos de biomasa y productos de fermentación; un exceso de oxígeno puede llegar a ser tóxico. Durante el crecimiento aerobio en condiciones ambientales, las bacterias ácido lácticas pueden acumular cantidades significantes de oxígeno y/o peróxido de hidrógeno, el cual llegan a producir en altas concentraciones como derivado del metabolismo del oxígeno¹².

REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE LAS BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS

Las bacterias ácido lácticas requieren de fuentes de carbono, nitrógeno, minerales y factores de crecimiento para su desarrollo. La

mayoría de las especies necesitan vitaminas del grupo B (lactoflavina, biotina, tiamina, ácido nicotínico, ácido pantoténico y ácido fólico) y varios aminoácidos; además, son incapaces de usar carbohidratos complejos¹¹.

CONSIDERACIONES OPERACIONALES DURANTE EL PROCESO DE ESCALAMIENTO

Entre los principales criterios de operación de un biorreactor, se tienen en cuenta las siguientes variables: coeficiente de transferencia de oxígeno (KLa), requerimiento de potencia (P/V), número de Reynolds (Re), circulación de líquido (Q/V), la similitud geométrica del biorreactor y el tipo de turbinas¹³.

En escalamiento el mayor problema corresponde al suministro de oxígeno desde su fase gaseosa que depende del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno¹⁴. La agitación y transferencia de oxígeno son factores que influyen directamente en el crecimiento microbiano, permitiendo el acceso de los nutrientes al interior de los microorganismos y la homogenización de nutrientes y las células en el biorreactor¹³.

La agitación puede ser de varios tipos: mecánica, hidráulica o neumática. Esto es importante porque es necesario un equilibrio entre la buena homogeneización y la correcta forma de agregados bacterianos.

La transferencia de oxígeno (KLa) es afectada por las propiedades físicas del medio de cultivo, los parámetros geométricos del biorreactor, el sistema de operación y el tipo de microorganismo (Deckwer y Schumpe, 1993 citado por Buitrago, 2013)¹³. La tasa de crecimiento de los microorganismos aumenta cuando existe

una adecuada transferencia de oxígeno al medio. En microorganismos aerobios, altas concentraciones pueden producir daño celular y la muerte; en algunos casos, el exceso de oxígeno puede causar espuma en el proceso y esto justifica la adición de antiespumante al proceso, aunque en un alto porcentaje puede causar anaerobiosis total o parcial. Si se utiliza perfiles adecuados de oxígeno disuelto (OD) durante las fermentaciones, se favorece un incremento en la productividad del microorganismo¹⁵.

Para que el oxígeno pueda ser disuelto en el biorreactor, se necesita de una agitación que la proporciona la turbina. Algunas turbinas con aspas planas dan un flujo radial y representa una gran importancia debido a que permite dispersar el gas cuando es introducido justo por debajo del impulsor sobre el eje y es llevado hacia las aspas y se rompe en finas burbujas para permitir el paso del oxígeno al microorganismo¹⁶.

Los criterios empíricos de escalado como Número de Reynolds, (Re) y requerimientos de potencia (P/V), se basan en aproximaciones ideales para mantener un parámetro de operación constante en ambas escalas. El escalado con base al número de Reynolds se relaciona con que la magnitud relativa de los esfuerzos inerciales con respecto a los esfuerzos viscosos se mantiene constante en la escala¹⁷.

El criterio requerimiento de potencia, P/V se basa en tener constante el consumo de potencia por unidad de volumen de un proceso líquido-gaseoso debido a la agitación. P/V requiere de un mayor grado de agitación respecto de la velocidad requerida para mantener el criterio Re. Por

este motivo su desventaja radica en el alto consumo de potencia, ya que la velocidad en la punta del agitador se incrementa con la escala y, por lo tanto, el diseño de un motor de agitación a gran escala resulta poco práctico en los bioprocesos. Como consecuencia del incremento en la velocidad en la punta del agitador, el esfuerzo cortante puede causar daños en la morfología celular microbiana. Sin embargo, una agitación y aireación de manera efectiva de los fluidos presentes en un biorreactor promueven la dispersión de gases y tamaño de burbujas para la transferencia de masa¹⁷.

