

Estrategias y desafíos en el escalamiento de bioprocesos.

Caicedo Álvarez Juan David^a, y Acosta Zamora Edison Andrés^b

^a Estudiante de Ingeniería Bioquímica. Universidad ICESI.

^b Profesor del departamento de Ingeniería Bioquímica. Universidad ICESI.

Resumen

En los últimos años, el mercado de microorganismos y compuestos generados por estos ha ido creciendo de manera importante. Sin embargo, el aumento en su producción se ve limitado por las problemáticas que se generan al escalar el proceso, provocando que muy pocas veces se logre obtener rendimientos iguales o mayores en la nueva escala. En este trabajo se realizó una investigación bibliográfica para compilar las estrategias empleadas en el escalamiento de bioprocesos y analizar las posibles problemáticas que se generan en la aplicación de esta teoría. Para esto, se realizó una revisión sistemática de literatura a partir de la búsqueda de información, organización y sistematización de documentos y análisis de artículos. Al emplear la anterior metodología se obtuvo como resultado que, el criterio de escalado más usado en los bioprocesos es el coeficiente de transferencia de masa (kLa) en fermentaciones aerobias, seguido de la relación entre la potencia de gaseado por unidad de volumen. Adicionalmente, la mayor parte de los problemas alrededor del escalado encontrados en la revisión están relacionados con la mecánica y dinámica de los fluidos, donde particularmente el aumento en la tensión de cizallamiento es uno de los más comunes. Finalmente, con este trabajo se concluye que las estrategias empleadas en el escalamiento parten del principio de similitud entre dos sistemas, donde las más aplicadas se basan en el uso de números adimensionales y modelos matemáticos.

1. Introducción.

Actualmente, existe una gran demanda tanto de microorganismos como de compuestos generados por estos, según la Business Communications Company (BCC) se espera que su mercado mundial alcance los 302.4 mil millones de dólares para el 2023 (Microbial Products, 2015). Sin embargo, uno de los mayores problemas es generar estos compuestos o agentes de transformación en mayores concentraciones y volúmenes, ya que gran parte de los rendimientos obtenidos a escala de laboratorio no siempre se logran obtener a escala industrial. Para pasar de un nivel al otro, existe un término que es determinante, el “escalamiento”.

Según Bisio y Kabel (1986) el escalamiento es la “operación y puesta en marcha de manera exitosa de una unidad de tamaño comercial cuyo diseño y procedimientos de operación se basan, en parte, en experimentación y demostración a una escala más pequeña de operación”. Sin embargo, esta definición luego se verá reestructurada por otros autores como Kossen (1996), que plantean que el escalamiento no solo consiste en un aumento de escala, sino también en partir desde una unidad comercial a una de menor dimensión. Finalmente, una última definición al término de “escalado” es dada por Álvarez (2010) y dice que es el proceso mediante el cual se lleva a cabo el desarrollo de los criterios y las reglas de asignación numérica que determinan las unidades de medida para llevar de un tamaño dado a otro de tamaño menor o mayor una operación o un objeto.

Las estrategias más usadas para realizar el proceso de escalamiento se basan en los métodos de similitud, ya sea por medio de modelos y métodos con números adimensionales, y la aplicación de cada uno depende de las características y finalidad del proceso. Las estrategias basadas en los métodos de similitud consisten en una serie de relaciones generadas entre dos o más sistemas en cuanto a parámetros ligados con su forma o características físicas. Los métodos de números adimensionales parten del análisis dimensional de los sistemas, donde se busca que todos los términos del modelo matemático de un proceso tengan exactamente las

mismas dimensiones para que este sea válido en cualquier sistema de dimensiones (Ruiz Colorado, 2009). Por último, los métodos por medio de modelos consisten en obtener un modelo que genere un completo entendimiento del desarrollo del proceso, para que sea confiable al escalar. En este se busca generar relaciones que incluyan números adimensionales que sirvan para construir un modelo matemático reflejado en una fórmula o ecuación.

Un ejemplo reportado recientemente del uso de esta teoría del escalado ocurrió en el 2018, donde Espinosa y colaboradores se basaron en relaciones entre números adimensionales, logrando aumentar la producción volumétrica de una proteína recombinante 1.9 veces de 284 mg/L a 546 mg/L obtenida a partir de una cepa de *Escherichia coli* (Espinosa Pérez, y otros, 2018). Sin embargo, diversos estudios manifiestan que la aplicación de esta técnica sigue siendo un reto, por las diversas problemáticas que se generan, una de ellas es que cuando se realiza el cambio de una escala a la otra, en esta adquieren importancia fenómenos que no eran relevantes en la escala inicial (Ruiz Colorado, 2009). Por lo que, el objetivo de este proyecto es, mediante la revisión sistemática de literatura lograr compilar las estrategias que se pueden aplicar para el escalamiento de bioprocesos y analizar las posibles problemáticas que se generan aplicando esta teoría.

2. Metodología.

2.1. Revisión sistemática de literatura

El proceso de revisión de literatura se dio a través de: la búsqueda de información, organización y sistematización de documentos y análisis de artículos (Salas, 2019). Para realizar estas fases se tuvieron en cuenta libros, tesis y artículos de investigación, reportados en las bases de datos de la Universidad Icesi y Universidad del Valle, como Science Direct, Springer, EBSCO eBook, y Scopus. Luego se procedió a realizar el algoritmo que se muestra en la Ilustración 1:

