

Enfoques para Mejorar la Productividad de Metabolitos Celulares en Cultivos Sumergidos: Estrategias de Alimentación y Tendencias¹

Carol Burgos-Tapia, Yurani Muñoz-Pasaje, Howard Ramírez-Malule, David Gómez-Ríos²

Facultad de ingeniería, Universidad del Valle, Cali, Colombia

Ingeniería Química, 2025.

Resumen: La producción de metabolitos en cultivos sumergidos en suspensión es fundamental para muchas industrias, como la farmacéutica, alimentaria y biotecnológica. En esta revisión, nos enfocamos en las estrategias que han ayudado a aumentar la cantidad de metabolitos producidos, especialmente en sistemas donde controlamos detalles como la alimentación por lotes o continua. Los resultados muestran que ajustar cuidadosamente la cantidad de nutrientes y mantener condiciones estables, como el pH y los niveles de DO, pueden marcar una gran diferencia en la producción. Además, los avances en tecnología y los sistemas automatizados que ajustan en tiempo real han permitido un control más preciso de las condiciones de fermentación. También se analizó los retos que enfrentan las estrategias cuando se aplican a nivel industrial y se propone áreas futuras de investigación para seguir mejorando el rendimiento de los biorreactores y optimizar la producción de metabolitos.

Palabras clave: Cultivos sumergidos, metabolitos secundarios, estrategias de alimentación, lote alimentado, biorreactor.

Abstract: The production of metabolites in submerged suspension cultures is essential for many industries, such as pharmaceutical, food, and biotechnology. In this review, we focus on the strategies that have helped increase the number of metabolites produced, especially in systems where we control details such as batch or continuous feeding. The results show that carefully adjusting the amount of nutrients and maintaining stable conditions, such as pH and DO levels, can make a big difference in production. In addition,

¹ Artículo científico, Procesos Químicos y Biológicos Aplicados.

² Ingeniería Química, 2025.

advances in technology and automated systems that adjust in real time have allowed more precise control of fermentation conditions. The challenges faced by these strategies when applied at an industrial level were also analyzed, and future research areas are proposed to further improve bioreactor performance and optimize metabolite production.

Keywords: Submerged cultures, secondary metabolites, feeding strategies, fed-batch, bioreactor.

Introducción

La producción de metabolitos de interés usando cultivos sumergidos se ha vuelto cada vez más importante en la industria farmacéutica, alimentaria y biotecnológica. Estos metabolitos, que incluyen ácidos orgánicos, aminoácidos, lípidos y otras moléculas bioactivas, se obtienen principalmente cultivando microorganismos. La eficiencia de estos cultivos depende de varios factores, siendo uno de los más importantes las condiciones en las que se realiza el cultivo. Estas condiciones se pueden optimizar mediante la implementación de diversas estrategias de alimentación, como la alimentación por lotes alimentados y la alimentación continua, que ayudan a mantener niveles adecuados de nutrientes, extender la fase productiva y promover su acumulación [1]. Además, los avances en tecnologías de monitoreo y control han permitido la creación de sistemas automatizados que ajustan en tiempo real parámetros como la velocidad de alimentación, el pH, el nivel de oxígeno disuelto (DO) y la concentración de sustratos. Esto ha hecho que los procesos de cultivo sumergido sean mucho más eficientes [2].

A pesar de estos avances, uno de los principales desafíos sigue siendo mantener altas tasas de producción de metabolitos. Esto es especialmente difícil por factores como la disponibilidad de nutrientes y la acumulación de subproductos que pueden inhibir el crecimiento. En los procesos de fermentación, sobre todo en los cultivos por lote, los nutrientes suelen agotarse rápidamente, lo que limita el crecimiento de los microorganismos y la producción de metabolitos. La alimentación controlada, como la alimentación por lotes alimentados, puede ayudar a resolver esto al suministrar nutrientes de forma continua, extendiendo la fase productiva y mejorando los resultados. Sin

embargo, la alimentación continua, aunque puede ser más efectiva, es más complicada de poner en marcha a nivel industrial porque requiere mantener condiciones estables en el biorreactor y puede aumentar el riesgo de contaminación [3].

Analizar estas estrategias de alimentación es muy importante para mejorar la producción en cultivos sumergidos a nivel industrial. Este estudio tiene como objetivo investigar las estrategias de alimentación más relevantes usadas en cultivos para aumentar la producción de metabolitos, teniendo en cuenta como las tecnologías de monitoreo avanzado y el control preciso de los procesos ayudan a que sean más eficientes y estables. Para lograr esto, se realizó un análisis sistemático de la literatura científica para identificar qué aspectos han sido clave para que estas estrategias tengan éxito y cuáles son los modos de operación más comunes en los biorreactores industriales usados para estos cultivos.

Materiales y Métodos

Para seleccionar los artículos, se siguió un proceso sistemático, basado en revisar la literatura científica disponible en bases de datos académicas especializadas, en este caso, *Scopus*. Para asegurar que la información fuera precisa, la búsqueda la realizó un solo investigador. Se diseñó una estrategia de búsqueda usando palabras claves relevantes para el tema de estudio, como "cultivos sumergidos", "producción de metabolitos", "biorreactores", "estrategias de alimentación", entre otras. Solo se incluyeron estudios que aplicaran estrategias de alimentación enfocadas en optimizar la producción de metabolitos en cultivos sumergidos y que además usaran biorreactores en su investigación. La revisión se centró en estudios experimentales, principalmente fermentaciones tradicionales publicadas en los últimos 10 años, excluyendo simulaciones y trabajos que fueran solo teóricos. La figura 1 muestra el esquema general de la metodología utilizada.

A partir de los artículos seleccionados, se realizó la extracción de datos necesarios para evaluar el efecto de las distintas estrategias de alimentación sobre la productividad del metabolito. Los parámetros analizados incluyeron modos de operación del biorreactor

(lote alimentado y continuo), las estrategias de alimentación implementadas, la cepa utilizada (hongos o bacterias), el sustrato principal, el metabolito producido y condiciones de fermentación (temperatura, pH, velocidad de agitación, tasa de aireación, concentración de DO y tiempo de cultivo, si corresponde). Para evaluar el efecto de la producción, se recopilaron datos adicionales como la concentración total (g/L) y la productividad (g/(L*h)) de los metabolitos.

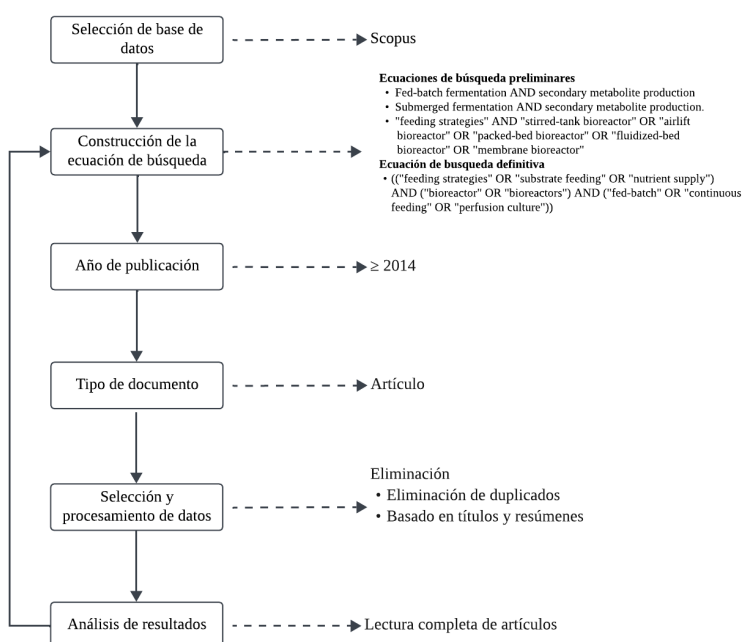


Figura 1. Esquema metodológico para análisis sistemático [4].

Resultados y Discusiones

Se encontraron un total de 170 documentos en la base de datos *Scopus* publicados entre 2014 y 2024, ambos incluidos. Después de eliminar los duplicados, se conservan 162 artículos. De estos, 84 fueron excluidos después de una evaluación preliminar de los títulos y resúmenes. Posteriormente, se realizó una revisión exhaustiva (texto completo) de los 78 artículos restantes, lo que resultó en la selección de 32 estudios que cumplieron con los criterios de inclusión para el análisis cualitativo.

La información se consignó en la Tabla 1.

Tabla 1. Estudio sobre estrategias de alimentación en la producción de metabolitos secundarios en cultivos sumergidos.

Ref.	Estrategia de alimentación	Microorganismo	Sustrato Principal	Metabolito Producido	Producción	Biorreactor		Condiciones de cultivo operativas					
						Modo de Operación	Volumen (mL)	Temperatura (°C)	pH	Agitación (rpm)	DO (%)	Aireación (vvm)	Tiempo (h)
[5]	Fermentación lote: (1) Exceso de glucosa (Sin limitación) 25g/L (2) Limitación de glucosa (0.437 g/h) Fermentación lote alimentado: (3) Prueba de estrés con un pulso de glucosa (10 g/L, 43-48h)	<i>Escherichia coli K-12</i>	Glucosa	2'-Fucosil-lactosa (2'FL)	(1) Las cepas modificadas con ΔptaΔpoxB: Reducción del 80% de acetato. (2) Cepa TCA8 (modificada con OEgltA + ΔiclR): Acumulación de acetato (0.19 g/L) y produjo más 2'FL. (3) - Cepa AP6 (ΔptaΔpoxBΔadhEΔadhP) y Cepa APTCA2 (ΔptaΔpoxBΔiclR): Acumulación de acetato de 0.3 g/L (vs. 3 g/L en control). - TCA8: 1-2 g/L acetato post-pulso (menos robusta que AP6).	Mini Biorreactor DASbox® Fed-batch and Batch	250	30	6.8	700 - 2000	23	1	(1)24 (2) 48 (3) 43-48
[6]	(1) Alimentación constante: 337.5 g/L de glucosa (2) Alimentación conservadora: 350 g/L de glucosa (3) Alimentación exponencial: 300 g/L de glucosa. Biorreactor I y II.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Glucosa	Etanol	(1) 0.98 g/L*h (2) 1.45 g/L*h (3) Biorreactor I: 2.27 g/L*h, Biorreactor II: 2.19 g/L*h	Biorreactor de tanque agitado, con control de temperatura, pH y DO Fed-batch and Batch	3000	30	5.5	-	20	1.25	24
[7]	(1) Efecto del DO: Bajo condiciones de 50% de OD (2) Optimización de las condiciones de alimentación de glucosa (fed-batch) (3) Fermentación lote alimentado con glucosa integrada en OD controlada al 50%.	<i>Inonotus obliquus</i>	Glucosa	Polisacáridos, Triterpenoides totales e Inotodiol	(1) Polisacáridos: 3.8 g/L Triterpenoides: 0.417 g/L Inotodiol: 0.029 g/L (2) Polisacáridos: 3.8 g/L Triterpenoides: 0.442 g/L Inotodiol: 0.04 g/L (3) Polisacáridos: 5.1 g/L Triterpenoides: 0.554 g/L Inotodiol: 0.051 g/L	Biorreactor de tanque agitado con sensores de pH, DO y temperatura. Fed-batch	7000	30	5.5	50 - 500	10, 30, 50	0.5 - 2	Fed-batch: 240
[8]	(1) Efectos de la adición de CaCl2 sobre el crecimiento celular y la producción de curvulina (2) Efectos de la adición de CaCl2 y VRP en la producción de curvulina y los flujos de Ca2+	<i>Curvularia sp. IFB-Z10</i>	Sacarosa	Curvulina	(1) 0.043 g/L (2) 0.030 g/L	(1) Biorreactor de tanque agitado (2) Matraz Erlenmeyer Batch	(1) 5000 (2) 250	28	5.0	250	-	1	(1) 168 (2) 144

