

Escalado del proceso de obtención de un biofertilizante, a base de *Pseudomonas fluorescens* a escala de 42 litros

Julio Oramas-García¹, María C. Pérez-Peñaranda^{1*}, Emilio Sotolongo-Valdés², Yoandra Román-Tabío¹ y Anabel Torras Díaz²

1. Unidad de Desarrollo–Innovación del Grupo Empresarial Laboratorios Biológicos Farmacéuticos (LABIOFAM). Ave. Independencia, km 16 ½, Boyeros. La Habana, Cuba.
* mcperezpenaranda@gmail.com
2. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Tecnológica de La Habana. Calle 114, No. 11901, e/ Ciclovía y Rotonda, Marianao, Cujae. La Habana, Cuba.

RESUMEN

En esta investigación se realizó el escalado a 42 L de un biofertilizante a base de *Pseudomonas fluorescens*, con el método de la Regla del Pulgar y como vía de comprobar su efectividad se realizaron tres fermentaciones, a escala de 12 L y 42 L respectivamente, se determinaron el flujo de aire y las revoluciones por minuto. Se calcularon las velocidades específicas de crecimiento, las viabilidades promedio y los resultados fueron procesados mediante el paquete estadístico *Statgraphics XV-CENTURION*. Los resultados del escalado mostraron que en ambas escalas se mantiene un comportamiento cinético similar y un crecimiento celular en el orden $1-5 \times 10^{11}$ UFC/mL, esto permitió definir que la cepa *Pseudomonas fluorescens* respondió de forma satisfactoria.

Palabras clave: biofertilizantes, fermentación, escalado, *Pseudomonas fluorescens*.

ABSTRACT

In this investigation was carried out the scale up 42 L of a biofertilizante with the help of *Pseudomonas* the stimulative bacteria of vegetable growth, *Pseudomonas fluorescens* this investigation has as objective to carry out the Scale up 42 L. For it was calculated it the speed of agitation and flow of air using the method of the Rule of the Thumb and I eat via of checking its effectiveness they were carried out three fermentations to scale of 12 L and 42 L where the behavior of the kinetics of microbial growth was determined and was carried out the test of multiple Ranges using the I *Statgraphics XV-CENTURION*. Did the results of the scale up show that in both scales similar kinetic behavior and a cellular growth in the order $1-5 \times 10^{11}$ UFC/mL, what allowed to define that the stump *Pseudomonas fluorescens* responded from a satisfactory way to scale up.

Key words: biofertilizers, fermentation, scale up, *pseudomonas fluorescens*.

INTRODUCCIÓN

Debido a que la demanda de alimentos en el mundo aumenta, mientras que recursos primordiales como el suelo y el agua se pierden rápidamente, la agricultura debe ser una actividad que conserve el suelo y mejore las condiciones de aquellos que ya se han degradado. Para la mitigar estos problemas se impone, cada vez más, el empleo de biofertilizantes en la agricultura (1).

El Organismo Superior de Dirección Empresarial (OSDE) de los Laboratorios de Producciones Biofarmacéutica y Química (LABIOFAM), tiene entre sus misiones el desarrollo y producción de

biofertilizantes, con el propósito de consolidar esquemas sostenibles de producción agrícola. Una de sus líneas de producción incluye un biopreparado de *Pseudomonas fluorescens*, capaz de solubilizar los compuestos fosforados presentes en el suelo. Este trabajo tuvo como objetivo realizar el escalado a 42 L de volumen total de la cepa *Pseudomonas fluorescens* y corroborar su efectividad.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en la planta piloto Cuba-10, del Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), a partir de una cepa liofilizada de *Pseudomonas fluorescens* procedente del cepario de la Empresa de Vacunas Virales y Bacterianas (UP-7). Para el escalado se utilizó un fermentador de 12 L y otro de 42 L, se realizaron tres fermentaciones en cada uno. Las variables a calcular fueron la velocidad de agitación (N) y el flujo de aire (vvm), se determinaron las relaciones adimensionales y el factor geométrico (F_G). El método de escalado utilizado fue La Regla del Pulgar (2, 3). Las condiciones de escalado fueron: tamaño del fermentador, régimen turbulento, iguales condiciones del medio y densidad del inóculo constante. Los parámetros de fermentación fueron: sobrepresión de 0.002 MPa, aireación de 7.48 L/min y agitación de 667 rpm; se determinó la cinética de crecimiento por densidad óptica al inicio de la fermentación y, cada dos horas, hasta su culminación; se construyó la curva de crecimiento para cada fermentación y, posteriormente, se calculó el promedio y la desviación estándar de las tres fermentaciones para cada tiempo, y con estos valores se construyó la curva de crecimiento de la cepa. La pureza fue evaluada mediante tinción de Gram y determinación de unidades formadoras de colonias (UFC/mL).