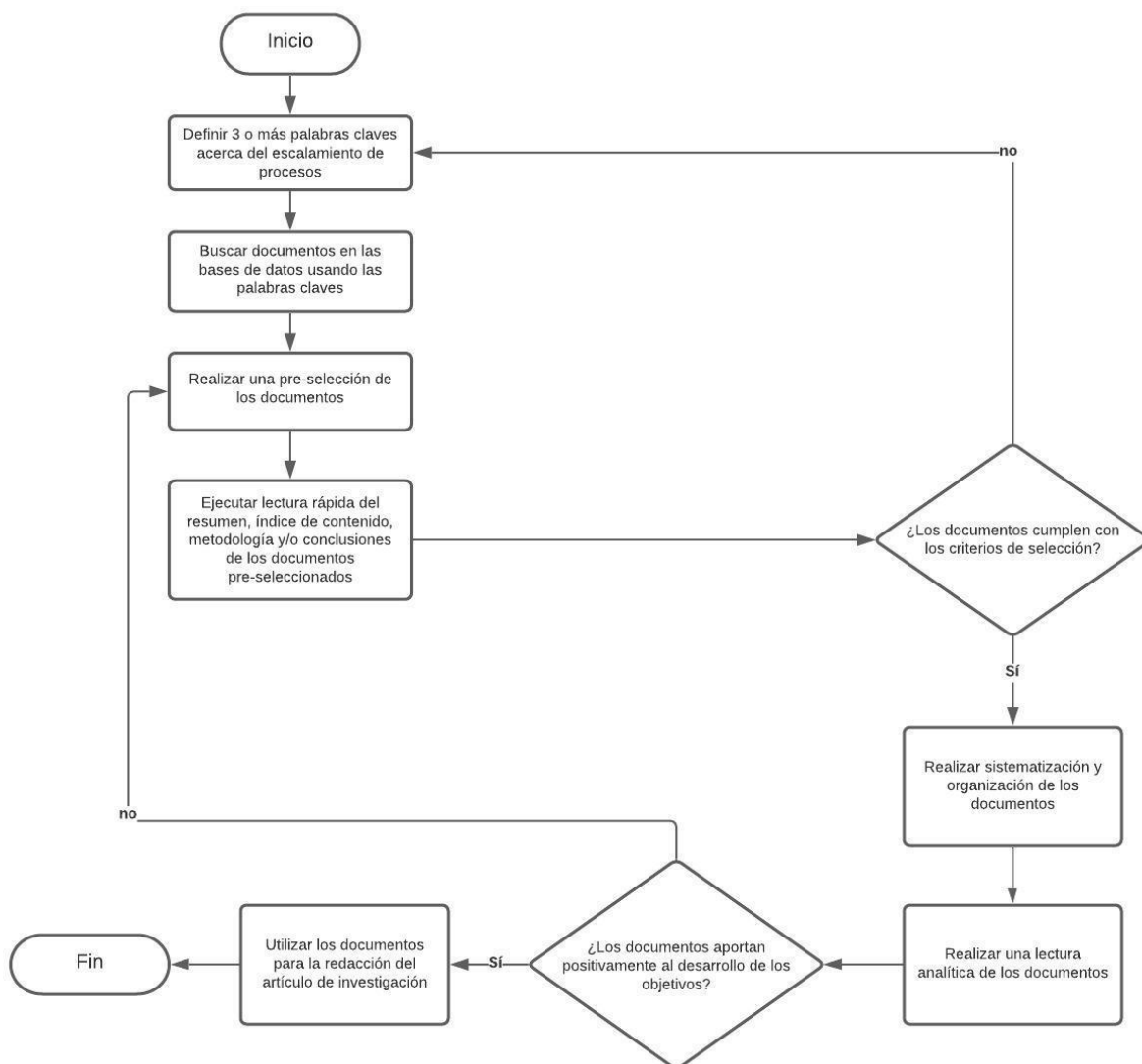


Ilustración 1 Algoritmo empleado para la revisión sistemática de literatura; donde las palabras claves fueron Scale-up, Scale-down, Fermentation, Bioprocess y Criteria. El algoritmo se aplicó hasta obtener un mínimo de 30 documentos base seleccionados.

Los criterios de selección de los documentos fueron:

- Especificación de la estrategia usada para el escalado
- Criterios usados para llevar a cabo el escalamiento
- Escalado realizado en un bioproceso
- Variables de respuesta que reflejen el resultado del escalado
- Explicación de una o varias estrategias de escalado
- Estrategias de escalado presentes en el índice de contenido
- Definiciones teóricas del escalamiento

Por otra parte, los criterios de rechazo de los documentos fueron:

- No existe especificación de la estrategia usada para el escalado
- Solo se menciona que se escaló, pero no se entra en detalle
- No se muestran resultados del escalado o variables de respuesta
- No hay estrategias de escalado presentes en el índice de contenido
- No hay explicación o definiciones de al menos una estrategia de escalado

Cabe resaltar, que 5 artículos que presentaban algunos de los criterios de rechazo, se terminaron seleccionando con el fin de ejemplificar los casos de “documentos que no presentan una descripción detallada del escalado del proceso”.

Después de la fase de búsqueda de información se procedió a realizar el proceso de organización y sistematización de esta, mediante la creación de una matriz en Excel, que presentaba elementos como: resumen, índice de contenido, estrategia(s) de escalamiento, definición del escalamiento, secuencia de pasos realizados en el documento referentes al escalado, posibles desafíos generados, variables escaladas, resultados significativos, conclusiones y referencia bibliográfica, y dependiendo de las características del documento se procedió a rellenar los correspondientes campos de la matriz.

Finalmente, en el proceso de análisis de los documentos seleccionados se procedió primero a identificar y entender el fundamento de las estrategias más usadas a la hora de escalar, segundo interpretar si la aplicación de estos métodos logró conllevar a un resultado positivo o negativo en la investigación y, por último, si el resultado fue negativo distinguir cuales fueron las posibles causas y problemas que acarrearón a esa consecuencia.

3. Estado Actual del escalamiento.

3.1. Antecedentes.

En las últimas décadas, se han realizado diversos estudios centrados en el diseño y escalado de bioprocesos, esto con el fin de mejorar las condiciones de operación y/o aumentar la generación de productos, entendiéndose como productos, toda clase de compuestos obtenidos por agentes de transformación que presenten un valor agregado.

Algunos de los antecedentes encontrados en la revisión de literatura nos muestran que hay artículos que presentan una descripción sólida de la estrategia de escalado y otros que no tienen información más allá de lo que sucede. Un ejemplo del primer caso ocurre con el trabajo de Wei (2016) en el que se escaló la fermentación para la producción de un glucósido llamado alfa-arbutina, donde realizaron una ampliación en los volúmenes de producción de 100 veces, pasando de un reactor de 30 litros a uno de 3000 litros. Los autores emplearon 2 criterios para el escalamiento, los cuales fueron mantener constante el coeficiente de transferencia de oxígeno (kLa) y la tasa de aireación volumétrica por unidad de volumen (Q/V), mediante esta técnica lograron obtener un rendimiento de producto a partir de volumen de sustrato, en el fermentador de 3000L, de 38,2 g/L, con el cual se pudo concluir que el método aplicado fue eficiente y es altamente reproducible para la generación estable de alfa-arbutina a una escala mayor (íbid).

Por otro lado, en Santiago de Cuba Losada y colaboradores escalaron la fermentación Fed-Batch usada para la producción de estreptoquinasa recombinante, pasando desde una escala banco de 7L a una industrial de 300L. Los investigadores obtuvieron como resultado principal un incremento del doble en la producción de biomasa y una disminución del costo del medio de fermentación del 63%. En dicho estudio se emplearon como criterios de escalado la relación flujo de aire/volumen de líquido, el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno y relaciones entre los volúmenes del medio fermentativo e inóculo (Losada N, et. al, 2017).

Finalmente, en el 2020 Paladino y Neviani mediante un estudio de la aplicación del teorema pi de Buckingham en el crecimiento de microalgas en reactores PBR y STR, lograron además de escalar el proceso desde un volumen de 0,5 litros a uno de 10 litros, proporcionar una serie de números y relaciones adimensionales prometedoras para el cultivo de microalgas, entre las cuales se encuentran el número de Sherwood, Damköhler, Reynolds, entre otros (Paladino & Neviani, 2020).

Así como estas investigaciones, en la Tabla 1 se presentan de manera sintetizada otros trabajos que han sido realizados en los últimos 20 años, donde, como se mencionó al principio, algunas presentan una descripción detallada del proceso de escalado mientras que otras no precisan en este.

Tabla 1 Aspectos relevantes de documentos enfocados en el escalamiento de bioprocesos.

Año de publicación	Título del documento	Aspectos relevantes alrededor del escalado	Referencia bibliográfica
2003	Fermentation scale up for production of antigen K88 expressed in <i>Escherichia coli</i>	Se escaló la fermentación para la producción del antígeno K88 pasando de un volumen de 5 litros a uno de 50 litros, utilizando como criterio de escalado el kLa constante y la relación de flujo de aire volumétrico por unidad de volumen constante.	[51]
2004	Scale-Up Methodologies for <i>Escherichia coli</i> and Yeast Fermentation Processes	Se escaló el proceso de fermentación de <i>Escherichia coli</i> y levadura desde un volumen de 280 litros a uno de 19000 litros mediante criterios de similitud geométrica, velocidad de la punta del agitador, potencia gaseada por unidad de volumen y tiempo de mezcla.	[5]
2005	Escalado de la fermentación de la cepa c-924 <i>Corynebacterium paurometabolum</i> empleando el criterio de las semejanzas.	Se escaló la fermentación de la cepa C-924 <i>Corynebacterium p.</i> pasando de un volumen de 5 a 200 Litros, usando como criterios de escalado el coeficiente de transferencia de oxígeno (Kla) constante, potencia de gaseado por unidad de volumen (Pg/V) constante y potencia de agitación por unidad de volumen (P/V) constante.	[33]
2006	From shake flasks to stirred fermentors: Scale-up of an extractive fermentation process for 6-pentyl-a-pyrone production by <i>Trichoderma harzianum</i> using volumetric power input	Se escaló la fermentación para la producción de 6-pentil- α -pirona pasando de matraces agitados de 500 mililitros a biorreactores de tanque agitado de 10 litros, usando como criterios de escalado la potencia por unidad de volumen constante.	[40]
2007	Evaluación y escalamiento de la producción de levaduras nativas tipo <i>Saccharomyces spp.</i> A nivel de laboratorio.	Se escalo la fermentación de <i>Saccharomyces spp.</i> Desde un volumen de 2 litros a uno de 100 litros utilizando como único criterio de escalado el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno kLa.	[10]
2008	Scale-up fermentation of recombinant <i>Candida rugosa</i> lipase expressed in <i>Pichia pastoris</i> using the GAP promoter	Se escaló la fermentación para la producción de lipasas pasando de un volumen de 5 litros a uno de 800 litros. No se especifica el criterio de escalado.	[52]
2009	Escalado de la producción industrial de levadura de panificación usando dos reactores modelo y un biorreactor prototipo	Se escaló la fermentación para la producción de levadura de panificación empleando la similitud geométrica, la potencia por unidad de volumen y el coeficiente de transferencia de oxígeno, pasando de un reactor de 2 litros a uno de 14 y 150 litros.	[15]
2009	Isolation of a novel high erythritol-producing <i>Pseudozyma tsukubaensis</i> and scale-up of erythritol fermentation to industrial level	Se escaló la fermentación para la producción de eritritol desde un fermentador de 7 litros a uno de 300 y 50000 litros, utilizando el oxígeno disuelto como parámetro de escalado.	[18]
2009	Scale-up fermentation of echinocandin type antibiotic FR901379	Se escaló la fermentación para la producción del antibiótico lipopéptido FR901379 pasando de un volumen de 0,03 m ³ a	[20]