VARIABLES DE ESTUDIO EN CINÉTICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO

Los parámetros cinéticos de crecimiento microbiano son herramientas que permiten predecir el desarrollo de la fermentación y las productividades en los procesos. Entre los principales parámetros se encuentran la velocidad específica máxima de crecimiento (μ_{max}), definida como velocidad de crecimiento específico en función de ciertas variables como la temperatura y las concentraciones de sustrato, y el coeficiente de rendimiento de sustrato ($Y_{x/s}$) que representa la cantidad de biomasa que se genera a partir de una unidad de sustrato¹⁸. La velocidad específica de crecimiento disminuye si la temperatura óptima de crecimiento de un microorganismo va por encima del rango óptimo y puede ocurrir la muerte celular; en la mayoría de los procesos y estudios de crecimiento el objetivo principal es encontrar un rango que permita optimizar la producción de la biomasa sin causar daño¹⁸.

HERRAMIENTAS MATEMÁTICAS PARA ESTUDIOS DE CINÉTICA MICROBIANA

Se han encontrado diferentes modelos para explicar el crecimiento microbiano, se destacan el modelo de Monod, con el supuesto de que el crecimiento de biomasa y el consumo de sustrato son proporcionales a la concentración de la biomasa. El modelo de Monod se ha aplicado en el diseño de biorreactores para fines biotecnológicos, su principal objetivo es de encontrar un proceso de control que optimice el rendimiento de productos de interés en el proceso¹⁹.

El modelo de Gompertz, es un modelo de tres parámetros y el modelo de Gibson de cuatro parámetros, están basados en una relación exponencial entre la velocidad de crecimiento específico y la densidad de una población¹⁹.

De acuerdo con uso al que va a ser destinadas las bacterias acidolácticas a nivel industrial, se deben adecuar las condiciones de oxígeno para la producción de biomasa o el metabolito de interés, sacando provecho de la versatilidad en las rutas de generación de ATP que poseen este grupo de bacterias²⁰. *L. plantarum*, es una bacteria acidoláctica usada en la industria alimentaria por sus aportes organolépticos a los alimentos fermentados, los cuales están ligados a la producción de acetato y lactato, cuyas concentraciones dependen de la disponibilidad de oxígeno en el medio. Todo un complejo enzimático se despliega para poder generar energía en presencia o ausencia de oxígeno y permitir que la formación de sustancias tóxicas como H_2O_2 no afecte a las células²¹.

Quatravaux y colaboradores (2006), elucidaron el metabolismo aeróbico de *L. plantarum*, en biorreactores con diferentes condiciones de aireación, cuantificando la presencia de NADH, H_2O_2 , la actividad enzimática del piruvato oxidasa, lactato deshidrogenasa, NADH oxidasa y peroxidasa, las concentraciones de lactato y acetato presentes en el medio durante el cultivo²⁰. El resultado obtenido muestra que, con la aireación máxima usada, que corresponde al 50% OD de saturación, la conversión de lactato a acetato generó una acumulación tóxica de H_2O_2 . La piruvato oxidasa fue la enzima con mayor presencia en condiciones de altas tensiones de oxígeno, por lo que la acumulación de H_2O_2 está directamente relacionada con esta, así como la baja concentración de enzimas como la NADH oxidasa y NADH peroxidasa luego de 12 horas de cultivo. Esto muestra que controlar las condiciones de aireación durante el cultivo permite generar la actividad enzimática necesaria para evitar la acumulación de sustancias tóxicas en el medio aumentando la viabilidad y eficiencia de las bacterias ácido lácticas²⁰.