Los diseños experimentales empleados y los análisis estadísticos fueron generados y ejecutados mediante el paquete estadístico *Statgraphics XV-CENTURION* y *Microsoft Excel* para *Windows*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de las relaciones adimensionales indicaron que no hay similitud geométrica entre los fermentadores, por lo que se decidió emplear la Regla del Pulgar, tal y como lo plantean Aiba, S. y Quintero, R. (4, 5).

En la tabla 1 se observa que el flujo de aire obtenido en el escalado, se corresponde con los valores establecidos en la literatura para los procesos aerobios con bacterias (0.1-2 vvm) y la velocidad de agitación se corresponde con los reportados para estos volúmenes, según Quintero, R. (5).

Tabla 1. Resultados de los criterios de escalado

Variables	Fermentador de 12 L	Fermentador de 42 L
N (rpm)	667	749
Q(vvm)	0.88	0.44

Como se aprecia en la figura 1, la media de $\mu_{m\acute{a}x}$ alcanzada es igual a 0.18 h^{-1} con un 94 % de ajuste, lo que se corresponde con las reportadas ($\mu_{m\acute{a}x}$ 0.1-0.2) por otros investigadores, para el género *Pseudomonas* (6).

Se observa (figura 2) en la curva promedio una $\mu_{m\acute{a}x}$ igual a 0.19 h^{-1} con ajuste de 94 % en la etapa exponencial, este valor es semejante al obtenido en la fermentación de 12 L.

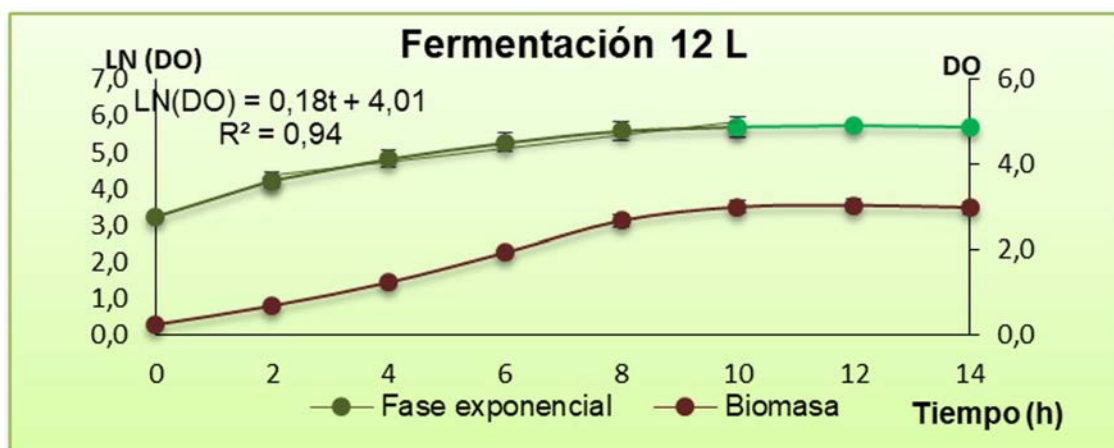


Figura 1. Curva de crecimiento promedio de *Pseudomonas fluorescens*.