[9]	Se empleó la metodología de superficie de respuesta (RSM) para investigar: (1) Efecto del pH: 6.0 (2) Efecto del caudal: 2.0 mL/min (3) Efecto del volumen del eluyente: 150 mL de acetato de etilo	<i>Penicillium brevicompactum</i> MTCC 549	Glucosa	Ácido Micofenólico (MPA)	Elución máxima de MPA (1) 79.38% (2) 77.09% (3) 75.57% Se encontró que las condiciones de proceso optimizadas fueron pH 6.05, caudal 1.96 mL/min y volumen de eluyente 149.49 mL a través de RSM, lo que resultó en una elución de MPA del 84.12%. Experimental: Concentración de MPA (1.84 g/L).	Biorreactor de tanque agitado con control de temperatura, pH y aireación. Batch	3700	28	5.5	200	-	-	240
[10]	Efecto de alimentación lote de Tritón X-100 (1) 3 g/L (2) 40 g/L	<i>Monascus purpureus</i> DK (cepa recombinante)	Glucosa	Pigmentos de monascus (MPs) Citrinina (CIT)	Rendimiento máximo: (1) MPs: 136,86 U/mL, CIT: 0.0046 g/L (2) MPs: 83,40 U/mL, CIT: 0.0043 g/L	Biorreactor de tanque agitado con control de temperatura, pH y aireación. Batch	5000	30	5	180	-	-	240
[11]	(1) Fermentación lote alimentado utilizando HHWO como fuente de carbono, fermentadores escalados de 5L y 50L. (2) Fermentación lote alimentado utilizando como fuente de carbono: glucosa (3) Producción continua mediante cultivo repetido por lotes alimentados con células inmovilizadas utilizando HHWO como fuente de carbono	<i>Streptomyces gilvosporeus</i> Z8.	Hidrolizados de aceite de fritura hidrogenado (HHWO) y glucosa	Natamicina	(1) 5.57 g/L (2) 2.51 g/L (3) 7.3 g/L	2 biorreactores con sensores de temperatura, DO y pH. Fed-batch	5000 50000	29	5.8 - 6.5	(1) (2) 200 -700 (3) 100 - 350	>30%	0.8	120
[12]	(1) Fermentación lote con velocidad de agitación constante (200 rpm), variando la tasa de aireación (1, 2 y 3 L/min) (2) Fermentación por lotes alimentados con tasa de aireación constante (3 L/min), optimizando la tasa de dilución (0.01 vs 0.05 por hora) y agitación (200 vs 400 rpm)	<i>Rhodospiridium paludigenum</i> DMKU-RP301	Sacarosa	Metabolito Principal: Ácido indol-3-acético (IAA) Metabolito Secundario: Carotenoides.	(1) 1 L/min: 1.337 g/L 2 L/min: 1.491 g/L 3 L/min: 1.627 g/L (2) Tasa de dilución de 0.01 por hora 200 rpm: 2.253 g/L 400 rpm: 2.743 g/L Tasa de dilución de 0.05 por hora 200 rpm: 1.661 g/L 400 rpm: 0.739 g/L	Biorreactor de tanque agitado con sensores de pH, temperatura. Fed-batch and Bach	2000	30	7.2	(1) 200 (2) 200, 400	-	(1) 0.67, 1.33, 2 (2) 2	(1) 168 (2) 108

[13]	(1) Fermentación lote para optimizar la producción de elansolid-A2 en un medio sintético con sacarosa como fuente de carbono. (2) Fermentación lote alimentado con adición exponencial de glucosa después de 24-48 horas de cultivo. En algunos casos, se añadió ácido antranílico para dirigir la biosíntesis hacia el elansólido C1.	<i>Chitinophaga sancti Fx7914</i>	Sacarosa Glucosa	Elansólidos A2, C1	(1) A2: 0.0189 g/L C1: 0.0071 g L (2) (Alimentación con Sacarosa) A2: 0.0553 g/L (Alimentación con Glucosa) A2: 0.0344 g/L C1: 0.223 g/L Con suplementación de ácido antranílico C1: 0.257 g/L	Biorreactor de Tanque Agitado con sensores de DO y pH. Fed-batch and Batch	2000	25	7	200 - 1200	20	0.05	(1) 85 (2) 94-190
[14]	(1) Se construyó una cepa de sobreexpresión del subgrupo asm13-17 (Oasm13-17) transformando el plásmido pAP-137 en WT (2) Alimentación por pulsos de glucosa o fructosa: Se realizaron tres pulsos de alimentación a las 60, 96 y 120 horas, un total de 15 g/L de fructosa y 1.64 g/L de isobutanol.	<i>Actinosynnema pretiosum (cepa ATCC 31565)</i>	Glucosa Fructosa	Ansamitocina P-3 (AP-3)	(1) 0.413 g/L (2) Pulso de glucosa (2.5g/L): 0.596 g/L Pulso de glucosa (5 g/L): 0.266 g/L OasmUdpg:asm13-17 + 15 g/L fructosa: 0.758 g/L	Biorreactor de tanque agitado con un sistema de control de pH, DO y temperatura. Fed-batch	10000	28	7.0 - 7.5	280	18	1	-
[15]	Fermentación lote (FL) y fermentación lote alimentado (FLA) (1) Producción de resveratrol a partir de glicerol (2) Ampliación de la vía para producir naringenina (3) Producción de norcoclaurina en las cepas de ingenieríaFermentación lote alimentado (4) Producción de diversos compuestos aromáticos a partir de glicerol crudo	<i>Pichia pastoris (Komagataella phaffii)</i>	Glicerol	Los productos posteriores de L Tyr: resveratrol, naringenina y norcoclaurina	(1) (FL) Con la cepa modificada (T4V-ARO47m): 0.451 g/L(FL) Para la cepa T4V: 0.126 g/L (FLA) 1.825 mg/L después de 120 h (2)(FL) Con la cepa (T4CC-ARO47m): 0.306 g/L(FL)Con la cepa T4CC: 0.089 g/L(FLA) Con la cepa (T4CC-ARO47m): 1.067 g/L después de 120 h(3) (FL) Con la cepa (CDN-ARO47m): 0.011 g/L (FL) Con la cepa CDN: 0.0003 g/L(FLA) Con la cepa (CDN-ARO47m):0.0097 g/L(4) Con una tasa de alimentación de (260.6 g/L glicerol y 54.6 g/L metanol):La cepa T4V-ARO47m: produjo 0.383 g/L de resveratrolLa cepa T4CC-ARO47m produjo 0.338 g/L de naringeninaLa cepa CDN-ARO47m produjo 0.0071 g/L norcoclaurina	Biorreactor tanque agitado Fed-batch and Batch	250	30	5.5	300 - 600	20	0.4	120

[16]	(1) Construcción de cepas con genes individuales modificados (2) Construcción de cepas con dos genes modificados en fermentación lote: Mayor producción con la cepa NM1. (3) Fermentación lotes alimentado de la cepa NM1: Se realizaron experimentos utilizando diferentes fuentes de carbono como: glucosa, dextrina y glicerol. Fuente principal: dextrina	<i>Streptomyces venezuelae ATCC 15439</i>	Glucosa Dextrina Glicerol	Pikromicina	(1) Cepas modificadas (plásmido pSET152) MTHFC1 y MTHFC2: 0.0256 g/L Cepas modificadas (plásmido pCRISPomycies-2) OR2 y NSR alcanzaron: 0.0545 y 0.057 g/L Cepas modificadas combinadas: NM1 (2) 0.1248 g/L (3) 0.2952 g/L	Biorreactor de tanque agitado con sensores de pH y DO. Fed-batch and Batch	5000	28	6.5 - 8.0	400 - 800	40	1.4	288
[17]	(1) Aplicación del sistema optimizado de expresión por autoinducción para la producción de MCFA a partir de suero de soja. (2) Reducción de la producción de subproductos y aumento de la disponibilidad de acetil-CoA a través del sistema de interferencia CRISPR. (3) Mejora de la producción de MCFA mediante la ingeniería de la vía de regeneración de NADH. (4) Fermentación lote y lote alimentado: Aumento de la producción de MCFA a partir de suero de soja. Factores controlados: pH:7.0	<i>Escherichia coli BL21(DE3)</i>	Suero de soja	Ácidos grasos de cadena media (MCFAs; C6-C10)	(1) S2: MCFA: 0.377 g/L S4: MCFA: 0.5472 g/L (2) S7: MCFA: 1.17 g/L (3) S8: MCFA: 3.25 g/L Adición de metanol al suero de soja (1.0-2.5 g/L): MCFA: 3.25 a 4.72 g/L. (4) Fermentación lote a pH 7.0: MCFA: 8.200 g/L Fermentación lote alimentado con glucosa (20 g/L): MCFA: 16.42 g/L C6: 5.03 g/L C8: 5.38 g/L C10: 6.01 g/L	Biorreactor de tanque agitado con sensores de pH y DO, y control de agitación y aireación. Fed-batch and Batch	3000	37	7.0	220	40	-	Batch: 40 Fed-batch: 288
[18]	(1) Cultivo en agitación con matraces utilizando VJ como fuente de carbono: Se probaron concentraciones de VJ (25%, 45%, 70% y 90%) (2) Fermentación lote alimentado: Con concentración de VJ del 25%	<i>Bacillus subtilis BMV9</i>	Jugo vegetal (VJ) derivado de frutas y verduras no vendidas, que contiene fructosa, glucosa, sacarosa, ácidos orgánicos y minerales.	Lipopéptidos (Surfactina y Fengicina)	(1) Rendimiento de producto/biomasa VJ del 90% Surfactina: 0.184 g/g Fengicina: 0.00158 g/g VJ del 70% Surfactina: 0.249 g/g Fengicina: 0.00221 g/g VJ del 45% Surfactina: 0.323 g/g Fengicina: 0.00229 g/g VJ del 25% Surfactina: 0.568 g/g Fengicina: 0.00481 g/g (2) Surfactina: 0.297 g/g - Concentración: 2.77 g/L Fengicina: 0.000018 g/g - Concentración: 0.0275 g/L	Biorreactor de tanque agitado con un sistema de control de pH, DO y agitación. Fed Batch and Batch	10000	37	7.0	300	50	-	Batch: 48 Fed-batch: 16