SUSTRATOS PARA EL CRECIMIENTO DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS (BAL)

La melaza de caña favorece el crecimiento de BAL por la presencia de componentes esenciales. Es un concentrado de carbohidratos, representando el 80% de su contenido de materia seca, con un contenido de aminoácidos y vitaminas del 33% y 25% respectivamente, y su contenido mineral oscila alrededor de 10%⁶. Ossa, Vanegas y Badillo (2010) evaluaron concentraciones de 5%, 10%, 20%, 25% y 30% de melaza sobre

el crecimiento de *Lactobacillus plantarum* y encontraron que a una concentración de 20 y 25% de melaza se logró incrementar 7 veces la biomasa inicial de esta cepas, pasando de valores de 10^2 UFC/ml a 10^9 UFC/ml en 24 horas. En las concentraciones de 5%, 10%, 30% se obtuvieron recuentos que oscilaron entre de 10^6 UFC/ml y 10^7 UFC/ml. A concentraciones de 30% esta cepa alcanza la fase estacionaria en menos de 24 horas²³.

El lactosuero es un medio complejo para la producción de bacterias lácticas, de acuerdo con los resultados del estudio de Aguirre-Ezkauriatza y colaboradores (2009), el lactosuero tiene una relación proteína/carbohidrato ligeramente menor a 0.5. El porcentaje de proteínas es 1.64%, el de grasas es 0.22% de carbohidratos de 0.45% y de fibra cruda de 93.68%²⁴.

El lactosuero puede ser dulce y ácido. El dulce proviene de la fabricación de quesos frescos obtenidos a partir de leche de vaca o cabra. El ácido es rico en calcio y fósforo, su pH es de aproximadamente 4,5 y proviene de la coagulación acidoláctica de la caseína de la leche²⁵. El dulce permite un óptimo crecimiento de *Lactobacillus rhamnosus*; a las 48 horas de fermentación, a 37°C, pH 5.5 y sin agitación alcanza valores de biomasa de 10.47Log_{10} UFC/MI²⁶. El lactosuero entero tiene un porcentaje de nitrógeno de 0.2%, el contenido de proteínas es de 1.28%, lactosa 43.5g/L y calcio 0.3g/L, con un pH de 0.57²⁷.

VELOCIDAD ESPECÍFICA MÁXIMO DE CRECIMIENTO

En un medio compuesto por sacarosa y sangre de res *Lactobacillus delbruekii*

bulgaricus tuvo una velocidad máxima de crecimiento de 0,068/h con un inóculo inicial del 1,0%. Se observa que a medida que aumenta la concentración del inóculo de *Lactobacillus delbruekii bulgaricus*, disminuye la concentración de sacarosa y aumenta la producción, de igual manera si disminuye la producción del inóculo, aumenta concentración de sacarosa y disminuye la producción de fermentación en el medio²⁸.

RENDIMIENTO BIOMASA SUSTRATO

Yáñez (2016) sus objetivos fue la evaluación de diferentes medios de cultivo y niveles de agitación para la obtención de biomasa. Utilizaron una cepa de *L. casei*, frente a lactosuero estático (LE), lactosuero en agitación (LA), melaza estática (ME) y melaza en agitación (MA), a cada una de las matrices formuladas, se adicionó 0,05% de inóculo (125 mg). Se observó que los tratamientos sometidos a agitación fueron los que obtuvieron mayor cantidad de biomasa. Así mismo se observó un 40% más de crecimiento en la melaza en comparación del lactosuero. Los medios estáticos presentaron un crecimiento menor del 77% comparado con las preparaciones agitadas. En relación con el rendimiento biomasa-sustrato, la cepa de *L. casei*, obtuvo un mejor rendimiento en el lactosuero en agitación (0,26 g.g-1)²⁹.

CONSIDERACIONES OPERACIONALES EN PROCESOS DE ESCALAMIENTO DE *Lactobacillus spp.*

Los criterios para el escalamiento se ven reflejados en el tamaño y la geometría del

biorreactor; el propósito del escalamiento es el diseño de las condiciones de operación que aseguren el efecto de las diferentes variables, lo que lleva al objetivo de obtener rendimientos o productividades similares entre las diferentes escalas. En la práctica se utilizan unos cuantos criterios para realizar el cambio de escala, basado en resultados empíricos.