		uno de 4 y 5 m ³ , empleando como índice para el escalado el coeficiente de transferencia de masa kLa.	
2011	Scale-up study on the fed-batch fermentation of <i>Ganoderma lucidum</i> for the hyperproduction of ganoderic acid and <i>Ganoderma polysaccharides</i>	Se escaló la fermentación del hongo medicinal <i>Ganoderma lucidum</i> desde un matraz agitado a biorreactores STR de 7.5, 20 y 200 litros. Desarrollando un criterio de escalado combinando el cambio del pH, el cambio del DOT y una disminución en la estrés de cizallamiento.	[46]
2011	Escalado de la reacción de biosíntesis de fructooligosacáridos, a partir de sacarosa, un biorreactores tipo tanque agitado	Se escaló la fermentación para la obtención de fructooligosacáridos pasando de un volumen de 5 a uno de 10 litros, utilizando como criterios de escalado la velocidad de punta de impulsor y la potencia volumétrica por unidad de volumen constante.	[39]
2011	Scale-up of Aerobic Stirred Bioreactors Using the Mixing Time Criteria 1. Simulated Broths	Se llevo a cabo el análisis del escalado de un biorreactor aeróbico agitador de 4 litros de volumen de trabajo a uno de 40 litros usando como criterio de escalado el tiempo de mezcla.	[7]
2011	Ethanol production from sweet sorghum juice under very high gravity conditions: Batch, repeated - batch and scale up fermentation	Se escaló la fermentación para la producción de etanol a partir de jugo de sorgo dulce pasando de un Erlenmeyer de 500 mL a biorreactores de 5 y 50 litros. No es claro el criterio de escalado empleado.	[34]
2012	Development of a scaled-down aerobic fermentation model for scale-up in recombinant protein vaccine manufacturing	Se escaló la fermentación para la producción de proteínas recombinantes pasando de un volumen de 2 litros a uno de 20 y 200 litros, usando como criterio de escalado el coeficiente de transferencia de masa de oxígeno volumétrico constante (kLa).	[13]
2013	Factores de escala para la producción biotecnológica de etanol carburante	Se presento una propuesta metodológica para el escalado basada en el Modelo Semifísico de Base Fenomenológica (MSBF) del proceso y se aplicó a un reactor de tanque agitado operando en continuo, un intercambiador de calor y un fermentador en continuo para la producción de etanol de un jarabe glucosado.	[41]
2015	Model-based scale-up methodology for aerobic fed-batch bioprocesses: application to polyhydroxybutyrate (PHB) production	Se escaló la fermentación para la producción de polihidroxibutirato usando un criterio de escalado basado en el modelo del proceso, a su vez empleando el coeficiente de transferencia volumétrica de oxígeno constante.	[30]
2016	Fermentation scale up for α -arbutin production by <i>Xanthomonas</i> BT-112	Se escaló la fermentación para la producción de α -arbutina desde un fermentador de 30 Litros a uno de 3000 Litros, utilizando como criterios de escalado el kLa y la tasa de aireación volumétrica por unidad de volumen constantes, obteniéndose un rendimiento de producto a partir de sustrato en la escala final de 38,2 g/L.	[49]
2016	Escalado y dimensionamiento de una planta piloto para la producción de un extracto acuoso de <i>Chuquiraga jussieui</i>	Se realizó el dimensionamiento y escalado de la operación de extracción sólido-líquido para la producción de un extracto acuoso, usando como criterios de escalado la similitud geométrica y la potencia por unidad de volumen constante.	[9]
2016	Escalamiento del proceso de obtención de fructooligosacáridos a partir de jugo de caña mediante síntesis enzimática con células permeabilizadas de <i>Candida apicola</i>	Se escaló el proceso de obtención de fructooligosacáridos, empleando un método empírico-híbrido basado en las similitudes mecánica, térmica y química.	[31]
2016	Characteristics of scale-up fermentation of mixed methane-oxidizing bacteria	Se escaló la fermentación de bacterias oxidantes de metano pasando desde un fermentador de 5 litros a uno de 100 litros y finalmente a uno de 600 litros. No es claro el criterio de escalado usado.	[19]
2017	Scale-up agitation criteria for <i>Trichoderma reesei</i> fermentation	Se escaló la fermentación del hongo <i>Trichoderma reesei</i> , utilizando como criterios de escalado la velocidad de punta del impulsor (Vtip), el consumo de energía por unidad de volumen (P/V) y la tasa máxima de disipación de energía específica (EDCFemax).	[16]
2017	Escalado de la fermentación incrementada en la producción de estreptoquinasa recombinante	Se escaló la fermentación de estreptoquinasa recombinante, desde la escala banco a un fermentador de 300 litros, utilizando como criterios de escalado el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno, la relación flujo de aire volumen de líquido y relaciones entre los volúmenes del medio fermentativo e inóculo.	[27]
2017	Evaluación del escalamiento de la producción de polihidroxialcanoatos (PHA) por fermentación a partir de la bacteria mutante <i>Burkholderia cepacia</i> b27 a nivel semi-industrial	Se escalo la fermentación para la producción de PHA pasando de un volumen de 7 litros a uno de 100 y 2000 Litros, utilizando como criterio de escalado el coeficiente de transferencia de oxígeno kLa.	[3]
2017	Enzymatic extraction of pectin from passion fruit peel (<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>) at laboratory and bench scale	Se escaló el proceso de extracción enzimática de pectina desde un matraz hasta un biorreactor de tanque agitado de 7 litros, usando como criterios de escalado el número de Reynolds o Froude.	[47]

2017	High Throughput Automated Microbial Bioreactor System Used for Clone Selection and Rapid Scale-down Process Optimization	Se escaló la fermentación de <i>Escherichia coli</i> pasando de un microbioreactor ambr 15f a biorreactores agitados de 1 y 20 litros, usando como criterio de escalado la potencia por unidad de volumen	[48]
2017	Optimization studies to develop a low-cost medium for production of the lipases of <i>Rhizopus microsporus</i> by solid-state fermentation and scale-up of the process to a pilot packed-bed bioreactor	Se escaló la fermentación en estado sólido para la producción de lipasa pasando de un biorreactor de columna a uno de lecho empacado. No se especifica volúmenes ni criterios de escalado.	[35]
2018	Scaling-up fermentation of <i>Escherichia coli</i> for production of recombinant P64k protein from <i>Neisseria meningitidis</i>	Se evaluaron criterios de escalado tales como Número de Reynold, Velocidad de punta del impulsor, Consumo de energía por unidad de volumen de líquido y Coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno para el proceso fermentativo de la proteína P64k recombinante a escala piloto. Obteniéndose la mayor producción de proteína mediante kLa constante.	[11]
2018	Balsamic type varietal vinegar from cv. Xinomavro (Northern Greece). Optimization and scale-up of the alcoholic fermentation step using indigenous multistarters	Se escaló la fermentación alcohólica del mosto de uva concentrado usando cepas de <i>Hanseniaspora uvarum</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , pasando de matraces de 100 ml a reactores de 12 litros. No se especifica al criterio empleado para el escalado.	[25]
2019	Dextranase production by recombinant <i>Pichia pastoris</i> under operational volumetric mass transfer coefficient (kLa) and volumetric gassed power input (Pg/V) attainable at commercial large scale	Se escaló la producción de dextranasa recombinante usando como criterios de escalado el coeficiente de transferencia de masa volumétrica (kLa) y la entrada de potencia gaseosa volumétrica (Pg/V), pasando de un volumen de 2 litros a uno de 30 litros.	[32]
2020	Scale-up of photo-bioreactors for microalgae cultivation by π -theorem	Se escaló el proceso de fermentación de microalgas desde un volumen de 0,5L a uno de 10L, proporcionando una serie de números y relaciones adimensionales prometedores, entre los cuales están el número de Sherwood, Damköhler, Reynolds, entre otros.	[38]
2020	Productivity and scale-up of poly(3-hydroxybutyrate) production under different oxygen transfer conditions in cultures of <i>Azotobacter vinelandii</i>	Se escaló la producción de poli(3-hidroxibutirato) por <i>Azotobacter vinelandii</i> pasando de un volumen de 3 litros a uno de 30 litros, usando como criterio de escalado la tasa de transferencia de oxígeno (OTR).	[37]
2021	Scale-up fermentation of <i>Escherichia coli</i> for the production of recombinant endoglucanase from <i>Clostridium thermocellum</i>	Se escaló la fermentación de <i>Escherichia coli</i> para la producción de endoglucanasa. No se especifica criterios usados ni volúmenes.	[44]
2021	Single-step ethanol production from raw cassava starch using a combination of raw starch hydrolysis and fermentation, scale up from 5-L laboratory and 200-L pilot plant to 3000-L industrial fermenters	Se escaló la fermentación para la producción de etanol pasando de un fermentador de 5 litros a uno de 200 litros y finalmente a uno de 3000 litros. No se especifica los criterios empleados.	[24]