[19]	(1) Alimentación de una etapa, se utilizó una relación C/N = 4/3 (lactosa: 24 g/L, extracto de levadura: 18 g/L), C/N = 5 (lactosa: 48 g/L, extracto de levadura: 9.6 g/L), C/N = 40 (lactosa: 48 g/L, extracto de levadura: 1.2 g/L). (2) Alimentación de dos etapas, la composición del medio cambia durante la carrera, específicamente, la relación C/N y la cantidad de oligoelementos.	<i>Aspergillus terreus</i> (cepa ATCC 20542)	Lactosa	Lovastatina	(1) Al día 5: 0.090 g/L (2) Al día 7, C/N=40: 0.385 g/L Alimentación con microelementos elevados Al día 8: 0.451 g/L	Biorreactor de membrana gradostat (MGB). Fed-batch	-	30	6.5	-	70	1	240
[20]	(1) Optimización del medio mediante diseño compuesto central: La condición óptima prevista fue de 115.03 g/L de sacarosa, 3.98 g/L de acetato de amonio, 3.84 g/L de d-triptófano (2) Fermentación lote alimentado con biorreactor utilizando la composición óptima del medio y la estrategia de alimentación con triptófano: Concentración 3.84 g/L	<i>Aspergillus fumigatus</i> CY018.	Sacarosa	Chaetominina (CHA)	(1) 0.0579 g/L (2) A 400 rpm: 0.0485 g/L	Biorreactor de tanque agitado Fed-batch	5000	28	6	400	-	2	336
[21]	(1) Primera etapa de alimentación: Se utilizó EECM (diferentes concentraciones) añadido a las 72 horas de la fermentación. (2) Segunda etapa de alimentación (Control de pH): Primera fase de pH (0-72 h): pH ajustado a 5.07. Segunda fase de pH (después de 72 h): pH ajustado a 4.37.	<i>Ganoderma lucidum</i> CGMCC 5.616	Glucosa	Ácidos triterpénicos	(1) Control sin EECM: 0.193 g/L. Con la adición de EECM EECM (0.150 g/L): 0.2472 g/L EECM (0.180 g/L): 0.3028 g/L EECM (0.2 g/L): 0.2514 g/L EECM (0.22 g/L): 0.2496 g/L EECM (0.25 g/L): 0.2084 g/L (2) Combinación de EECM y control de pH: 0.449 g/L	2 biorreactores de tanque agitado con agitación mecánica. Fed-batch and Batch	5000	28	Primera Fase: pH 5-07 Segunda de pH 4.37	1.30 (m/s)	-	-	192
[22]	(1) Selección de fuente de nitrógeno: Sulfato de amonio, cloruro de amonio, acetato de amonio. Condiciones: 5 mM y 10 mM, añadidos a las 120 h de fermentación. (2) Optimización de concentración de acetato de amonio: Concentraciones probadas: 5, 10, 20, 50 y 100 mM. (3) Optimización del momento de alimentación: Tiempos de adición: 72, 120, 168, 216, 264 y 312 h. (4) Tasa de alimentación en biorreactor (5L): 0.01 g/L*h y 0.03 g/L*h.	<i>Aspergillus fumigatus</i> CY018.	Sacarosa	Chaetominina (CHA)	(1) 10 mM de acetato de amonio: 0.0425 g/L (2) 100 Mm: 0.0647 g/L (3) A 120 h: 0.062 g/L (4) Con 0.01 g/L*h: 0.058 g/L	(1), (2), (3) Matraz (4) Biorreactor Fed-batch	5000	28	4	180	-	-	Matraz: 336 Biorreactor: 384

[23]	(1) Selección de fuentes de carbono: Glucosa, glicerol, sacarosa, fructosa, lactosa (20 g/L) (2) Selección de fuentes de nitrógeno: Citrato de amonio, acetato de amonio, sulfato de amonio (1.5 g/L) (3) Optimización C/N: 20 g/L glucosa y 1.5 g/L citrato de amonio, con distintas concentraciones de glucosa (5–30 g/L) (4) Ajuste de pH a 7.0, 8.0, 9.0 y 10.0 (5) Estrategia de biorreactor (2L): Alimentación en lote y lote alimentado; tasa de alimentación 0.242 mL/min a 0.664 mL/min. (6) Tasa de alimentación: Control de pH y glucosa residual (RG) entre 10–20 g/L y 20–50 g/L. (7) Alimentación lote alimentado con un único pulso de glucosa residual (100 g/L)	<i>Halomonas venusta</i> KT832796	Glucosa	Polihidroxialcanoatos (PHA).	(1) Fuente de carbono (Glucosa): 0.866 g/L (2) Fuentes de nitrógeno (Citrato de amonio): 1.87 g/L(3) C/N optimizado: 2.2 g/L (4) A pH 7.0: 3.05 g/L (5) Alimentación en lote: 3.86 g/L Lote alimentado: 26 g/L (6) (10-20 g/L de RG): 15 g/L(20-50 g/L de RG): 22.58 g/L(7) 33.4 g/L	BiorreactorFed-batch and Batch	2000	30	7	500 - 900	-	0.25 - 0.5	Batch: 24 Fed-batch 120
[24]	(1) Fermentación lote alimentado con alimentación controlada de ácido acético y nutrientes mediante un sistema pH-stat. (2) Fermentación lote	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-2937	Ácido acético	Proteína recombinante (GFP, proteína verde fluorescente)	(1) 0.181 g/L*h (2) 0.0226 g/L*h	Biorreactor con un sistema de aireación forzada, agitación magnética, y control de pH automatizado.	1000	26-28	6.9 - 8.3	700	-	0.5 - 1	192
[25]	(1) Adición al inicio de la fermentación: 0.6 g/L de gluconato de calcio (2) Adición a las 127 o 147 horas de fermentación: 3.4 g/L de gluconato de calcio a las 127 o 147 horas. (3) Alimentación continua: Adición continua de gluconato de calcio a una tasa de 0.0638 g/L/h a partir de las 110 horas de fermentación.	<i>Streptomyces lincolnensis</i> (cepa18-8)	Glucosa Almidón	Lincomicina A.	(1) 8.01 g/L (2) 8.01 g/L (3) 9.16 g/L	Biorreactor Fed-batch	15000	30	7	550	-	1	168

[26]	(1) En una operación de alimentación fija, alimentación pulsada al 5% y alimentación pulsada al 10%. (2) Alimentación adaptada lineal en función de los cambios en la biomasa celular (3) Alimentación adaptada exponencial en base a la acumulación de biomasa celular.	<i>Saccharomyces cerevisiae.</i>	Glucosa	Bioetanol	(1) (5%): 0.74 g/L*^h (10%): 0.71 g/L*^h (2) 0.88 g/L*^h (3) 0.87 g/L*^h	Biorreactor con sensores de DO y pH Fed-batch	5000	30	4	600	-	-	20
[27]	(1) Estrategia de alimentación lote operados a bajas densidades celulares infectados con un MOIs de 0.001. (2) Estrategia de alimentación lote alimentado donde los cultivos se iniciaron a 0.3 x 10⁶ células/mL y, después de crecer exponencialmente a 1.5 10⁶ células/mL, se infectaron con un MOI de 0.001 células/mL en medio fresco. (3) Estrategia de alimentación lote alimentado híbrida/perfusión: Se inocularon a 2.3 x 10⁶ células/mL, durante la fase de crecimiento, se añadió cada 12 h un volumen de alimento comercial concentrado correspondiente a una CSFR de 20 pL/célula/día (4) Se evaluó un proceso convencional de lotes alimentados. Se sembraron en medio fresco a alrededor de 2.3 x 10⁶ células/mL. Durante la fase de crecimiento, se añadió un volumen de alimento comercial concentrado correspondiente a 15 pL/célula/día (FB-1) o 20 pL/célula/día (FB-2) cada 12h.	<i>Células HEK293SF</i>	Medio comercial HyClone Cell Boost™ 5 con L- glutamina	Vacuna candidata basada en rVSV en células HEK293 en suspensión (rVSV-SARS-CoV-2).	(1) Cultivos infectados (1.0 x 10⁶ células/mL): 4.5 y 5.5 x 10⁹ TCID50/mL (1.5 x 10⁶ células/mL): 0.8 y 1.1 x 10¹⁰ TCID50/mL (2) 9.0 x 10⁹ TCID50/mL (3) 3.1 x 10¹⁰ TCID50/mL (4) En FB-1: 4.5 x 10¹⁰ TCID50/mL En FB-2: 3.9 x 10¹⁰ TCID50/mL	Biorreactor modular Fed-batch, Batch and fed-batch híbrida/perfusión	250	37	7.1	190	50	-	64
[28]	Fermentación lote alimentado: (1) Cuando las células fueron suspendidas en medios con sales mínimas (MSM) con 0.25 y 0 g/L de NH4Cl (C/N = 100 y C/N = ∞). (2) Estrategia de alimentación por lotes, se realizó utilizando el método de llenado y extracción (Fill-and-Draw): Donde se aplicaron tres medios de diferentes concentraciones de fructosa y amonio, fuente de nitrógeno limitante en todos los escenarios (0.25 g/L de NH4Cl y 15 g/L de fructosa)	<i>Cupriavidus necator H16.</i>	Fructosa	Polihidroxibutirato (PHB).	(1) (0.25 g/L NH4Cl): Aumentó a 15% (0 g/L NH4Cl): Aumentó al 14% (2) A las 22 h Fructuosa (C), NH4Cl (N) (N=0 g/L, C=15 g/L): 14% (N=0.25 g/L, C=15 g/L): 12% (N=0.25 g/L, C=30 g/L): 12% A las 34 h (N=0 g/L, C=15 g/L): 21% (N=0.25 g/L, C=15 g/L): 19% (N=0.25 g/L, C=30 g/L): 20% A las 46 h (N=0 g/L, C=15 g/L): 19.5% (N=0.25 g/L, C=15 g/L): 19% (N=0.25 g/L, C=30 g/L): 18.5% A las 94 h (N=0 q/L, C=15 q/L): 17%	Biorreactor de membrana Fed Batch and Batch	-	30	-	100 - 250	-	-	48-72 h