Soler y Buitrago (2010) tenían como objetivo observar las diferencias entre el kLa generado por el uso de dos biorreactores con suministros de oxígeno y agitación diferentes. Se comparó un biorreactor convencional, que consiste en un fermentador agitado con dos turbinas Rushton y aireado por un difusor interno, frente a un biorreactor con sistema de fermentación con aireación externa (SFAE). El microorganismo seleccionado fue *Lactococcus lactis* y el medio de cultivo cuya fuente de carbono tenía sacarosa 30 g/L y extracto de levadura 20 g/L como fuente de nitrógeno¹³.

Para evaluar la hidrodinámica del SFAE se planteó un modelo factorial de efectos fijos el cual consiste en evaluar los factores flujo de recirculación (FR) y flujo de aire frente a tres covariables que serían presión manométrica del difusor (PA), agitación (A) y temperatura, es decir que se realizaran diferentes ensayos bajo las condiciones de flujo de aire, recirculación, agitación, presión y temperatura¹³.

Como resultado obtenido se encontró que *Lactococcus lactis* en el biorreactor convencional alcanzó mayores valores de biomasa con los parámetros de 1.75 vvm de aireación y 250 rpm de agitación. Se observó que la limitación de oxígeno persiste aún bajo

condiciones extremas donde el porcentaje de oxígeno disuelto llega a cero debido a que corresponde a la etapa inicial de la fase exponencial, es decir que no logra satisfacer la demanda de oxígeno. En el reactor SFAE se observó que la mayor biomasa producida es alcanzada bajo los parámetros de 0.87 CPM de flujo de recirculación y 0.65 vvm de flujo de aire con una presión de 14 psi¹³.

En cuanto al kLa el biorreactor SFAE obtuvo un valor de 63.18 (h-1) más alto que con el biorreactor convencional que alcanzó 40.68 (h-1) de kLa , mostrando que el SFAE es un sistema de alta transferencia de oxígeno lo cual eliminaría las limitantes presentadas a la hora de hacer grandes producciones con bacterias ácido lácticas como *L. lactis*¹³.

CONSIDERACIONES ECONÓMICAS

A nivel mundial, el lactosuero se ha convertido en un producto importante para la innovación y el crecimiento de la industria alimentaria y de bebidas, para la fabricación de productos con alto valor nutricional y funcional que ayuda a la alimentación de la población. Para Colombia influye en una oportunidad para el desarrollo del sector y para ampliar la base de consumo de derivados lácteos en el país³¹.

Según un comunicado argentino en el 2012 el precio de la tonelada se encuentra alrededor de 1000 dólares, precio que viene en aumento debido a los diferentes usos industriales que se le viene dando³⁰.

La melaza y el lactosuero dulce y ácido, al ser productos de desecho de las industrias azucareras y lácteas, pueden tener precios variantes que dependen directamente

de la producción y las necesidades de aprovechamiento de estas materias primas. No son productos de alto costo y normalmente se buscan alternativas de reutilización debido a la capacidad de contaminación, por lo que darles un uso en la industria alimentaria, mediante las transformaciones microbiológicas, es una alternativa económica y rentable tanto para los productores de la materia prima, así como de los demandantes de la misma¹⁴.

CONCLUSIONES

Las condiciones de aireación que favorecen el crecimiento de *Lactobacillus plantarum* son las que garantizan un 30% OD en el medio. Esto se puede lograr en biorreactores convencionales con parámetros de 1.75 VVM de aireación y 250 rpm de agitación. De acuerdo a lo observado estos parámetros pueden ser modificados teniendo en cuenta las características físicoquímicas del medio y los cambios durante el tiempo de cultivo.