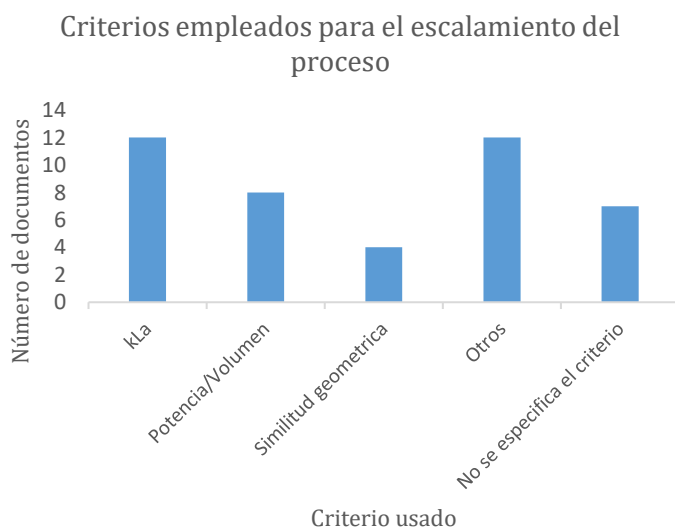


Ilustración 2 Criterios de escalado empleados en los documentos de la Tabla 1.

Como se observa en la tabla 1 y la ilustración 2, de los 33 documentos recopilados, 12 de ellos aplicaron la similitud entre dos sistemas usando el modelado del coeficiente de transferencia de masa (kLa), manteniéndolo constante en las dos escalas. Otro dato importante es que en solo tres de ellos se realizó el diseño del equipo a la escala nueva, logrando interpretar que, en gran parte de los procesos de escalado, se opta por implementar un equipo estándar y no a realizar previamente un diseño estricto de este.

3.2. Escalamiento, régimen y punto de operación.

Diferentes autores han brindado definiciones del escalamiento, siendo las de Bisio, Kabel, Kossen y Alvarez las más significativas. Con base en esas definiciones, en el presente artículo se sugiere la siguiente: “el escalamiento de procesos químicos y bioquímicos es el procedimiento metodológico que se debe aplicar a un sistema con el fin de analizar y determinar los criterios que permiten hallar parámetros de diseño y/u operabilidad necesarios para llevar una unidad de proceso a una escala mayor o menor”.

Ahora bien, dos conceptos claves al momento de escalar un proceso son el punto de operación (PdeO) y el régimen de operación (RdeO). El primero corresponde a las características físicas y químicas que

definen todo el proceso a escalar, es decir, este es el que define y abarca toda clase de variables y parámetros de proceso involucradas. Una definición para el segundo concepto “es la relación de jerarquía evidente entre los efectos que coexisten en el sistema en el PdeO y que caracterizan y definen el comportamiento del proceso en dicho punto y en un entorno que lo contenga. Tal jerarquía se establece de acuerdo con una o más características de interés, analizadas en cada uno de los efectos individuales del proceso” (Ruiz Colorado, 2009). Es decir, el régimen de operación es el efecto o variable que define en sí el comportamiento del sistema. Por ejemplo, si en un proceso se tiene que la temperatura es el factor que determina si la reacción se lleva a cabo o no, este se identifica como el régimen de operación, denominado Régimen térmico. Ruiz Colorado (2009), propone cuatro regímenes simples de operación que dominan un proceso, los cuales son:

- Régimen de Flujo (RdeF)
- Régimen Térmico (RT)
- Régimen de Transferencia de Masa y Energía (RTMyE)
- Régimen QuímicoBioquímico (RQB)

3.3. Estrategias usadas para el escalamiento.

Después de realizar la revisión sistemática de literatura se observa que de las diferentes referencias, las estrategias empleadas para escalar procesos se han fundamentado en las mismas teorías, pues solo se han realizado pequeños ajustes para mejorar la efectividad en cuanto a la aproximación del proceso. Cada una de estas se fundamentan en la similitud entre dos sistemas, entre las cuales se encuentran:

- **Similitud Geométrica:** es un tipo de similitud que demuestra que dos cuerpos interceptados por tres dimensiones, en la que todos sus puntos logran pasar por el mismo sistema de coordenadas son “geoméricamente similares cuando para todo punto en el primer cuerpo existe un punto en el segundo” (Pedroza & Anaya, 2008). Esta relación lineal se da por medio de una constante L como se refleja en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**

$$\frac{x}{X} = \frac{y}{Y} = \frac{z}{Z} = L \quad (\text{Ecuación 1})$$

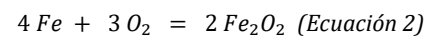
Guerra y colaboradores (2013) aplicaron esta similitud para el escalado en la producción de la levadura de panificación, donde realizaron el diseño y construcción de reactores modelos para poder aplicar esta similitud a los sistemas de agitación, aspersión y enfriamiento. Por otra parte, Dueñas y colaboradores (2016) realizaron el dimensionamiento y escalado de la operación extracción solido-liquido empleada para la producción de un extracto acuoso aplicando el criterio de similitud geométrica mediante relaciones entre volúmenes de tanques y diámetros de agitadores.

Esta similitud se aplica regularmente en proyectos donde uno de los objetivos sea el diseño de equipos en la nueva escala, para así lograr obtener parámetros como diámetro del mezclador, altura de tanque, volumen efectivo, entre otros.

- **Similitud Mecánica:** en esta similitud se engloban las semejanzas encadenadas a la cinemática, estática y dinámica. La primera se presenta si en los sistemas, el movimiento de sus partículas presenta un recorrido adecuado en un transcurso de tiempo correspondiente. La segunda se definió por Pedroza y Anaya de la siguiente manera: “Cuerpos geoméricamente similares, son también estáticamente similares cuando al estar sujetos a esfuerzos constantes sus deformaciones relativas son tales que permanecen geoméricamente similares” (Pedroza &

Anaya, 2008). Por último, la dinámica consiste en cualquier tipo de fuerza suministrada o ejercida sobre el sistema, que ocasione una aceleración o bien sea un atascamiento en el movimiento de las partículas de este.

- **Similitud Térmica:** para esta similitud, solo se tienen en cuenta los sistemas en los que la transferencia de calor se ve implicada, ya sea por medio de conducción, radiación o convección, donde se presenta similitud térmica si y solo si el diferencial de temperatura de los dos sistemas es correspondiente.
- **Similitud Química o bioquímica:** en este tipo de similitud, se tienen en cuenta los sistemas en los que ocurran reacciones y no es necesario que las composiciones de los componentes de la reacción permanezcan constantes, lo que si es necesario para que haya similitud química es que exista una relación fija entre ellas. Un ejemplo sería el siguiente: teniendo la Ecuación 2.