[29]	(1) Efectos de la adición de precursores (alanina y prolina) en el crecimiento celular y la producción de curvulamina (2) Efectos de la co-adición de precursores en la morfología fúngica (3) Estrategia de alimentación de precursores en fermentación lote alimentado en un biorreactor de 5 litros	<i>Curvularia sp. IFB-Z10.</i>	Sacarosa	Curvulamina	(1) Con una tasa de alimentación (0.25 g/L de alanina + 0.2 g/L de prolina): 0.1667 g/L a las 60 h (2) 0.1695 g/L a las 144 h (3) Con una tasa de alimentación (0.010 g/L*h de alanina + 0.008 g/L*h de prolina): 0.056 g/L a las 144 h Con una tasa de alimentación (0.021 g/L*h de alanina + 0.017 g/L*h de prolina): 0.1336 g/L a las 144 h Con una tasa de alimentación (0.042 g/L*h de alanina + 0.033 g/L*h de prolina): 0.0934 g/L a las 144 h	Biorreactor de agitación con sensores de pH y DO Fed-batch and Batch	5000	28	-	250	-	1	168
[30]	(1) Validación del modelo: Modificación del medio de cultivo por fermentación por lotes durante 55 h (40 g/L de citrato, 50 g/L de glicerol y 40 g/L de glutamato) Alimentado por pulsos (2) Pulso único: 250 g/L de glutamato añadido a las 24 h. Se investigó el efecto de diferentes tiempos de alimentación de un pulso (8, 24, 36, 48 y 60 h). Mayor producción a las 24 h (3) Doble pulso: Glutamato (250 g/L) a las 24 h y a las 48 h. (4) Múltiples pulsos (4 y 8 pulsos): Glutamato (250 g/L) a las 24, 36, 48, 60 h; 8, 24, 29, 36, 41, 48, 53, 60 h. Mayor producción con 4 pulsos. (5) Efecto de cambiar la concentración de la solución de alimentación de glutamato de 250 a 400 g/L (6) Adición de iones de calcio y manganeso al comienzo de la fermentación lote alimentado en 72 h al aplicar dos pulsos de alimentación después de 60 h.	<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 9945a.	Glicerol	Ácido poly-γ-glutámico (γ-PGA).	(1) 47.2 g/L (2) 17.8 g/L (3) 41.0 g/L (4) 36.6 g/L (5) 65.2 g/L (6) 66.1 g/L	Biorreactor equipado con un sistema de aireación.Fed-batch	1000	37	6.5	800	> 30 %	2	72

[31]	(1) Fermentación lote sin alimentación adicional, solo el medio inicial con glucosa. (2) Glucosa velocidad constante I: 0.065 g/min de glucosa (100 g/L) entre 48 h y 99 h. (3) Glucosa pulsada: 8 pulsos diarios de 500 mL (200 g/L) desde 48 h hasta 240 h. (4) Glucosa velocidad constante II: 0.07 g/min de glucosa (200 g/L) entre 48 h y 240 h. (5) Medio completo velocidad constante: 0.35 mL/min del medio inicial entre 48 h y 240 h. (6) Glucosa con pH controlado a 5: misma alimentación de glucosa a 0.07 g/min con pH mantenido en 5. (7) Sorbitol con pH controlado a 6: 0.07 g/min de sorbitol (200 g/L) entre 48 h y 240 h	<i>Penicillium brevicompactum</i>	Glucosa Sorbitol	Ácido micofenólico (MPA)	(1) 1.26 g/L (2) 1.48 g/L (3) 2.32 g/L (4) 2.49 g/L (5) 2.22 g/L (6) 2.72 g/L (7) 3.26 g/L	Biorreactor de tanque agitado. Fed-batch	14000	25	5	200 - 1000	-	1	288
[32]	(1) FB1: Alimentación automática (DO-stat) iniciada a las 38 h, usando una mezcla con bajo oleato (0.068%), alto γ-butirolactona (0.342 %) y 1-pentanol 0.06%, más 1.1 g/L de NH4SO4.. (2) FB2: Alimentación por DO-stat desde las 22 h, con mezcla equilibrada de oleato y γ-butirolactona (0.205% cada uno), 0.06% de 1-pentanol y 1.1 g/L de NH4SO4. (3) FB3: Alimentación por DO-stat iniciada a las 12 h, con mezcla rica en oleato (0.342 %), baja en γ-butirolactona (0.068 %), 0.06 % de 1-pentanol y 1.1 g/L de NH4SO4.	<i>Cupriavidus sp.</i>	Combinación ácido oleico con c-butirolactona 1-pentanol	Terpolímero de Poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato-co-4-hidroxibutirato)	(1) 4,2 g/L (2) 8,2 g/L (3) 16,7 g/L	Biorreactor Fed-batch and Batch	1000	30	6.8 - 7.0	600	-	1	(1): 49 (2): 70 (3): 47
[33]	(1) Fermentación lote: 35 g/L de WCO como única fuente de carbono y con 1 g/L de NaNO3 como fuente de nitrógeno. (2) Fermentación lote alimentado: 11.4 g/L de WCO al inicio, luego 5.7 g/L*d de WCO añadido cada 24 h a partir de las 48 h hasta las 264 h.	<i>Pseudomonas aeruginosa P7815</i>	Aceite de cocción de residuos (WCO)	Producción de biosurfactante rhamnólípido	(1) 11 g/L (2) 16 g/L	Biorreactor Fed-batch and Batch	3000	25	10	450	-	1	(1): 96 (2): 264

Condiciones Operativas en Cultivos Sumergidos

Los estudios realizados en este campo han demostrado que las condiciones operativas como pH, temperatura, agitación y DO, tienen un impacto significativo en el rendimiento y la productividad de los metabolitos. Estas variables deben ser cuidadosamente optimizadas según el microorganismo y el metabolito de interés.

El pH del medio de cultivo es uno de los parámetros más críticos en los procesos fermentativos, ya que influye directamente en la actividad metabólica de los microorganismos. Por ejemplo, Karapatsia et al. (2016) demostraron que las células de levadura pueden ajustar su metabolismo de manera eficiente en un entorno ácido leve, un aumento de pH de 4.0 a 5.7 conlleva a un aumento de concentración de etanol, pero un aumento adicional del pH a 7.0 reduce la tasa de producción de este metabolito [6]. De manera similar, Anand y Srivastava (2020) observaron que un incremento del pH de 3.0 a 6.0 mejoró significativamente el rendimiento de purificación de ácido micofenólico (MPA), logrando una recuperación máxima del 79.38% a pH 6.0 [9].

En otros casos, como en la producción de natamicina utilizando hidrolizados de aceite de fritura hidrogenado (HHWO) en fermentadores escalados (5 y 50 litros), se optó por no ajustar ni controlar el pH para evitar la saponificación de ácidos grasos y la generación excesiva de espuma. En este sistema, el pH fluctuó naturalmente entre 5.8 y 6.5 durante el cultivo [11]. Por otro lado, Wang et al. (2024) evaluaron la producción de ácidos grasos de cadena media (MCFA) a partir de suero de soja, encontrando que un pH controlado a 7.0 aumentó el rendimiento máximo de MCFA a 8.20 g/L en 20 horas, representando un incremento del 55% respecto a condiciones sin control. Liu et al. (2023) también reportaron que el pH afecta significativamente la producción de MCFA [17].

La temperatura óptima para fermentaciones por lotes y lotes alimentados generalmente se encuentran entre 25°C y 37°C, con muchos sistemas operando eficientemente a temperatura ambiente o alrededor de los 30°C [5,7,10,12,15,19,23,25,26,28,32,35,36]. Este rango asegura una actividad metabólica eficiente sin comprometer la estabilidad

celular ni los rendimientos productivos. No obstante, la temperatura óptima de operación depende de cada microorganismo cultivado.

La agitación desempeña un papel crucial en la homogenización del medio y el control de DO. En *S. cerevisiae*, velocidades entre 300 y 500 rpm han demostrado ser efectivas para mantener concentraciones adecuadas de DO durante la producción de etanol [6]. Sin embargo, organismos filamentosos como *I. obliquus*, productor de polisacáridos y triterpenoides, requieren un enfoque más cuidadoso para evitar daños a las estructuras hifales; rangos ajustables entre 50 y 500 rpm son recomendados [7]. Kargar et al. (2023) destacaron que los biorreactores tipo gradostat con membranas ideales para producir lovastatina con *A. terreus*, ya que minimizan el estrés mecánico sobre los filamentos fúngicos [19]. Esta característica favorece la estabilidad morfológica del cultivo y, en consecuencia, optimiza la síntesis del metabolito bajo condiciones de agitación controlada.

En contraste, Zhang et al. (2016) observaron que las velocidades excesivas pueden generar fuerzas de cizallamiento perjudiciales para el crecimiento celular y la producción del metabolito chaetominina (CHA) producido por *A. fumigatus* [20]. Nutaratat et al. (2016) optimizaron la velocidad de agitación para producir ácido indol-3-acético (IAA), logrando una máxima producción (1.627 mg/L) a una velocidad de 200 rpm tras siete días de cultivo [12].

El DO constituye otro parámetro crítico en procesos aeróbicos debido a su influencia directa sobre el flujo metabólico predominante. Karapatsia et al. (2016) reportaron que mantener concentraciones constantes de DO tuvo un efecto menos en la producción de etanol por *S. cerevisiae* [6]. Por otro lado, Zhen-Hua et al. (2018) demostraron que niveles elevados favorecen en la producción de polisacáridos, triterpenoides totales e inotodiolos en *I. obliquus*, alcanzando incrementos del 62% al mantener el DO al 50% [7]. Para sistemas sensibles al DO, estrategias como el DO-Stat han demostrado ser eficaces al ajustar dinámicamente aireación y agitación según las necesidades metabólicas.

Asimismo, diversos estudios reportan la utilización de sensores para la optimización y el control de pH, temperatura, DO y velocidad de agitación. Estos sensores permiten

monitorear y ajustar en tiempo real los parámetros críticos del proceso, asegurando un ambiente fisiológicamente estable para el crecimiento microbiano y la producción de metabolitos.

También se encontró que al haber interacciones entre los parámetros operativos se crean sistemas complejos, en los cuales un cambio en una sola variable puede desencadenar efectos significativos sobre múltiples aspectos del cultivo, afectando tanto el crecimiento celular como la producción de metabolitos. Por ejemplo, combinar un pH óptimo (5.5), temperatura (28°C), DO al 20% y una estrategia de alimentación exponencial permitió alcanzar productividades de etanol superiores a 2.27 g/(L*h) con *S. cerevisiae* [6]. Asimismo, en el caso de *I. obliquus*, la implementación de un DO al 50% junto con estrategias específicas de control de alimentación condujo un incremento del 65% en la producción de inotodiol, un metabolito de alto valor bioactivo [7]. Este tipo de resultados demuestran que el diseño de procesos no puede basarse en la optimización de variables de manera aislada, sino que requiere una visión integrada que contemple tanto la fisiología microbiana como la dinámica de operación del biorreactor.

Estrategias de Alimentación

Las estrategias de alimentación en cultivos sumergidos desempeñan un papel clave para optimizar la productividad de metabolitos y biomasa, ya que permite el control más preciso sobre las condiciones de crecimiento y el metabolismo celular. A continuación, se presentan algunos estudios importantes que muestran como diferentes estrategias de alimentación han tenido un impacto positivo en el rendimiento de varias cepas microbianas.