Se determinó que algunas de las especies de *Lactobacillus* como *casei*, *rhamnosus*, *bulgaricus* tiene un crecimiento que se ve favorecido en sustratos como el lactosuero, y lactosuero clarificado, debido a que dentro de sus componentes tienen gran cantidad de micronutrientes y microelementos necesarios para el crecimiento de estas bacterias.

Los costos de la melaza dependen de la demanda y oferta del ingenio azucarero. De acuerdo a esto puede variar desde 49 dólares por tonelada hasta alrededor de 100 dólares por tonelada. En cuanto al lactosuero el precio de la tonelada a nivel internacional, se encuentra alrededor de 1000 dólares,

precio que viene en aumento debido a los diferentes usos industriales que se le viene dando.

Para realizar un proceso de escalamiento exitoso para *Lactobacillus* se deben tener en cuenta las características de crecimiento del *Lactobacillus* a escalar, es decir la temperatura (T), el pH del medio, que es cambiante durante según el tiempo que permanezca el microorganismo activo, debido a que el *Lactobacillus* produce ácido láctico el cual puede disminuir el pH, también el tipo de sustrato que se utilice, ya que *Lactobacillus sp.*

Los parámetros cinéticos y operacionales: los parámetros cinéticos básicos a tener en cuenta son la velocidad de crecimiento (μ_{Max}) y el rendimiento biomasa sustrato, este último de gran importancia, pues permite predecir cuanto crece el microorganismo en determinado sustrato. En cuanto a los parámetros operacionales, los requerimientos que necesita un biorreactor son la similitud de geometría del biorreactor, coeficiente de transferencia de oxígeno (kLa), requerimiento de potencia (P/V), circulación de líquido (Q/V) y Número de Reynolds, el cual define la viscosidad del medio, cada uno de ellos es de gran importancia para un eficiente funcionamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Departamento Nacional de Planeación (DNP). Política para el desarrollo comercial de la biotecnología a partir del uso sostenible de la biodiversidad. (Internet); 2011. Disponible en: <http://repositorio.colciencias.gov.co/handle/11146/231> (Acceso 24 de abril de 2018)

2. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Política nacional para mejorar la competitividad del sector lácteo colombiano: CONPES 3675. (Internet); 2010. Disponible en: <https://www.minagricultura.gov.co/ministerio/direcciones/Documents/d.angie/Informe%20de%20avance.pdf> (Acceso 24 de abril de 2018)
3. Bailey JE, Ollis DF. Biochemical engineering fundamentals. (Internet) 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 1986. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Salah_N_Farhan/post/What_the_right_protocol_of_DNSA_for_total_cellulase_activity/attachment/59d6375079197b8077994ac5/AS%3A392509617393664%401470592993114/download/Fundamentals_of_Biochemical_Engineer_Books123.me.pdf (Acceso 24 de abril de 2018)
4. Young-Jung W, Hyang-Ok K, Jong-Sun Y, Hwa-Won R. Pilot-Scale Lactic Acid Production via Batch Culturing of *Lactobacillus sp.* RKY2 Using Corn Steep Liquor As a Nitrogen Source. (Internet) Food Technology and Biotechnoly; 2006. 44(2): 293–298. Disponible en: https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id_clanak_jezik=162012 (Acceso 25 Abril de 2018)
5. Ruiz A, Álvarez H. Escalamiento de Procesos Químicos y Bioquímicos basado en un Modelo Fenomenológico (Internet) Información Tecnológica; 2011. 22(6): 33-52. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642011000600005 (Acceso 25 abril 2018)
6. Fajardo E, Sarmiento S. Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*. (Tesis) (Internet). Pontificia Universidad Javeriana; 2007. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis26.pdf> (Acceso 25 de abril de 2018)
7. Ertola R, Yantorno O, Mignone C. Microbiología Industrial. (Internet) Departamento de Educación, Cultura, Ciencia y Tecnología. Organización de los Estados Americanos; 2006. Disponible en: http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/favela/Microbiologia_Industrial_Libro.pdf (Acceso: 26 de abril de 2018)
8. Villavicencio L. Viabilidad de *Lactobacillus casei* Shirota y *Lactobacillus rhamnosus* en Jugo de Cranberry (Tesis) (Internet). Universidad Austral de Chile; 2006. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2006/fav727v/doc/fav727v.pdf> (Acceso 27 de abril de 2018)
9. Park S, Lim S. Probiotic Characteristics of *Lactobacillus plantarum* FH185 Isolated from Human Feces. (Internet) Korean Journal for Food Science of Animal Resources; 2015. 35(5): 615-621. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4670890/> (Acceso 27 de abril de 2018)
10. Velásquez J, Giraldo G, Padilla L, Mercedes Y. Crecimiento de *Lactobacillus casei ssp casei* ATCC 393 en suero clarificado. (Internet) Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial; 13(1): 19-27. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v13n1/v13n1a03.pdf> (Acceso 1 de mayo de 2018)
11. Parra R. Bacterias acidolácticas: papel funcional en los alimentos. (Internet) Facul-