Sin importar el número de moléculas de hierro o de oxígeno presentes en la reacción, por medio de la relación fija que existe entre ellas lograremos llegar a predecir cuanto se producirá de óxido de hierro.

De las anteriores similitudes, la más empleada es la correspondiente a la mecánica, enfocada en los fluidos, ya que en un gran número de procesos la dinámica y los regímenes de flujo son los que han definido los autores como los que determinan el comportamiento del sistema. En esta, son de interés variables tales como potencias de gaseado y velocidades de agitación.

3.3.1. Método con números adimensionales.

Este método parte del análisis dimensional de los sistemas, donde se busca que todos los términos del modelo matemático de un proceso tengan exactamente las mismas dimensiones para que este sea válido en cualquier sistema de dimensiones (Ruiz Colorado, 2009). Por medio de las ecuaciones que predicen o ajustan el modelo del proceso y las dimensiones de todos los procesos físicos que se llevan a cabo en el sistema, se realiza una agrupación y se generan números adimensionales que agrupan todas las variables importantes del proceso. Este método va muy ligado al de similitud geométrica, debido principalmente a que se debe cumplir el primero para que se puedan generar los números adimensionales (Kossen., 1996). Los pasos generales descritos por Pedroza y Anaya son (Pedroza & Anaya, 2008):

- Realizar un conteo del número de variables dimensionales (n).
- Realizar un conteo para el número de unidades básicas (m)
- Definir el número pi que corresponde a el número de grupos adimensionales y está determinado por la ecuación $\Pi = n - m$.
- Proceder a que los número pi determinados dependan de $n - m$ variables fijas, además hacer que cada uno de estos dependa de una de las m variables restantes.
- El número Π que contenga la variable que se desea determinar se pone como función de los demás números adimensionales.
- El modelo debe tener sus números adimensionales iguales a las del prototipo para asegurar similitud.
- Se determina la dependencia del número adimensional requerido experimentalmente.

Así mismo, se han realizado diversos estudios con el fin de determinar una gran cantidad de números adimensionales, que son necesarios para obtener o hallar parámetros a una escala mayor o menor del proceso, tales como la velocidad del impulsor, la velocidad de flujo necesaria, la potencia a suministrar al agitador,

concentraciones iniciales o finales de oxígeno disuelto, biomasa, sustrato, entre otros. Entre los números y relaciones adimensionales que se recopilan en este trabajo se encuentran los indicados en la Tabla 2.

Tabla 2 Números y relaciones adimensionales aplicados en el escalamiento de bioprocesos

Nombre y Símbolo del número adimensional	Ecuación del número adimensional	Nomenclatura	Alguna(s) aplicación(es)	Referencia bibliográfica
Reynolds (Re)	$\frac{v}{\nu}$	v = velocidad del fluido ν = viscosidad cinemática	Manteniendo este número constante entre dos escalas, puede ser útil para determinar cuál deber ser la velocidad del impulsor.	[38]
Damköhler (Da, Da _I , Da _{II} , Da _{III} , Da _{IV})	$\frac{cH_R}{\rho C_p T_0}$ $k_1 \tau$ $\frac{k_1 l^2}{D}$ $k_1 \tau \frac{cH_R}{C_p \rho T_0}$ $\frac{k_1 c H_R l^2}{\lambda T_0}$	H_R = entalpia de reacción τ = tiempo de residencia c_p = capacidad calorífica T_0 = temperatura inicial ρ = densidad c = concentración l = longitud característica D = coeficiente de difusión λ = conductividad térmica	Manteniendo este número constante entre dos escalas, puede ser útil para determinar la velocidad máxima de reacción en un reactor.	[53]
Sherwood (Sh)	$\frac{kl}{D}$	k = coeficiente de transferencia de masa l = longitud característica D = difusividad del componente	Manteniendo este número constante entre dos escalas, puede ser útil para determinar el coeficiente de transferencia de masa por convección y difusión.	[53]
Nusselt (Un)	$\frac{hl}{\lambda}$	h = coeficiente de transferencia de calor l = longitud característica λ = conductividad térmica	Manteniendo este número constante entre dos escalas, puede ser útil para determinar el coeficiente de transferencia de calor.	[53]
Arrhenius (Arr)	$\frac{E}{RT}$	E = energía de activación R = constante universal T = temperatura	Manteniendo este número constante entre dos escalas, puede ser útil para determinar la energía mínima de activación necesaria en un proceso enzimático.	[53]
Stanton (St)	$\frac{h}{c_p \rho v}$	h = coeficiente de transferencia de calor c_p = capacidad calorífica del fluido a presión constante ρ = densidad del fluido v = velocidad del fluido	Manteniendo este número constante entre dos escalas, puede ser útil para determinar el coeficiente de transferencia de calor por convección forzada.	[8]
Euler (Eu)	$\frac{\Delta p}{\rho v^2}$	Δp = diferencial de presión (upstream-downstream) ρ = densidad del fluido v = velocidad del fluido	Manteniendo este número constante entre dos escalas, puede ser útil para determinar cuál debe ser la velocidad a la que se debe ingresar el fluido, prevaleciendo el diferencial de presión a la entrada y salida de una unidad de operación.	[53]
Relación adimensional	$\frac{DO_x}{S}$	DO_x = concentración de oxígeno disuelto S = concentración de sustrato	Manteniendo esta relación entre dos escalas, puede ser útil para determinar cuál debe ser la concentración de oxígeno disuelto en el medio.	[38]
Bodenstein (Bo)	$\frac{vl}{D_{ax}}$	v = velocidad de flujo l = longitud del reactor D_{ax} = coeficiente de dispersión axial	Manteniendo este número constante entre dos escalas, puede ser útil para determinar la longitud de un reactor o la velocidad de flujo necesaria.	[50]
Relación adimensional	$\frac{k_1}{n}$	k_1 = pseudo-first-order constant n = velocidad del agitador	Manteniendo esta relación entre dos escalas, puede ser útil para determinar cuál debe ser la velocidad del agitador en reactores STR para el cultivo de microalgas.	[38]
Relación adimensional	$\varepsilon d c$	ε = coeficiente de absorcion por concentracion d = longitud del camino c = concentracion del material absorbente	Manteniendo esta relación entre dos escalas, puede ser útil para determinar cuál debe ser la concentración del material absorbente en reactores STR para el cultivo de microalgas.	[38]
Relación adimensional	$\frac{d_s}{d}$	d_s = diametro del agitador d = diametro del reactor	Manteniendo esta relación entre dos escalas, puede ser útil para determinar el diámetro del agitador en reactores STR para el cultivo de microalgas.	[38]

Relación adimensional	$\frac{k_a}{c_0}$	k_a = constante cinética c_0 = concentración celular inicial	Manteniendo esta relación entre dos escalas, puede ser útil para determinar cuál debe ser la concentración celular inicial en reactores STR para el cultivo de microalgas.	[38]
Relación adimensional	$\frac{I_0}{K_I}$	I_0 = intensidad de luz inicial K_I = constante de saturación	Manteniendo esta relación entre dos escalas, puede ser útil para determinar cuál debe ser la intensidad de luz inicial suministrada en reactores STR para el cultivo de microalgas.	[38]
Newton (Ne)	$\frac{P}{\rho n^3 d^5}$	P = potencia ρ = densidad del fluido n = velocidad de rotación d = dimensión de área del agitador	Manteniendo este número constante entre dos escalas, puede ser útil para determinar la potencia a suministrar al agitador.	[53]

3.3.2. Método basado en modelos.

Este método consiste en obtener un modelo que genere un completo entendimiento del desarrollo del proceso, para que sea confiable al escalar. En este se busca generar relaciones que incluyen números adimensionales que sirvan para construir un modelo matemático reflejado en una fórmula o ecuación. Para los bioprocesos, es necesario tener en cuenta la cinética del microorganismo, la transferencia de masa, calor y cantidad de movimiento, esto con el fin principal de poder llegar a comprender todo el sistema y los factores que controlan el bioproceso. Para poder realizar un modelo representativo, Angela Ruiz propone que se deben realizar suposiciones acerca del funcionamiento del sistema (Ruiz Colorado, 2009), ya que si estas no se llevaban a cabo el proceso de modelamiento pasa a ser extenso y costoso, debido a un gran número de pasos, pruebas y tiempo empleado en el mismo. Según Álvarez (Álvarez, 2010), dentro de la información necesaria para la construcción de un modelo se debe tener lo siguiente:

- Suposiciones
- Ecuaciones del modelo
 - Ecuaciones de conservación
 - Ecuaciones cinéticas
- Condiciones iniciales
- Condiciones de acotamiento o restricciones

Uno de los principales modelos representativos son los semifísicos de base fenomenológica, estos representan las dinámicas del proceso a escalar y sus posibles relaciones, además abarcan los balances de materia, energía y cantidad de movimiento, que corresponden a la parte estructural del modelo. A parte de la estructura, presentan una serie de parámetros obtenidos por métodos empíricos. La obtención de estas dos partes (estructural y empírica), más un grupo de ecuaciones constitutivas, es lo que permite reducir los tiempos de ejecución de la solución del modelo sin perder apreciablemente precisión en la predicción (Álvarez, 2010).