En el estudio llevado a cabo por Gecse et al. (2024), trabajaron con cepas de *E. coli* que fueron modificadas genéticamente. Utilizaron una combinación de cultivos en lote y lote alimentado para analizar cómo se comportan esas bacterias bajo diferentes condiciones nutricionales. Una estrategia basada en alimentación limitada de glucosa (0.437 g/h) resultó efectiva para mitigar el fenómeno de desbordamiento metabólico, logrando una reducción en un 80% la formación de acetato (subproducto no deseado). Este hallazgo

resalta la importancia de ajustar cuidadosamente las tasas de alimentación a la capacidad metabólica del microorganismo. Además, la sobreexpresión del gen *gltA* junto con la eliminación de *pta* y *poxB* no solo contribuyó a una menor producción de acetato, sino que también incrementó el rendimiento de 2'-fucosil-lactosa (2'FL) en un 20-30%. Estos resultados ponen en evidencia cómo las modificaciones genéticas pueden potenciar el efecto de las estrategias operacionales. Adicionalmente, se realizaron pruebas de estrés mediante pulsos de glucosa (10 g/L), lo que permitió evaluar la respuesta fisiológica de diferentes cepas frente a situaciones de sobrecarga metabólica. Tras la adición del pulso, todas las cepas generaron ácidos orgánicos, principalmente acetato, lo que provocó una caída intermitente del pH del medio. Aunque varias cepas lograron asimilar los ácidos generados, ni la cepa de control ni aquellas mutantes que acumularon mayores concentraciones de acetato fueron capaces de reanudar el crecimiento celular ni de restablecer la producción de 2'FL. Los perfiles de biomasa y producción de 2'FL evidenciaron que las cepas TCA5 y GU1 detuvieron completamente su crecimiento y síntesis de 2'FL tras el pulso de glucosa. De igual forma, la cepa de control C1 mostró una afectación severa. En contraste, las cepas TCA2, TCA8, APTCA2 y AP6 mantuvieron su viabilidad, continuaron creciendo y alcanzaron altos niveles de producción de 2'FL, lo que indica una mayor robustez frente a condiciones de estrés metabólico [5].

Otro estudio significativo fue realizado con *S. cerevisiae* por Karapatsia et al. (2016), quienes evaluaron diferentes estrategias de alimentación; constante, conservadora y exponencial. La alimentación exponencial demostró ser la más efectiva, que permitió maximizar la productividad de etanol (2.27 g/(L*h)), manteniendo una tasa de crecimiento celular óptima y evitando la acumulación inhibitoria del sustrato. Para lograr un mayor control del proceso, se integró un modelo dinámico estructurado basado en ecuaciones diferenciales que permitió predecir la evolución de la biomasa, glucosa y etanol. Además, mediante el análisis Taguchi, se identificaron factores claves para la productividad, destacándose el pH (5.5) y el DO del 20% como variables determinantes [6].

En el caso de *I. obliquus*, Zhen-Hua et al. (2018), desarrollaron una estrategia de control de DO basada en cultivos por lotes alimentados con glucosa, aplicada a nueva cepa aislada de *I. obliquus*. Los resultados mostraron que un mayor nivel de DO facilitó la producción de polisacáridos, triterpenoides totales e inotodiol. La alimentación con 10 g/L de glucosa cuando se controló el nivel de DO al 50% mejoró aún más la producción de estos metabolitos bioactivos. Bajo estas condiciones, se alcanzaron niveles máximos de biomasa, polisacáridos, triterpenoides totales e inotodiol de 25.8 g/L, 5.1 g/L, 554 mg/L y 51 mg/L, respectivamente, lo que representó un aumento del 52%, 31%, 54% y 65%, respectivamente. Los resultados de este trabajo mostraron que la estrategia de control de DO integrada por lotes alimentados con glucosa mejora de manera efectiva la producción de metabolitos en cultivos sumergidos de *I. obliquus*. Además, los resultados obtenidos sugieren que la nueva cepa *I. obliquus* WHH presenta un alto potencial como cepa industrial candidata, sujeta a futuras optimizaciones del proceso y estudios de escalado que permiten evaluar su viabilidad a nivel piloto o industrial [7].

En el estudio realizado por Wei et al. (2019), se estableció una estrategia de regulación basada en la adición de CaCl_2 para mejorar la producción de curvulina a partir de *Curvularia sp.*, un hongo filamentoso de origen marino. La investigación no solo logró optimizar la biosíntesis del metabolito secundario, sino que también permitió aclarar el papel regulador de ion Ca^{2+} en los procesos morfogénicos y metabólicos del microorganismo, aportando información valiosa para futuras investigaciones en la producción de metabolitos secundarios para hongos filamentosos marinos. La incorporación de CaCl_2 al medio de cultivo promovió significativamente el crecimiento de *Curvularia sp.* y estimuló la formación de curvulina, alcanzando una mejora de 2.33 veces en la producción en comparación con la condición de control [8].

En el estudio sobre la producción de MPA, producido por un proceso de fermentación utilizando *Penicillium brevicompactum* MTCC 549, Anand y Srivastava (2020), resaltaron la importancia de implementar estrategias de alimentación junto con procesos posteriores de extracción y purificación. La optimización del proceso se llevó a cabo utilizando la metodología de superficie de respuesta (RSM) y el diseño compuesto central (CCD) como

herramienta estadística para investigar el efecto del pH, el volumen de eluyente y el caudal de la fase móvil, en la purificación de MPA. Los resultados indicaron que las condiciones óptimas, permitieron alcanzar una producción máxima de 1.84 g/L, con una eficiencia de extracción del 95.12% al utilizar acetato de etilo como solvente [9].

Estudios recientes han demostrado que la adición de Tritón X-100 a altas concentraciones pueden mejorar significativamente la producción de metabolitos por *Monascus purpureus* DK (Liu et al., 2021; Wang et al., 2013a). En particular, en la investigación realizada por Lu et al. (2021), encontraron que la concentración de 3 g/L de Tritón X-100 resultó ser la más efectiva, alcanzando rendimientos máximos de 136.86 U/mL de pigmentos de *Monascus* (MPs) y 4.57 mg/L de citrinina (CIT), con proporciones extracelulares de 29.46% y 22.10%, respectivamente. Sin embargo, concentraciones superiores a 3 g/L provocaron una disminución en la producción de metabolitos. Por ejemplo, a 40 g/L, los niveles de MP y CIT se redujeron a 83.40 U/mL y 4.26 mg/L, respectivamente, luego de 14 días de fermentación. Este efecto se atribuye a que concentraciones elevadas de Tritón X-100 comprometen la integridad de la membrana celular, lo que incrementa su permeabilidad y prolonga la fase de latencia, afectando negativamente el crecimiento celular y el metabolismo secundario [10].

En contraste, el trabajo con *S. gilvosporeus* de Zeng et al. (2022), demostraron que el uso de residuos agroindustriales como HHWO resultó ser una estrategia rentable y eficiente. Después de la eliminación de la citotoxicidad por deshidrogenación, 40 g/L de partículas de HHWO promovieron la producción de natamicina en escala de matraces y fermentadores de 5L y 50L. Mientras tanto, el cultivo repetido de lotes alimentados con células inmovilizadas aumento aún más la producción de natamicina (2.9 veces) y redujo el tiempo de cultivo (21.1%). La HHWO se comportó mejor que la glucosa en el suministro de energía, el suministro de precursores y el mantenimiento de la vitalidad [11].

La investigación con *R. paludigenum* de Nutaratat et al. (2016) arrojó datos reveladores sobre la producción de ácido indol-3-acético (IAA). La fermentación por lotes alimentados aumentó la concentración de IAA hasta 1.7 veces en comparación con la fermentación

por lotes. Además, redujo el tiempo de producción de IAA de 168 a 108 h. Se encontró que esta levadura tiene el potencial para la producción de carotenoides [12].

En el caso de los elansólidos A2 y C1, estudio realizado por Beckmann et al. (2017), implementaron estrategias de alimentación en fermentación por lotes y lote alimentado. La estrategia lote alimentado con adición exponencial de glucosa entre las 24 y 48 horas de cultivo, según las condiciones experimentales, resultó en una mayor producción de elansólidos. Adema, la adición específica de ácido antranílico durante la fase lote alimentado permitió redirigir la ruta biosintética hacia la síntesis exclusiva de elansólido C1, alcanzando una concentración de 257.5 mg/L. Esta estrategia no solo mejoró significativamente la producción y productividad de elansólidos A1 y C1 en comparación con el cultivo por lotes, sino que también minimizó la formación de subproductos no deseados, evidenciando el potencial de las estrategias de alimentación para modular rutas biosintéticas específicas [13].

En otra investigación, Du y Zhong (2018), evaluaron la estrategia de alimentación pulsada de fructosa e isobutanol en un cultivo lote alimentado, aplicando tres pulsos a las 60, 96 y 120 horas, con un total de 15 g/L de fructuosa y 1.64 g/L de isobutanol por pulso. Esta estrategia, en combinación con modificaciones genéticas, permitió incrementar significativamente la producción de Ansamitocina P-3 (AP-3), alcanzando 757.7 mg/L, lo que representó un aumento del 135% respecto al cultivo por lotes (322.5 mg/L) [14].

En el ámbito de la producción biotecnológica, Kumokita et al. (2022) usaron una estrategia lote alimentado basada en una solución de extracto de levadura, peptona y glicerol, administrada a un flujo de 625 μ L/h, la cual logró los rendimientos más altos reportados hasta la fecha, destacando la efectividad de esta combinación en la optimización del proceso [15].

Asimismo, en estudios con *S. venezuelae*, Cho et al. (2022) aplicaron ingeniería metabólica para aumentar la producción de pikromicina, utilizando el modelo GEM SvenSBML1450. De 11 genes manipulados individualmente, todos mejoraron la producción. A partir de los mejores resultados, se combinaron genes con posibles efectos

sinérgicos. La cepa NM1, que integró la sobreexpresión de *AQF52_RS24510* y el knockdown de *AQF52_RS30320*, y probando diferentes fuentes de carbono, como glucosa (10 g/L), dextrina (15 g/L) y glicerol (5 g/L), identificando a la dextrina como la más eficaz, alcanzó el mayor rendimiento registrado (295,25 mg/L) bajo condiciones lote alimentado. El estudio destaca a *S. venezuelae* como un productor eficaz de metabolitos secundarios y plantea nuevas oportunidades, como explorar más combinaciones génicas y modificar genes reguladores como *wblA*. Además, la cepa NM1 podría servir como base para la producción de compuestos relacionados y para la expresión heteróloga de otros metabolitos, gracias a la alta flexibilidad genética de esta especie [16].

La producción microbiana de MCFAs, representa una alternativa sostenible a los métodos convencionales, aunque su implementación a gran escala ha estado limitada por los altos costos del medio y la necesidad de inductores externos. En un estudio, realizado por Wang et al. (2024), desarrollaron una plataforma en *E. coli* utilizando suero de soya como medio económico y galactosa como autoinductor, lo que permitió reducir significativamente los costos del proceso. Mediante la ingeniería racional del promotor del cotransportador GalP, se diseñó un sistema de autoinducción homogéneo y robusto, que activó eficientemente la expresión de las enzimas de la ruta metabólica. Además, se mejoró la disponibilidad intracelular de acetil-CoA y la regeneración de NADH para optimizar la inversión del ciclo β -oxidativo. Como resultado, la cepa modificada alcanzó rendimientos de 8.20 g/L en fermentación lote controlada por pH y 16.42 g/L en fermentación lote alimentado con adición de glucosa [17].