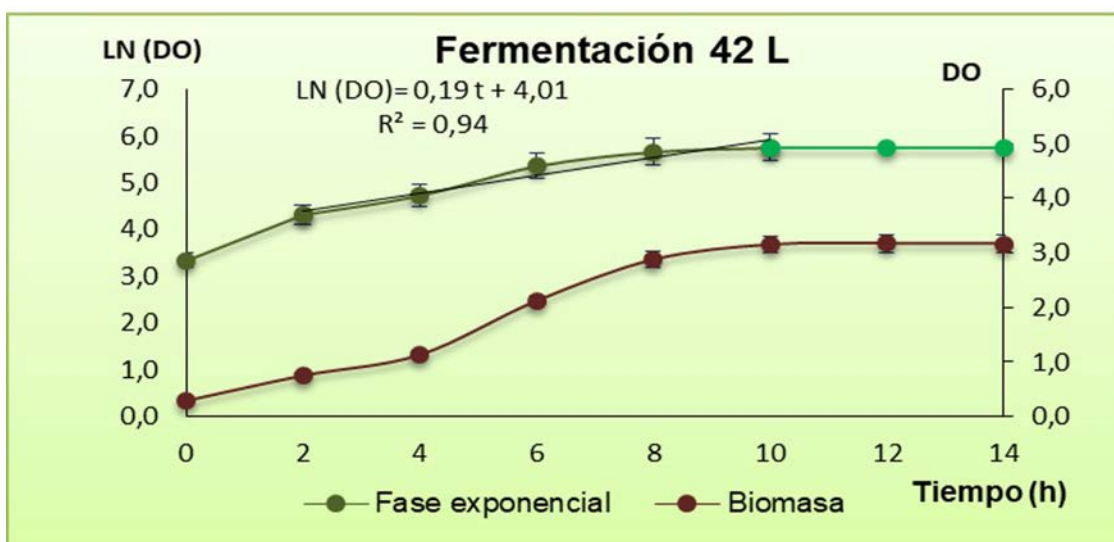


Figura 2. Curva de crecimiento promedio de *Pseudomonas fluorescens*.

Resultados de la viabilidad

Se obtuvo un promedio en las tres fermentaciones 2.81^* similar al alcanzado a escala de 12 L. Los resultados a escala de 42 L demostraron que en ambos fermentadores, se obtuvo un crecimiento celular en el orden de $1-5 \times 10^{11}$ UFC/mL, esto permite definir que la cepa *Pseudomonas fluorescens* ha respondido de forma eficiente al escalado hasta estos niveles de fermentación.

Al realizar la comparación de las velocidades específicas de crecimiento de las fermentaciones, mediante la prueba de Rangos múltiples del programa *Statgraphics XV-CENTURION*, se supo que no hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0 % de confianza y se identificó un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna.

CONCLUSIONES

1. Los parámetros que permitieron reproducir los resultados obtenidos, a escala de 12 L, fueron una agitación de 749 rpm con un flujo de aire de 0.44 va.
2. Las cinéticas de crecimiento en las fermentaciones, a escala de 42 L, tuvieron un similar comportamiento que las de 12 L.

3. La $\mu_{\text{máx}}$ obtenida en la curva promedio fue de 0.191 h⁻¹ y un conteo promedio de 2.81 x 10¹¹UFC/mL, esto demostró que la cepa de *Pseudomonas fluorescens* responde satisfactoriamente a las condiciones del escalado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguado, S.G. (2012). Introducción al uso y manejo de Biofertilizantes en la agricultura. Primera Edición ed., México: INIFAP/SAGARPA.
2. Bañuelos T.N.O. Diseño y escalamiento de procesos biotecnológicos. Apuntes impresos (Sección biológica). 2010: p: 25-39.
3. San Juan, A.; Pérez, J. A.; Borges, D.; Gómez, M.; Guevara, Y.; *et al.* Escalado de producción del biofertilizante NITROFIX en la planta de bioproducto Cuba -10. In: Dirección de Bioprocesos CUBA-10 IPN, Quivicán. Mayabeque. 2010.
4. Aiba, S.; Humphrey, A. y Millis, N. Biochemical Engineering. Academic Press, New York, 1973.
5. Quintero, R. Ingeniería Bioquímica. México. Ed. Alhambra, 1990.
6. Becerra, C. Optimización de un medio de cultivo para la producción de biomasa de la cepa *Pseudomonas putida*: Universidad EAFIT Colombia, Tesis de Grado. Departamento de Ingeniería de Procesos; 2007.