Ruiz (2009) además de generar explicaciones de dichos modelos, logró emplearlos en el escalado de un reactor de tanque agitado operando en continuo, un intercambiador de calor y un fermentador en continuo para la producción de etanol de un jarabe glucosado, obteniendo como resultado que la metodología genera errores menores al 10% en las condiciones obtenidas para la nueva escala, manteniendo las productividades deseadas (Ruiz Colorado, 2009). Sin embargo, son pocos los proyectos que emplean este tipo de métodos, esto debido principalmente a la elevación en los costos computacionales.

Por otra parte, es común emplear modelos que no representen el comportamiento de todo el sistema, sino que representen una fracción de este, como lo es el caso del coeficiente de transferencia de masa (kLa). Un ejemplo de esto es el caso de Farrell y

colaboradores, que usaron la relación matemática de kLa como criterio de escalado, ajustando este para que coincidiera con el kLa de cualquier objetivo a una escala mayor variando los valores de la velocidad de rotación del impulsor (Farrell, P. et al, 2012). Así como esta investigación, en la Tabla 1 se presentan 10 casos similares.

4. Problemáticas generadas en el escalamiento.

Si bien son varios los estudios en donde se realiza el escalado de un bioproceso, no todos terminan solo con resultados positivos para los autores, ya que durante la aplicación de este se generan una serie de problemáticas que muchas veces conllevan a obtener rendimientos menores a los de la escala inicial. En 2012, el nivel de expresión de una proteína recombinante bajó aproximadamente un 70% cuando se realizó la primera aproximación en el escalado del proceso pasando desde un volumen inicial de 2 litros a uno final de 200 litros, donde el cambio del rendimiento de proteína pasó de 4,2 g/L a 1.3 g/L (Farrell, P. et al, 2012). Lo anterior debido a que, al aumentar la escala, el sistema de aireación del fermentador de 200 litros se vio sobre esforzado para mantener un ambiente aeróbico óptimo para las células, lo que conlleva a un declive del oxígeno disuelto en el medio y dificultades con la transferencia de masa. Parte de este problema radica en que no se tuvo en cuenta un diseño y dimensionamiento previo de los sistemas involucrados, como lo son el de aireación y agitación.

En el 2009, Angela Ruiz manifestaba que, una de las problemáticas más frecuentes en el escalado de procesos es que cada vez que se parte de un nivel de operación a otro mayor o menor, en este último “adquieren importancia fenómenos que no eran relevantes en la escala inicial” (Ruiz Colorado, 2009). De ahí que, en escalas a nivel de laboratorio la importancia casi siempre radica en el carácter bioquímico de las reacciones y no en los fenómenos de transferencia de masa y calor (Kossen, 1996), mientras que a escalas mayores estos últimos fenómenos comienzan a obtener mayor relevancia.

La hidrodinámica de los procesos a una escala piloto o industrial se ve afectada muy a menudo, ya que la calidad del mezclado se ve agravada con el aumento del tamaño de los equipos, esto anterior se debe primero a que mayores distancias por recorrer conducen regularmente a muchas más zonas de agotamiento referente al sustrato y al oxígeno, segundo a que son mayores los volúmenes de medio que deben ser agitados, lo que genera tiempos de mezclado largos, y tercero, los gradientes de presión hidráulica son más fuertes lo que muchas veces influye negativamente en la tasa de transferencia de oxígeno (Schmidt, F., 2005).

El incremento en la tensión de cizallamiento es un claro ejemplo de problemáticas generadas durante el escalado correspondientes a la hidrodinámica de un bioproceso. Espinosa y colaboradores

identificaron que al escalar la producción de P64k mediante el criterio P/V constante se ampliaba la tasa de cizallamiento, lo cual producía daños a nivel celular y por consiguiente disminución en la producción de la proteína de interés (Espinosa, et. al., 2018).

Como se puede observar, la mayoría de las problemáticas producidas en el proceso de escalamiento son relacionadas a la mecánica y dinámica de los fluidos, ya que como se mencionó en ítems anteriores, esta es la que los autores definen cómo la más relevante del proceso. Sin embargo, en gran parte de ellas no se contemplan factores que son importantes y propios de los bioprocesos, como lo es el caso de la temperatura, el pH o la intensidad lumínica. Estos son relevantes ya que pueden generar cambios importantes en el comportamiento del proceso a una escala mayor, y de no ser tenidos en cuenta, se podrían generar aumentos en los costos de producción y un declive en la rentabilidad del proceso.

A pesar de las diversas problemáticas presentadas que fueron encontradas en la revisión de literatura, aún existen muchos baches de información, lo anterior debido a que muchas investigaciones reportan que se escaló el proceso, pero no se especifican las problemáticas ocurridas durante el mismo o bien sea, si el resultado presentado es positivo o no para el proceso en específico.

5. Herramientas computacionales empleadas en el escalamiento.

Con el fin de obtener mejores resultados al aplicar el escalamiento en un bioproceso, existen diversas herramientas computacionales que han sido empleadas o pueden serlo en actividades previas al escalado, durante la aplicación de la teoría y posterior a esta.

Uno de los procesos que más se realizan en etapas previas al escalado, son los referentes a la optimización, en donde se busca realizar un análisis para poder determinar mediante qué valores de parámetros y/o condiciones del proceso se logran obtener los mejores resultados. En el 2010, Ya-Jie Tang y colaboradores previamente al escalado de la fermentación del hongo medicinal *Ganoderma lucidum* para la producción de polisacáridos, realizaron un trabajo de optimización donde se buscó identificar y analizar bajo que valores de pH y oxígeno disuelto se lograban obtener los mejores resultados en cuanto a concentración de ácido ganodérico y polisacáridos intracelulares de *Ganoderma* (Tang, Y. y otros, 2011).

Por otro lado, en Grecia Lalou y colaboradores llevaron a cabo estudios de optimización mediante el diseño experimental Taguchi, con el fin de poder determinar la combinación “óptima” de parámetros o condiciones para la fermentación alcohólica del mosto de uva. Posterior a ese análisis, procedieron a escalar la fermentación alcohólica del mosto de uva, pasando de matraces de 100 mililitros a reactores de 12 litros (Lalou, S. y otros, 2018). Regularmente, estos tipos de análisis se realizan mediante programas computacionales como Minitab. Este ofrece métodos estadísticos útiles a la hora de optimizar procesos, tales como diseño de experimentos, series de predicción, regresión y ANOVA, entre otros (Addlink, 2021).

Similarmente, programas como Matlab y Excel son útiles, pero a la hora de realizar el escalamiento, ya que, mediante lenguajes de programación, como por ejemplo los algoritmos, pueden servir para automatizar el proceso de escalado, de esta manera se digitan los parámetros o condiciones iniciales y el software programado con las ecuaciones correspondientes realiza el proceso, arrojando los valores para los parámetros de la nueva escala (MATLAB & Simulink, 2021).

Finalmente, una vez se realiza el proceso de escalado, regularmente se procede a probar las variables o parámetros obtenidos mediante programas de simulación. En Italia, Paladino y Neviani además de realizar el proceso de escalado de la fermentación con microalgas, simularon el flujo de partículas de la mezcla en sistemas líquidos bifásicos agua-glicerol y agua-dióxido de carbono disuelto, mediante el programa SimScale (Paladino & Neviani, 2020).