En otro estudio, Gugel et al. (2024) implementaron una estrategia de alimentación lote alimentado con alimentación exponencial para mejorar la producción de lipopéptidos como surfactina y fengicina. La alimentación se inició tras el agotamiento de los sustratos carbonados en la fase lote, utilizando una solución compuesta por jugo vegetal sin diluir, $MgSO_4$ y solución de oligoelementos (TES). La tasa de alimentación se calculó en función de la biomasa generada en la fase lote, siguiendo la fórmula de Klausmann et al. (2021). Se evaluaron distintas concentraciones de jugo vegetal (25%, 45%, 70% y 90%), seleccionando el 25% como la más adecuada. Este enfoque no solo incrementó la

productividad de surfactina y fengicina, sino que también redujo el tiempo de fermentación y los costos asociados, posicionando los residuos alimentarios como sustratos alternativos viables para la producción industrial de lipopéptidos [18].

En el estudio realizado por Kargar et al. (2023), orientado a la producción de lovastatina, se evaluaron diversas estrategias de alimentación en esquemas de una y dos etapas. En la estrategia de una etapa, se analizaron distintas relaciones carbono/nitrógeno (C/N), incluyendo: C/N = 4/3 (lactosa: 24 g/L, extracto de levadura: 18 g/L), C/N = 5 (lactosa: 48 g/L, extracto de levadura: 9.6 g/L) y C/N = 40 (lactosa: 48 g/L, extracto de levadura: 1.2 g/L). Para el sistema de dos etapas, se seleccionó la condición con una relación C/N = 40, complementada con una alimentación variable durante el proceso, en la cual se ajustaron tanto la relación C/N como la concentración de oligoelementos. Bajo esta estrategia, se alcanzó una producción máxima de 450.9 mg/L de lovastatina [19].

Zhang et al. (2016) utilizaron en su estudio la estrategia de alimentación implementada para la producción de Chaetominina (CHA), la cual se desarrolló en dos etapas. Durante la primera etapa, que tuvo una duración de 192 horas, se utilizó sacarosa como fuente de carbono a una concentración de 115.03 g/L y acetato de amonio como fuente de nitrógeno a 3.98 g/L. En la segunda etapa, a las 192 horas de fermentación, se añadió D-triptófano, un precursor clave en la biosíntesis de CHA, a una concentración de 3.84 g/L. La optimización del medio de cultivo y la alimentación de precursores demostraron ser estrategias efectivas para mejorar la producción de CHA en fermentación sumergida. El proceso optimizado fue escalado con éxito a un biorreactor de 5 L, lo que confirma su potencial para aplicaciones industriales [20].

Wang et al. (2016) implementaron la estrategia de alimentación lote alimentado para optimizar la producción de ácidos triterpénicos mediante el ajuste del pH en dos etapas. Durante la primera fase (0-72 horas), el pH se mantuvo en 5.07, mientras que en la segunda fase (72-192 horas), se ajustó a 4.37, lo que permitió optimizar la producción del metabolito deseado. La combinación de extracto etéreo de *Catharsius molossus* EECM y el control de pH en dos etapas incrementó significativamente la producción de ácidos

triterpénicos en cultivos de *G. lucidum*, alcanzando 431.83 mg/L en un biorreactor de 150 L. La aplicación de herramientas estadísticas permitió optimizar las condiciones de cultivo y mejorar la productividad [21].

Se implementó en un biorreactor de 5 L una estrategia de alimentación lote alimentado, (Liu et al., 2019) añadiendo acetato de amonio a una tasa controlada (0.01 y 0.03 g/L*h) para optimizar la producción de CHA. La alimentación con acetato de amonio a 50 mM en fermentación lote alimentado incrementó significativamente la producción de chaetominina en *A. fumigatus* CY018. La optimización del tiempo y la tasa de alimentación maximizó la biosíntesis sin generar efectos inhibitorios. Suplementar con fuentes de nitrógeno adecuadas resulta una estrategia clave para mejorar la producción de metabolitos secundarios en cultivos sumergidos [22].

Stanley et al. (2017) implementaron fermentación lote alimentado con diferentes estrategias de alimentación: (1) Regulación del pH; (2) Mantenimiento de la concentración de glucosa residual entre 10-20 g/L; (3) Mantenimiento de la glucosa residual entre 20-50 g/L; y (4) Pulso único hasta alcanzar 100 g/L de glucosa residual seguido por el mantenimiento de 1-2 g/L de glucosa residual en el medio. Se utilizó una bomba peristáltica (Reglo digital ISM 831, Cole-Parmer GmbH, Germany) con un flujo de 15-20 mL/h para la alimentación. Estas estrategias permitieron mejorar la eficiencia del proceso. La productividad de Polihidroxicanoatos (PHA) alcanzó 0.257 g/(L*h), un valor significativamente mayor que el obtenido en cultivos por lotes. Además, la concentración de PHA aumentó 6.74 veces en comparación con el cultivo por lotes. Mantener la glucosa residual entre 10-20 g/L resultó en un rendimiento de PHA de 0.096 g/g de glucosa y una productividad de 0.156 g/(L*h). Con la estrategia de alimentación por pulso, la cantidad de PHA producida (33.4 g/L) fue similar a la obtenida en *H. boliviensis* (35 g/L), aunque con una menor productividad [23]

Fields et al. (2018) estudiaron la fermentación lote alimentado mixotrófica con alimentación controlada de ácido acético y nutrientes mediante un sistema pH-stat. Este enfoque resultó efectivo para aumentar la biomasa y la producción de proteínas

recombinantes en *C. reinhardtii*. Sin embargo, la acumulación de sales limitó el crecimiento, lo que sugiere la necesidad de optimizar el medio de cultivo. Además, se propone mejorar la expresión de proteínas en el cloroplasto mediante promotores independientes de la luz [24].

En la investigación realizada por Zhuang et al. (2019) se adoptó una estrategia de alimentación por lotes o continua para el suministro de gluconato de calcio. Se determinó que el momento óptimo para su adición fue en la fase tardía de fermentación, logrando un mayor rendimiento de lincomicina A. Esta estrategia representa una alternativa efectiva para mejorar la productividad sin recurrir a modificaciones genéticas [25].

Hung et al. (2023) estudiaron las siguientes estrategias de alimentación en fermentación por lotes alimentados: (1) Alimentación fija, en la que se incrementó la concentración de azúcar a 50 o 100 g/L mediante pulsos del 5% y 10%, respectivamente; (2) Alimentación adaptada linealmente según los cambios en la biomasa celular; (3) Alimentación adaptada exponencialmente basada en la acumulación de biomasa. Los resultados demostraron que ajustar la alimentación en función de la biomasa celular mejoró significativamente la eficiencia de la producción de etanol. Estas estrategias muestran un gran potencial para su integración en la producción de etanol a base de azúcar y lignocelulosa, mejorando la productividad [26].

Silva et al. (2024) se centraron en intensificar la producción de vectores recombinantes VSV (rVSV-SARS-CoV-2) utilizando cultivos de células HEK293 en biorreactores Ambr250, empleando estrategias de alimentación por lotes (lote (B), lote alimentado (FB)) e híbridos con perfusión (FB/P). Los resultados mostraron que las estrategias alimentadas superaron significativamente al cultivo por lote convencional, logrando: un aumento de hasta 5 veces en el rendimiento total, un incremento de hasta 5,6 veces en la productividad y un rendimiento viral máximo de 4.5×10^{10} TCID₅₀/mL, comparable o superior a otros sistemas basados en líneas celulares diferentes. A pesar de las mejoras, se observó una reducción del rendimiento específico por célula (CSVY) en procesos híbridos a altas densidades celulares, probablemente asociada a: estrés metabólico y/o exposición

prolongada a subproductos tóxicos en fases de producción más largas. El uso de un medio comercial definido y una tasa fija de alimentación celular (CSFR) facilitó un proceso más simple y robusto, capaz de sostener la producción incluso ante pequeñas variaciones de nutrientes [27].

En otro estudio, se evaluaron dos estrategias de alimentación en cultivos lote alimentado para la producción de polihidroxibutirato (PHB) (Akkoyunlu et al., 2024). En el enfoque de lote alimentado en dos etapas, tras 33 horas de cultivo en modo lote, la biomasa fue centrifugada y re-suspendida en un medio con limitación de nitrógeno para inducir la producción de PHB. (2) En el segundo enfoque, se empleó un método de llenado y extracción, utilizando tres medios con distintas concentraciones de fructosa y amonio para optimizar la acumulación de PHB en las células. Los resultados mostraron que la combinación de medios mejoró la tasa de transferencia de oxígeno; sin embargo, la tasa de consumo de oxígeno celular permaneció constante en condiciones no limitantes de oxígeno. Se comprobó que la estrategia de alimentación con restricción de nitrógeno favorece la acumulación de PHB, alcanzando un 22% de producción mediante el método de llenado y extracción. Estos hallazgos sugieren que los biorreactores de membrana son una alternativa prometedora para el cultivo de *C. necator* con fines de producción de PHB, aunque se requiere más investigación para optimizar su productividad [28].

Wei et al. (2020) investigaron una de las principales limitaciones en la aplicación farmacéutica de la curvulamina, un alcaloide con destacada actividad antibacteriana producido por *Curvularia sp.* IFB-Z10: su bajo rendimiento en condiciones estándar de fermentación. Con el objetivo de mejorar su biosíntesis, se implementó una estrategia basada en la co-adición de precursores aminoacídicos, específicamente alanina y prolina. Los resultados revelaron un aumento significativo en la producción de curvulamina, alcanzando 166.74 mg/L mediante la adición de 250 mg/L de alanina y 200 mg/L de prolina a las 60 h de cultivo, lo que representa un incremento de 4.08 veces respecto al control. Esta mejora en la producción no se debió a un incremento significativo de biomasa, sino a modificaciones en la morfología fúngica (pellets más pequeños y compactos) y a una regulación positiva del metabolismo del carbono. Se logro escalar la

estrategia a un biorreactor de 5 L, obteniendo una producción de 133.58 mg/L bajo alimentación continua, lo que demuestra su viabilidad en fermentación sumergida. En conjunto, este estudio no solo optimiza la producción de curvulamina, sino que evidencia como la adición de precursores específicos pueden influir simultáneamente en la morfología, el metabolismo central y la expresión genética, para potenciar la síntesis de metabolitos secundarios en hongos marinos [29].

En el estudio realizado por Kouchesfahani et al. (2024) emplearon una estrategia lote alimentado con pulsos de glutamato, optimizando tanto el tiempo como la cantidad de cada adición para mejorar la producción de ácido γ -poliglutámico (γ -PGA). La combinación de un medio optimizado con la alimentación por pulsos permitió alcanzar la mayor producción reportada de γ -PGA con *B. licheniformis* ATCC 9945a, destacando el potencial de esta estrategia para aplicaciones industriales [30].