tad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia; 2010. 8(1): 94 – 105. Disponible en línea. <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v8n1/v8n1a12.pdf> (Acceso 1 de mayo de 2018)

12. Amanatidou A, Bennik MH, Gorris LG, Smid EJ. Superoxide dismutase plays an important role in the survival of *Lactobacillus sake* upon exposure to elevated oxygen. (Internet) Archives Of Microbiology; 2001. 176(1-2): 79-88. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11479706> (Acceso 1 de mayo de 2018)

13. Buitrago H, Otálvaro A, Angela M., Duarte B. Evaluación de la transferencia de oxígeno en cultivos con *Lactococcus lactis* empleando un sistema de fermentación con aireación externa. (Internet) Revista Colombiana de Biotecnología; 2010. 12(2): 124-138. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/18554/38207> (Acceso 1 de mayo de 2018)

14. Arango A. Escalamiento del proceso de producción de un insecticida biológico a escala piloto para la empresa productos naturales de La Sabana S.A., Alquería (Internet) Universidad Eafit; 2007. Disponible en: https://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/346/AnaLucia_LlanoArango_2007.pdf?sequence=1 (Acceso 2 de mayo de 2018)

15. Amicarelli A, Toibero J, Quintero O, di Sciascio F, Carelli R. Estrategias De Control De Oxígeno Disuelto Aplicadas A La Fermentación Batch De Bt. (Internet) Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/255704573_Estrategias_de_Control_de_Oxigeno_Disuelto_Aplicadas_a_la_Fermentacion_Batch_de_Bt (Acceso 2 de mayo de 2018)

16. Instrumentación.,T.(n.d.). Tecnología e Instrumentación. (Internet) Disponible en: <http://biotecnologiaequipo5.blogspot.com.co/p/unidad-2-tecnologia-e-instrumentacion.html> (Acceso 2 de mayo de 2018)

17. Gelves R, Benavides A, Quintero J Predicción del comportamiento hidrodinámico en el escalado de un reactor de tanque agitado para procesos aerobios, mediante CFD. (Internet) Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-33052013000300005 (Acceso 2 de mayo de 2018)

18. Arana I, Orruño M, Barcina I: Cálculo de los parámetros que definen el crecimiento microbiano. Editorial Departamento Inmunología, Microbiología y Parasitología. Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea. (Internet) Disponible en: https://ocw.ehu.es/file.php/48/Tema_4._calculo_de_los_parametros_que_definen_el_crecimiento_bacteriano.pdf (Acceso 2 de mayo de 2018)

19. Castro G, Valbuna E, Sanchez E, Briñez W, Vera H, y Leal M. Comparación de modelos sigmoidales aplicados al crecimiento de *Lactococcus lactis subsp. Lactis*. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XVIII, Nº 5, 582 - 588, 2008. (Internet) Disponible en: https://www.academia.edu/4353146/comparaci%C3%93N_de_modelos_sigmoidales_aplicados_al_crecimiento_de_Lactococcus_lactis_subsp._lactis._Comparison_of_Sigmoid_Models_Applied_to_the_Grow

th_of_*Lactococcus lactis subsp. lactis*
(Acceso 2 de mayo de 2018)