SimScale es un software empleado para la simulación de procesos, regularmente relacionados con mecánica y dinámica de fluidos, termodinámica, entre otros; donde “las simulaciones de flujo de fluidos permiten el modelado laminar y turbulento, el transporte de masa más el soporte para configuraciones de fases múltiples, estables o transitorias” (GetApp, 2019). Una vez se digitan los parámetros o condiciones halladas en la etapa de escalamiento y los datos requeridos por el programa, este procede a realizar la simulación y arrojar variables de respuesta como flujos, temperatura, presión, entre otros. Así como este programa, existen otros que presentan funciones similares, como lo es el caso de SuperPro Designer.

6. Conclusiones.

En conclusión, las estrategias empleadas en el escalamiento de bioprocesos parten de la similitud entre dos sistemas siendo las más aplicadas las relacionadas con modelos matemáticos y números adimensionales, donde el coeficiente de transferencia de masa es el criterio de escalado más empleado, seguido de la relación potencia de gaseado por unidad de volumen y la similitud geométrica es una de las que menos se emplea. Para facilitar y optimizar la aplicación de estas estrategias existen herramientas computacionales como Minitab, Matlab, SimScale, Excel y SuperPro Designer, que brindan funciones estadísticas, predictivas, algorítmicas y simuladoras.

Adicionalmente, son mínimos los procesos en donde se realiza un diseño y dimensionamiento detallado de los equipos a la nueva escala, ya que regularmente los investigadores optan por ajustar o adaptar el escalado con las características de equipos ya estandarizados.

Por otro lado, gran parte de las problemáticas generadas en el escalamiento de bioprocesos están relacionadas con la hidrodinámica y la transferencia de masa y calor, ya que al cambiar de escala muchos de estos comportamientos o regímenes de operación cambian su nivel de influencia.

Sin embargo, aún existen muchos vacíos de información en el campo de las problemáticas referentes al escalado de bioprocesos, ya que pocas son las investigaciones en donde se especifican los desafíos generados y si los resultados obtenidos son positivos o no para el desarrollo del proyecto en específico.

Referencias

- [1] Álvarez, H. (14 de enero de 2010). Diseño simultáneo de proceso y control. Uso de efectos dinámicos en ingeniería de procesos. Repositorio UNAL. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/52699>
- [2] Anaya, A. (29 de mayo de 2008). Escalamiento, el arte de la ingeniería química: Plantas piloto, el paso entre el huevo y la gallina. Tecnología, Ciencia, Educación, 23. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48223105>
- [3] Ardila Arevalo, K. S. y Vilorio García, A. C. (2017) Evaluación del escalamiento de la producción de Polihidroxialcanoatos (PHA) por fermentación a partir de la bacteria mutante burkholderia cepacia b27 a nivel semi-industrial (Trabajo de grado). Fundación Universidad de América. Retrieved from <http://hdl.handle.net/20.500.11839/6325>
- [4] Bernal Yermanos, M. (2016-06-10.). Teorema II - construyendo ciencia en el aula.

- [5] Beth, J. (2004, 15 marzo). Scale-up methodologies for *Escherichia coli* and yeast fermentation processes. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 97(6). <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1389172304702182>
- [6] Bisio, A., & Kabel, R. (1986). *Scaleup of Chemical Processes*.
- [7] Caşcava, D., Galaction, A., & Cămărut, S. (2011, 5 enero). Scale-up of Aerobic Stirred Bioreactors Using the Mixing Time Criteria 1. Simulated Broths. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 25(1). https://www.researchgate.net/publication/50925696_Scale-up_of_Aerobic_Stirred_Bioreactors_Using_the_Mixing_Time_Criteria_1_Simulated_Broths
- [8] Colaboradores de Wikipedia. (2021, 5 marzo). Número de Stanton. Wikipedia, la enciclopedia libre. https://es.wikipedia.org/wiki/N%C3%BAmero_de_Stanton
- [9] Dueñas, A., Alcívar, U., Sacon, E., Casdelo, N., & Villanueva, G. (2016, diciembre). Escalado y dimensionamiento de una planta piloto para la producción de un extracto acuoso de *Chuquiraga jussieui*. *Tecnología Química*, 36. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2224-61852016000300001
- [10] Durango, L. (2007). *Evaluación y escalamiento de la producción de levaduras nativas tipo Saccharomyces spp. A nivel de laboratorio*. UNIVERSIDAD EAFIT. <https://repository.eafit.edu.co/xmlui/handle/10784/399>
- [11] Espinosa, R., García, J., Narciandi, E., Silva, R., Caballero, E., Díaz, H., & Musacchio, A. (2018, 1 mayo). Scaling-up fermentation of *Escherichia coli* for production of recombinant P64k protein from *Neisseria meningitidis*. *Electronic Journal of Biotechnology*, 33. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0717345818300095>
- [12] Fang, Z., Sha, C., Peng, Z., Zhang, J., & Du, G. (2019, 1 febrero). Protein engineering to enhance keratinolytic protease activity and excretion in *Escherichia coli* and its scale-up fermentation for high extracellular yield. *Enzyme and Microbial Technology*, 121. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141022918304447>
- [13] Farrell, P., Sun, J., Gao, M., Sun, H., Pattara, B., Zeiser, A., & D'Amore, T. (2012, 17 agosto). Development of a scaled-down aerobic fermentation model for scale-up in recombinant protein vaccine manufacturing. *Vaccine*, 30(38). <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X12007359>
- [14] GetApp. (2019, 1 agosto). *SimScale*. <https://www.getapp.com/co/software/105393/simscale>
- [15] Guerra, G., Izurieta, B., & Agusta, M. (2013, 14 enero). Escalado de la producción industrial de levadura de panificación usando dos reactores modelo y un biorreactor prototipo. *Politécnica*, 30(1). <https://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/5539>
- [16] Hardy, N., Augier, F., Nienow, A., Béal, C., & Chaabane, F. (2017, 23 noviembre). Scale-up agitation criteria for *Trichoderma reesei* fermentation. *Chemical Engineering Science*, 172. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009250917304232>
- [17] Jang, E. (14 de mayo de 2020). Model-Based Scale-Up Methodologies for Pharmaceutical Granulation. *Pharmaceutics*, 12. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32423051/>
- [18] Jeya, M., Lee, K.M., Tiwari, M.K. *et al.* Isolation of a novel high erythritol-producing *Pseudozyma tsukubaensis* and scale-up of erythritol fermentation to industrial level. *Appl Microbiol Biotechnol* 83, 225–231 (2009). <https://doi.org/10.1007/s00253-009-1871-5>
- [19] Jiang, H., Duan, C., Jiang, P., Liu, M., Luo, M., & Xing, X. (2016, 15 mayo). Characteristics of scale-up fermentation of mixed methane-oxidizing bacteria. *Biochemical Engineering Journal*, 109. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X15301194>
- [20] Kanda, M., Yamamoto, E., Hayashi, A., Yabutani, T., Yamashita, M., & Honda, H. (2010, 1 febrero). Scale-up fermentation of echinocandin type antibiotic FR901379. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 109(2). <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1389172309003570>
- [21] Kim, J., Han, G., Oh, B., Chun, Y., Eom, C., & Kim, S. (2008, 1 julio). Volumetric scale-up of a three stage fermentation system for food waste treatment. *Bioresource Technology*, 99(10). <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852407006876>
- [22] Kitchenham, B. (2004). *Procedures for Performing Systematic Reviews*. Staffordshire.
- [23] Kossen. (1996). *Scale-Up, Advances in Bioprocesses engineering*.
- [24] Krajang, M., Malairuang, K., Sukna, J. *et al.* Single-step ethanol production from raw cassava starch using a combination of raw starch hydrolysis and fermentation, scale-up from 5-L laboratory and 200-L pilot plant to 3000-L industrial fermenters. *Biotechnol Biofuels* 14, 68 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13068-021-01903-3>
- [25] Lalou, S., Ferentidou, M., Mantzouridou, F., & Tsimidou, M. (2018, 1 abril). Balsamic type varietal vinegar from cv. Xinomavro (Northern Greece). Optimization and scale-up of the alcoholic fermentation step using indigenous multistarters. *Food Chemistry*, 244. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814617316795>
- [26] Li, W., Shi, C., Guang, J. *et al.* Development of Chinese chestnut whiskey: yeast strains isolation, fermentation system optimization, and scale-up fermentation. *AMB Expr* 11, 17 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01175-4>
- [27] Losada, S., Mayo, C., Martínez, S., Díaz, M., & Valdés, C. (2017, enero). Escalado de la fermentación incrementada en la producción de estreptoquinasa recombinante. *Tecnología Química*, 37. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852017000100009
- [28] *MATLAB - El lenguaje del cálculo técnico*. (s. f.). MATLAB & Simulink. Recuperado 10 de mayo de 2021, de <https://la.mathworks.com/products/matlab.html>
- [29] Microbial Products (2015) Microbial products: technologies, applications and global markets (September 2015: BIO086C). BCC Research
- [30] Monsalve, G., Garelli, F., Islam, M., Álvarez, H., & De Battista, H. (2015, 30 enero). Model-based scale-up methodology for aerobic fed-batch bioprocesses: application to polyhydroxybutyrate (PHB) production. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 38. https://link.springer.com/article/10.1007/s00449-015-1360-4?error=cookies_not_supported&code=8450b4c0-dc0d-4277-9065-98ef3e68abc4
- [31] Muñoz, E. (junio de 2016). ESCALAMIENTO DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE FRUCTOOLIGOSACÁRIDOS A PARTIR DE JUGO DE CAÑA MEDIANTE SÍNTESIS ENZIMÁTICA CON CÉLULAS PERMEABILIZADAS DE *Candida apicola*. *Ciencia y Tecnología*. <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/384/1/Eduardo%20Sharii%20Mu%C3%B1oz%20Equihua.pdf>
- [32] Muñoz, M., Jáuregui Rincón, J., Carreón, L. S., & Chávez Vela, N. A. (2019). Dextranase production by recombinant *Pichia pastoris* under operational volumetric mass transfer coefficient ($k_L a$) and volumetric gassed power input (P_g/V) attainable at commercial large scale. *Preparative biochemistry*