Patel et al. (2018) investigaron diferentes estrategias de alimentación en fermentación lote alimentado con el objetivo de optimizar la producción de MPA. Se evaluaron seis esquemas: dos tasas constantes de glucosa I y II, alimentación pulsada repetida de glucosa, alimentación constante de medio completo, y dos estrategias con control de pH, una con glucosa a pH 5.0 y otra con sorbitol a pH 6.0. La producción de MPA se inició una vez que la glucosa fue consumida en el biorreactor, lo que resalta la importancia del monitoreo preciso del sustrato durante el proceso, debido a que se encontró que el sorbitol es eficaz para incrementar la producción de diversos metabolitos, incluida la MPA. Sin embargo, los autores señalaron que la fermentación por lotes convencional no es adecuada para aplicaciones industriales, debido a la baja concentración final de MPA y el bajo rendimiento del sustrato. Las condiciones óptimas para este proceso altamente aeróbico incluyeron una temperatura de incubación de 25°C, un pH controlado de 6, y una alimentación a velocidad constante de sorbitol a 0.07 g/min, aplicada desde las 48 hasta las 240 horas de fermentación en un biorreactor de 4 L. Bajo estas condiciones, se logró una concentración máxima de 3.26 g/L de MPA utilizando una cepa silvestre del microorganismo, junto con un consumo completo de la fuente de carbono [31].

Aziz, et al (2017) evaluaron una estrategia de fermentación lote alimentado para la producción de P(3HB-co-3HV-co-4HB), utilizando combinaciones de ácido oleico, γ -butirolactona y 1-pentanol. Se probaron diferentes concentraciones de ácido oleico y γ -butirolactona en un proceso de fermentación lote alimentado, mientras que la concentración de 1-pentanol se mantuvo fija. Para optimizar el proceso, se implementó la estrategia DO-stat, en la cual la alimentación de sustratos y fuentes de nitrógeno se ajustó dinámicamente según el perfil de DO. Los resultados indicaron que las estrategias de alimentación aplicadas permitieron obtener terpolímeros con propiedades mecánicas mejoradas, incluyendo una mayor resistencia a la tracción y un módulo de Young superior en comparación con los obtenidos mediante fermentación por lotes. Se determinó que la fermentación lote alimentado con mayor concentración de ácido oleico condujo a una mayor productividad de terpolímero. Además, prolongar la fase de crecimiento bacteriano se identificó como una estrategia prometedora para mejorar el rendimiento de PHA por unidad de biomasa formada [32].

En el caso de la investigación realizada por Sharma et al. (2021) implementaron una estrategia de fermentación lote alimentado con alimentación de aceite residual de cocina (WCO) para extender la fase estacionaria de *P. aeruginosa* y minimizar los efectos de la privación del sustrato. Los biosurfactantes obtenidos mostraron una notable estabilidad en un amplio rango de pH, temperatura y salinidad, además de exhibir actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas. Estos hallazgos demuestran la viabilidad del cultivo en modo lote alimentado para la producción de biosurfactantes utilizando WCO como fuente de carbono. Además, la biodegradación de compuestos orgánicos contaminantes (OMC) por *P. aeruginosa* en este sistema representa una alternativa prometedora para la producción económica de biosurfactantes, con aplicaciones potenciales en los sectores biomédico, cosmético y de recuperación mejorada de petróleo [33].

Kafle et al. (2023) investigaron la producción de nicotinamida mononucleótido (NMN), usando *E. coli*. Se evaluó el efecto de diferentes estrategias de alimentación de nicotinamida (NAM), enfocada en la alimentación de glucosa de manera exponencial sobre

la producción de NMN. Se probaron tres enfoques: (1) Alimentación exponencial de glucosa sin adición de NAM, enfocada en la alta densidad celular y la producción de NMN. (2) Alimentación exponencial de glucosa con adición de NAM en modo de alimentación no continua, optimizando la conversión de sustrato. (3) Alimentación exponencial de glucosa con adición de NAM en modo de alimentación continua, evaluando su impacto en la acumulación de NMN. Se confirmó que la fermentación lote alimentado es una estrategia preferida para lograr altas densidades celulares, un factor crítico para maximizar la productividad de NMN, dado que su producción está directamente relacionada con la biomasa celular. Estos hallazgos destacan el potencial del cultivo lote alimentado para la producción eficiente de NMN a escala industrial [34].

Fouchécour et al. (2021) propusieron una estrategia de alimentación lote alimentado basada en el control de pH para la producción de ácido 3-hidroxipropiónico (3-HP) usando bacterias acéticas (AAB). Esta estrategia podría ser prometedora para ser escalada a nivel industrial, ya que las células en menor cantidad reducen tanto los costos de proceso como el consumo energético. Se encontró que concentraciones elevadas de sustrato pueden inhibir el proceso, ya sea directamente, por la inhibición del sustrato o indirectamente, por inhibición del producto. Sin embargo, no es necesario alcanzar altas densidades celulares para lograr una producción eficiente de 3-HP, siempre y cuando la alimentación de 1,3-propanodiol (1,3-PDO) se realice a una velocidad que permita a las células mantener su actividad biocatalítica. Los resultados indican que esta estrategia de alimentación tiene un gran potencial para su uso en un proceso integrado de producción de 3-HP a partir de glicerol, ayudando a mejorar el rendimiento y la viabilidad del proceso a escala industrial [35].

Sharma et al. (2021) desarrollaron una estrategia de alimentación de nutrientes basada en modelos matemáticos para optimizar la producción de PHB a través de fermentación lote alimentado. Para ellos, evaluaron tres maneras diferentes de dosificar el glicerol: Una con una tasa de alimentación constante, otra con una velocidad que disminuye progresivamente, y una más que mantiene el sustrato en un estado pseudo-estacionario.

Los resultados indicaron que la tercera opción fue la más efectiva, logrando una concentración de PHB de 13.12 g/L, con una productividad de 0.27 g/(L*h) [36].

Tendencias y Avances Tecnológicos

En los últimos años, los avances tecnológicos en el campo de la biotecnología industrial han tenido un impacto importante en cómo se planifican y llevan a cabo las estrategias para alimentar cultivos sumergidos. Gracias a estas innovaciones, la producción de metabolitos ha mejorado notablemente, especialmente por el uso de herramientas como sensores de alta precisión, modelos dinámicos de procesos biológicos y sistemas automatizados que controlan y ajustan en tiempo real. Todos estos avances juntos han permitido manejar con mayor precisión los procesos de fermentación, facilitando su escalado y disminuyendo su impacto ambiental.

Uno de los cambios más destacados ha sido la incorporación de sensores avanzados para monitorear en tiempo real aspectos clave como el pH, la temperatura y el DO. Este tipo de monitoreo permite hacer ajustes automáticos para mantener condiciones óptimas durante todo el proceso, lo que resulta en un mejor uso de los nutrientes y una mayor estabilidad en la operación. Por ejemplo, Masaaki et al. (2022) emplearon espectroscopia Raman para seguir la concentración de glucosa durante la fermentación, manteniéndola en un rango controlado de 10 a 15 mM. Esto ayudó a evitar la acumulación de sustancias inhibitoras como el lactato y logró incrementar la productividad. De manera similar, Sharma et al. (2021) usaron sensores de última generación para regular la alimentación del sustrato en la producción de 3-HP. Gracias a esta estrategia, lograron prevenir la formación de subproductos tóxicos, mejorar el rendimiento del proceso y reducir tanto los costos como el impacto ambiental [36].

Además de los sensores, el modelado dinámico ha llegado a ser una herramienta importante para prever y adaptar el comportamiento de los cultivos según distintas condiciones de operación. Un ejemplo destacado es el estudio de Du y Zhong (2018), quienes utilizaron esta técnica para optimizar la producción de ansamitocina P-3. Con ajustes precisos en la tasa de alimentación del sustrato, lograron no solo mejorar la

eficiencia en el uso de recursos, sino también reducir el desperdicio de nutrientes y aumentar significativamente la productividad [14].

Modo de operación más utilizada a escala de biorreactor

Los fermentadores en modo de operación lote alimentado se ha consolidado como una de las estrategias más eficientes en la biotecnología industrial para aumentar la producción de metabolitos. A diferencia de los cultivos por lotes, donde los nutrientes se añaden solo al principio, este método permite introducir los sustratos de forma controlada a lo largo del proceso. Esto mejora mucho las condiciones del medio de cultivo y evita tanto escasez de nutrientes como la inhibición que pueden ocurrir por un exceso de estos [38].

Este enfoque es especialmente útil para producir metabolitos secundarios, ya que ayuda a lograr concentraciones más altas del producto final. En los cultivos lote, los nutrientes se agotan rápidamente, lo que puede frenar el crecimiento de las células y limitar la producción de los compuestos que buscamos. En cambio, al ir suministrando los sustratos de manera progresiva, la fermentación lote alimentado mantiene niveles adecuados, evita la formación de sustancias tóxicas y crea un ambiente más favorable para que las células funcionen mejor [39]. Además, en procesos donde ciertos metabolitos pueden acumularse o causar efectos inhibitorios, este sistema de alimentación ayuda a diluir esas sustancias, reduciendo su impacto negativo y mejorando el rendimiento general del proceso biotecnológico [40].

Numerosos estudios han reportado que las concentraciones finales de metabolitos en fermentación lote alimentado superan significativamente las obtenidas en cultivos por lotes. Este modo de operación no solo permite redirigir el metabolismo hacia rutas biosintéticas deseadas mediante el control de suministro de nutrientes, sino que presenta una alta viabilidad para ser escalado a nivel industrial [38].

Conclusión

Las estrategias avanzadas de alimentación como los cultivos en lote alimentado se han establecido como pilares esenciales para aumentar la productividad y mejorar la eficiencia en procesos biotecnológicos. Cuando estas se combinan con la optimización de variables operativas como el pH, la temperatura, el DO y la velocidad de agitación, permiten un uso más efectivo de los nutrientes, reducir la formación de subproductos no deseados y mantener la estabilidad de los cultivos sumergidos. Al crear un ambiente favorable, se favorece una canalización más eficiente de los recursos celulares hacia la producción del metabolito deseado. En este contexto, separar estratégicamente las fases de crecimiento celular y de producción metabólica, además de formular adecuadamente el medio de cultivos, juega un papel importante para maximizar el rendimiento del proceso. Por otro lado, el desarrollo y la implementación de tecnologías para el monitoreo en tiempo, junto con sistemas automáticos de alimentación, han mejorado de manera significativa el control de los procesos. Esta automatización ha permitido alcanzar una mayor precisión en las condiciones de cultivo, conduciendo a procesos más reproducibles, consistentes y fáciles de escalar a nivel industrial.

Referencias

- [1] Mohammad, M.; Ehsan, N. Control algorithms and strategies of feeding for fed-batch fermentation of *Escherichia coli*: a review of 40 years of experience. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. 2022, 52:7, 823-834,
- [2] Arias, M.; Angarita, M.; Aguirre, A.; Restrepo, J.; Montoya, C. Strategies for the improvement of secondary metabolites production in plan cell cultures. 2009, ISSN 0304-2847.
- [3] Ying, Y.; Ma, S. A Beginner's Guide to Bioprocess Modes Batch, Fed Batch, and Continuous Fermentation. *Eppendorf Inc., Enfield, CT, USA*. 2009.