20. Quatravaux S, Remize F, Bryckaert E, Colavizza E, Guzzo J, Examination of *Lactobacillus plantarum* lactate metabolism side effects in relation to the modulation of aeration parameters Applied. Journal Of Microbiology; 101(4): 903-912. (Internet) Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16968302> (Acceso 2 de mayo de 2018)

21. Quiminet. Listado de precios Aloe Vera. (Internet) Disponible en: <https://www.quiminet.com/productos/gel-aloe-vera-3714653001/precios.htm>. (Acceso 2 de mayo de 2018)

22. Elmarzugi N, El Enshasy, H Abd, Malek R; Othman, N; Sarmidi, M. R., & Aziz, R. Optimization of cell mass production of the probiotic strain *Lactococcus lactis* in batch and fed-bach culture in pilot scale levels. (Internet) Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology (*Vilas, AM-Ed.*); 2010. 873-879. Disponible en: <http://formatex.info/microbiology2/873-879.pdf> (Acceso 2 de mayo de 2018)

23. Ossa J, Venegas M, Badillo A. Evaluación de la melaza de caña como Sustrato para el crecimiento de *Lactobacillus plantarum*. (Internet) Rev. U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica; 2010. 13(1): 97-104. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v13n1/v13n1a11.pdf> (Acceso 2 de mayo de 2018)

24. Aguirre E, Ramírez A, Aguilar & Álvarez M. Producción de proteína y biomasa

probiótica de *Lactobacillus casei* liofilizadas a partir de suero de leche de cabra. (Internet) Revista mexicana de ingeniería química; 2007. 8(1), 67-76. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382009000100007 (Acceso 2 de mayo de 2018)

25. Callejas J, Prieto F, Reyes V, Marmolejo Y, Méndez M. Caracterización fisicoquímica de un lactosuero: potencialidad de recuperación de fósforo Guanajuato. (Internet); 2012. 28(3). Disponible en: <http://www.acuedi.org/ddata/1680.pdf> (Acceso 2 de mayo de 2018)

26. Pimentel D, Caro I, Meza A, Vermon E. Crecimiento de la bacteria probiotica *L. Rhamnosusen* lactosuero dulce. (Internet) XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Disponible en: http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area_III/Carteles/CIII-30.pdf (Acceso 2 de mayo de 2018)

27. Krzywonos M, Eberhard T. High density process to cultivate *Lactobacillus plantarum* biomass using wheat stillage and sugar beet molasses. (Internet) Electronic Journal of Biotechnology; 2011. 14(2):6-6. Disponible en: <http://www.ejbiotechnology.info/index.php/ejbiotechnology/article/view/v14n2-10/1287> (Acceso 2 de mayo de 2018)

28. Pérez H, Hernández A: Evaluación de sustratos con jugo de aloe vera para el crecimiento de *Lactobacillus plantarum*. (Internet); 2015. 35(2) Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852015000200003 (Acceso 2 de mayo de 2018)

29. González B, Domínguez-Espinosa R, Alcocer B, Aloe vera como sustrato para el crecimiento de *Lactobacillus plantarum* y *L. casei*. (Internet) Ciencia y Tecnología Alimentaria. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=72411971009>. (Acceso 2 de mayo de 2018)

30. Vargas E, Gómez C, Parra M, Romero M. Producción de Microorganismos probióticos como aditivo para alimentos concentrados para ganado vacuno. (Internet)

Universidad de los Andes. Disponible en: <https://ojsrevistaing.uniandes.edu.co/ojs/index.php/revista/article/view/451> (Acceso 2 de mayo de 2018)

31. Yáñez G. Uso de distintos sustratos para el desarrollo de biomasa. (Internet) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2016. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/5788/1/27T0301.pdf> (Acceso 2 de mayo de 2018)