[33] Negrín, M., González, N., Olivera, V., Zamora, J., Dandíe, H., Rodríguez, G., Alvarez, B., Salazar, E., Pimente, R., & Pérez, C. (2005). ESCALADO DE LA FERMENTACIÓN DE LA CEPA C-924 CORYNEBACTERIUM PAUROMETABOLUM EMPLEANDO EL CRITERIO DE LAS SEMEJANZAS. *Revista Cubana de Química*, 17(1).
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=443543685059>

[34] Nuanpeng, S., Laopaiboon, L., Srinophakun, P., Klanrit, P., Jaisil, P., & Laopaiboon, P. (2011, 15 enero). Ethanol production from sweet sorghum juice under very high gravity conditions: Batch, repeated-batch and scale up fermentation. *Electronic Journal of Biotechnology*, 14(1).
https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0717-34582011000100004&lng=es&nrm=iso

[35] Oliveira, L., Jung, A., Silva, G., Souza, A., Zanin, G., Mitchell, D., & Krieger, N. (2017, 1 noviembre). Optimization studies to develop a low-cost medium for production of the lipases of *Rhizopus microsporus* by solid-state fermentation and scale-up of the process to a pilot packed-bed bioreactor. *Process Biochemistry*, 62.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359511317306281>

[36] OPTIMIZACIÓN DE PROCESOS CON USO DE MINITAB. (2008, 3 noviembre). Quality House. http://qho.mx/wp-content/uploads/2020/01/OPTIMIZACION%20C3%93N-DE-PROCESOS-CON-USO-DE-MINITAB_CD.pdf

[37] Padilla, C., Mongili, B., Contreras, P., Fino, D., Tommasi, T., & Díaz, A. (2020, 9 mayo). Productivity and scale-up of poly(3-hydroxybutyrate) production under different oxygen transfer conditions in cultures of *Azotobacter vinelandii*. *Chemical Technology and Biotechnology*, 95(11).
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jctb.6465>

[38] Paladino, O., & Neviani, M. (2020, 15 enero). Scale-up of photo-bioreactors for microalgae cultivation by π -theorem. *Biochemical Engineering Journal*, 153.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X19303377>

[39] Pérez, E., Martínez, D., Sobrino, A., Rodríguez, I., & Hernández, L. (2011, mayo). ESCALADO DE LA REACCIÓN DE BIOSÍNTESIS DE FRUCTOOLIGOSACÁRIDOS, A PARTIR DE SACAROSA, EN BIORREACTORES TIPO TANQUE AGITADO. *Tecnología Química*, 31(2).
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852011000200003

[40] Rocha, J., Estrada, M., Galindo, E., & Serrano, L. (2006, 1 junio). From shake flasks to stirred fermentors: Scale-up of an extractive fermentation process for 6-pentyl- δ -pyrone production by *Trichoderma harzianum* using volumetric power input. *Process Biochemistry*, 41(6).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S135951130600195>

[41] Ruiz, A. (25 de junio de 2009). Factores de escala para la producción biotecnológica de etanol carburante. Repositorio UNAL.
<https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/20034>

[42] Salas Díaz, W. E. (2019). *Valoración de las propiedades del cemento portland producido con metacaolín en reemplazo parcial de clinker*. Santiago de Cali.

[43] Schmidt, F.R. Optimization and scale up of industrial fermentation processes. *Appl Microbiol Biotechnol* 68, 425–435 (2005).
<https://doi.org/10.1007/s00253-005-0003-0>

[44] Shahzadi, I., Al-Ghamdi, M.A., Nadeem, M.S. *et al.* Scale-up fermentation of *Escherichia coli* for the production of recombinant endoglucanase from *Clostridium thermocellum*. *Sci Rep* 11, 7145 (2021).
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-86000-z>

[45] *Software: Minitab*. (2021). Addlink Software científico.
<https://www.addlink.es/productos/minitab-statistical-software#caracteristicas>

[46] Tang, Y., Zhang, W., Liu, R., Zhu, L., & Zhong, J. (2011, 1 enero). Scale-up study on the fed-batch fermentation of *Ganoderma lucidum* for the hyperproduction of ganoderic acid and *Ganoderma* polysaccharides. *Process Biochemistry*, 46(1).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359511310003247>

[47] Vasco, J., & Zapata, A. (2017, 1 julio). Enzymatic extraction of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) at laboratory and bench scale. *LWT*, 80.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643817301238>

[48] Velez-Suberbie, M. L., Betts, J., Walker, K. L., Robinson, C., Zoro, B., & Keshavarz-Moore, E. (2018). High throughput automated microbial bioreactor system used for clone selection and rapid scale-down process optimization. *Biotechnology progress*, 34(1), 58–68.
<https://doi.org/10.1002/btpr.2534>

[49] Wei, M., Ren, Y., Liu, C., Liu, R., Zhang, P., Wei, Y., Xu, T., Wang, F., Tan, T., & Liu, C. (2016, 10 septiembre). Fermentation scale up for α -arbutin production by *Xanthomonas* BT-112. *Journal of Biotechnology*, 233.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168165616302784>

[50] Wikipedia contributors. (2018, 29 mayo). *Bodenstein number*. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Bodenstein_number

[51] Wong, I., García, M., Rodríguez, I., Ramos, L., & Olivera, V. (2003, 30 abril). Fermentation scale up for production of antigen K88 expressed in *Escherichia coli*. *Process Biochemistry*, 38(9).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032959202003266>

[52] Zhao, W., Wang, J., Deng, R., & Wang, X. (2008). Scale-up fermentation of recombinant *Candida rugosa* lipase expressed in *Pichia pastoris* using the GAP promoter. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 35(3), 189–195. <https://doi.org/10.1007/s10295-007-0283-8>

[53] Zlokarnik, M. (2001). Dimensional analysis and scale-up in theory and industrial application. *JOURNAL OF LIPOSOME RESEARCH*, 11.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19530924/>

[54] Zou, S., Wang, Y., He, M., Deng, X., & Wang, C. (2016, 27 abril). Scale-up batch fermentation of bioethanol production from the dry powder of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of The Institute of Brewing*, 122(2).
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jib.328>