- [4] Cardona-Galeano, W.; Ramirez-Malule, H.; Gómez-Ríos, D. Hybrids based on coumarins and their anticancer activities: A bibliometric análisis. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2023, 13(09), 204-212.
- [5] Gecse, G.; Labunskaitė, R.; Pedersen, M.; Kilstrup, M.; Johanson, T. Minimizing acetate formation from overflow metabolism in *Escherichia coli*: comparison of genetic engineering strategies to improve robustness toward sugar gradients in large-scale fermentation processes. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2024,12:1339054.
- [6] Karapatsia, A.; Penloglou, G.; Chatzidoukas, C.; Kiparissides, C. Fed-batch *Saccharomyces cerevisiae* fermentation of hydrolysate sugars: A dynamic model-based approach for high yield ethanol production. *Biomass and Bioenergy*. 2016, 90, 32-41.
- [7] Wei, Z.H.; Chen, N.; Li, Y.J.; Fan, Q.L.; Yu, T.-F.; Wang, K.X.; Dong, B.T.; Fan, E.Y.; Yuan, P.L.; Hu, G.W.; Qiao, F.; Ge, L.; Deng, Y.Y.; Lvc, Ya-ning.; Huc, Ben-feng., Liu, L. Glucose fed-batch integrated dissolved oxygen control strategy enhanced polysaccharide, total triterpenoids and inotodiol production in fermentation of a newly isolated *Inonotus obliquus* strain. *Process Biochemistry*. 2018, 66, 1-6.
- [8] Wei, X.; Liu, C.; An, F.; Lu, Y. Induced effect of Ca^{2+} on curvulamine synthesis by marine-derived fungus *Curvularia sp.* IFB-Z10 under submerged fermentation. *Process Biochemistry*. 2019, 83, 18-26.
- [9] Anand, S.; Srivastava, P. Optimization Strategies for Purification of Mycophenolic Acid Produced by *Penicillium brevicompactum*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2020, 191:867–880.
- [10] Lu, P.; Wu, A.; Zhang, S.; Bai, J.; Guo, T.; Lin, Q.; Liu, J. Triton X-100 supplementation regulates growth and secondary metabolite biosynthesis during in-depth extractive fermentation of *Monascus purpureus*. *Journal of Biotechnology*. 2021, 341, 137-145.

- [11] Zeng, X.; Yue, C.; Ding, Z.; Li, F.; Wang, L.; Su, Z.; Zeng, H.; Zhang, B.; Li, F.; Zhu, M. Waste cooking oil: New efficient carbon source for natamycin production by *Streptomyces gilvosporeus* Z8. *Process Biochemistry*. 2022, 118, 294-306.
- [12] Nutaratat, P.; Srisuk, N.; Arunrattiyakorn, P.; Limtong, S. Fed-batch Fermentation of Indole-3-acetic Acid Production in Stirred Tank Fermenter by Red Yeast *Rhodospiridium paludigenum*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2016, 21: 414-42.
- [13] Beckmann, A.; Hüttel, S.; Schmitt, V.; Müller, R.; Stadler, M. Optimization of the biotechnological production of a novel class of anti-MRSA antibiotics from *Chitinophaga sancti*. *Beckmann et al. Microb Cell Fact*. 2017, 16:143.
- [14] Du, Z.Q.; Zhong, J.J. Rational approach to improve ansamitocin P-3 production by integrating pathway engineering and substrate feeding in *Actinosynnema pretiosum*. *Biotechnology and Bioengineering*. 2018;115: 2456-2466.
- [15] Kumokita, R.; Bamba, T.; Inokuma, K.; Yoshida, T.; Ito, Y.; Kondo, A.; Hasunuma, T. Construction of an L-Tyrosine Chassis in *Pichia pastoris* Enhances Aromatic Secondary Metabolite Production from Glycerol. *ACS Biología Sintética*. 2022, 11 (6), 2098-2107.
- [16] Cho, M.K.; Lee, B.T.; Hyun Uk Kim.; Min-Kyu Oh. Systems metabolic engineering of *Streptomyces Venezuelae* for the enhanced production of pikromycin. *Biotechnology and Bioengineering*. 2022, 119, 2250–2260.
- [17] Wang, Z.; Dai, Y.; Azi, F.; Wang, Z.; Xu, W.; Wang, D.; Dong, M.; Xia, X. Engineering *Escherichia coli* for cost-effective production of medium-chain fatty acids from soy whey using an optimized galactose-based autoinduction system. *Bioresource Technology*. 2024, 393, 130145.
- [18] Gugel, I.; Vahidinasab, M.; Benatto, E.H.; Hiller, E.; Marchetti, F.; Costa, S.; Pfannstiel, J.; Konnerth, P.; Vertuani, S.; Manfredini, S.; Hausmann, R. Fed-Batch Bioreactor Cultivation of *Bacillus subtilis* Using Vegetable Juice as an Alternative Carbon

Source for Lipopeptides Production: A Shift towards a Circular Bioeconomy. *Fermentation*. 2024, 10, 323.

[19] Kargar, S.; Takloo, S.M.; Jalili, H.; NoorMohammedi, J.; Babaei, A.; Bizukoje, M. Lovastatin production by *Aspergillus terreus* in membrane gradient bioreactor with two-stage feeding strategy. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. 2023, 53:3, 247-254.

[20] Zhang, Y.; Jiao, R.; Lu, Y.; Yao, L. Improvement of chaetominine production by tryptophan feeding and medium optimization in submerged fermentation of *Aspergillus fumigatus* CY018. *Bioresour. Bioprocess*. 2016, 3:45.

[21] Wang, X.L.; Yang, H.; Liu, G.Q. Enhanced triterpene acid production by *Ganoderma lucidum* using a feeding stimulus integrated with a two-stage pH-control strategy. *J Chem Technol Biotechnol*. 2016; 91: 2974–2982.

[22] Liu, C.Q.; Wei, X.C.; An, F.L.; Lu, Y.H. Ammonium Acetate Supplement Strategy for Enhancement of Chaetominine Production in Liquid Culture of Marine-Derived *Aspergillus fumigatus* CY018. *J. Microbiol. Biotechnol*. 2019, 29(4), 587–595.

[23] Stanley, A.; Punil-Kumar, H.N.; Mutturi, S.; Vijayendra, S.V.N. Fed-Batch Strategies for Production of PHA Using a Native Isolate of Halomonas venusta KT832796 Strain. *Appl Biochem Biotechnol*. 2018, 184:935–952.

[24] Fields, F.J.; Ostrand, J.T.; Mayfield, S.P. Fed-batch mixotrophic cultivation of *Chlamydomonas reinhardtii* for high-density cultures. *Algal Research*. 2018, 33, 109-117.

[25] Zhuang, Z.; Zhang, L.; Yang, C.; Zhu, D.; Mao, Q.; Wang, Q.; Gao, S. Enhanced lincomycin A production by calcium gluconate feeding in fermentation of *Streptomyces lincolnensis*. *Bioresour. Bioprocess*. 2019, 6:31.

[26] Ronny Hung, Y.H.; Chae, M.; Sauvageau, D.; Bressler, D. Adapted feeding strategies in fed-batch fermentation improve sugar delivery and ethanol productivity. *Bioengineered*. 2023, 14:1, 2250950

[27] Silva, C.; Kamen, A.; Henry, O. Fed-batch strategies for intensified Rvsv vector production in high cell density cultures of suspensión HEK293 cells. *Biotechnology progress*. 2024, e3506

[28] Akkoyunlu, B., Daly, S., Syron, E., & Casey, E. Fermentation strategies for PHB production in a novel membrane bioreactor: Investigating batch and fed-batch operations. *Biochemical Engineering Journal*. 2024, 204, 109239.

[29] Wei1, X.C., Liu, C.Q., Zhang, R.Y., Zheng, G.F., An, F.L., & Lu, Y.H. Improvement of Curvulamine Production by Precursors Co-addition Strategy in Liquid Culture of Marine-Derived Fungus *Curvularia* sp. IFB-Z10. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2020, 190,73–89.

[30] Kouchesfahani, M.E.; Bahrami, A.; Babaeipour, V. Poly- γ -glutamic acid overproduction of *Bacillus licheniformis* ATCC 9945a by developing a novel optimum culture medium and glutamate pulse feeding using different experimental design approaches. *Biotechnol Appl Biochem*. 2024, 71:565–583.

[31] Patel, G.; Biswas, K.; Patil, M.D.; Chisti, Y.; Banerjee, U.C. Bioreactor studies of production of mycophenolic acid by *Penicillium brevicompactum*. *Biochemical Engineering Journal*. 2018, 140, 77-84.

[32] Aziz, N.; Huong, K.H.; Sipaut, C.S.; Amirul, A.A. A fed-batch strategy to produce high poly(3-hydroxybutyrate co-3-hydroxyvalerate-co-4-hydroxybutyrate) terpolymer yield with enhanced mechanical properties in biorreactor. *Bioprocess Biosyst Eng*. 2017, 40:1643–1656.

[33] Sharma, S.; Verma, R.; Dhull, S.; Maiti, S.K.; Pandey, L.T. Biodegradation of waste cooking oil and simultaneous production of rhamnolipid biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* P7815 in batch and fed-batch biorreactor. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2022, 45:309–319.

- [34] Kafle, S.R.; Kushwaha, A.; Goswami, L.; Maharjan, A.; Kim, B.S. A holistic approach for process intensification of nicotinamide mononucleotide production via high cell density cultivation under exponential feeding strategy. *Bioresource Technology*. 2023, 390, 129911.
- [35] Fouchécour, F.; Lemarchand, A.; Spinnler, H. É.; Saulou-Bérion, C. Efficient 3-hydroxypropionic acid production by *Acetobacter sp.* CIP 58.66 through a feeding strategy based on pH control. *AMB Expr.* 2021, 11:130.
- [36] Sharma, K.; Srivastava, A. K.; Sreekrishnan, T. R. Model-based Optimization of Biopolymer Production from Glycerol. *Biochemical, Engineering and Biotechnology*. 2021, 35 (1), 65-80.
- [37] [72] Instituto Tecnológico de Tijuana. (s.f.). *Memorias del XII Simposio Internacional: Investigación Química en la Frontera, Vol. 2, No. 1, Noviembre 2021 – Octubre 2023*. Instituto Tecnológico de Tijuana, Tijuana, B.C., México.
- [38] Yang, Y.; Sha, M. A Beginner's Guide to Bioprocess Modes – Batch, Fed Batch, and Continuous Fermentation. *Eppendorf Inc., Enfield, CT, USA*. S.f.
- [39] Lopez S. Advantages, Disadvantages and Applications of Fed Batch Fermentation. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited. *Ferment Technol.* 2023, 12:161.
- [40] Habicher, T.; Arian, J.A.; Scholl, N.; Daub, A.; Klein, T.; Philip, P.; Büchs, J. Introducing substrate limitations to overcome catabolite repression in a protease producing *Bacillus licheniformis* strain using membrane-based fed-batch shake flasks. *Biotechnol Bioeng.* 2019, 116(6):1326-1340.