



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

**AJUSTE DE DATOS EXPERIMENTALES DE PROCESOS
FERMENTATIVOS MEDIANTE EL EMPLEO DE
MODELOS NO ESTRUCTURADOS**

TESIS PRESENTADA POR

GILBERTO TOLEDO CHÁVEZ

**A LA FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE**

INGENIERO QUÍMICO

MORELIA, MICHOACÁN

SEPTIEMBRE 2006

GLOSARIO

Biomasa: cantidad de materia viva. Es la cantidad de materia en los organismos por unidad de superficie o volumen expresado en unidad de peso. Masa de material viviente.

Fase lag: periodo después de la inoculación, antes de que empiece a crecer un cultivo.

Inocular: Verter bacterias u hongos directamente en un medio con nutrientes para cultivarlas y estudiarlas.

Lisis: Lisis es sinónimo de rotura. Ejemplo lisis de la membrana celular de una bacterias quiere decir que la membrana celular de una bacteria se rompe por alguna razón y queda libre al medio que había en el interior.

Metabolismo endógeno: Es la degradación de sustancias del propio organismo.

Modelo: es una formulación que imita un fenómeno del mundo real y por medio del cual podemos efectuar predicciones. Estos pueden ser verbales, gráficos y numéricos.

Nutriente: aquello que es causa del aumento, actividad o vigor de algún organismo o grupo de ellos. Incluye generalmente fosfatos, nitratos, silicatos, cobre, manganeso, cobalto, hierro.

Parámetro: Constante numérica cuyo valor caracteriza a un miembro de un sistema. Como función matemática, es una cantidad a la cual el operador puede asignarle un valor arbitrario, se distingue de variable, la cual puede tomar sólo aquellos valores que haga la función posible.

Varianza: Dispersión que presenta un conjunto de datos en torno a la media. Medida de dispersión de los datos con respecto al promedio.

ÍNDICE DE CONTENIDO

		Página
GLOSARIO		I
LISTA DE FIGURAS		IV
LISTA DE TABLAS		V
NOMENCLATURA		VI
RESUMEN		X
AGRADECIMIENTOS		XII
CAPITULO 1	INTRODUCCION	1
1.1	Generalidades	1
1.2	Antecedentes	3
1.2.1	Modelos para la descripción de cinéticas	4
1.3	Justificación	9
1.4	Objetivos	9
1.4.1	Objetivo general	9
1.4.2	Objetivos particulares	9
1.5	Hipótesis de investigación	10
CAPITULO 2	DESARROLLO DEL TRABAJO	11
2.1	Desarrollo algebraico de los modelos matemáticos	11
2.2	Metodología de ajuste de los modelos de gompertz (de dos y de tres parámetros) y logístico.	25
2.2.1	Regresión no lineal simple.	25
2.2.2	Procedimiento de cálculo.	26
2.3	Implementación de los modelos en Matlab®.	30
2.4	Datos experimentales empleados.	36
CAPITULO 3	RESULTADOS	37
3.1	Ajuste de datos de cinéticas de crecimiento.	37

		Página
3.1.1	Aplicación de la prueba F para la discriminación entre modelos.	37
3.2	Parámetros obtenidos.	39
CAPITULO 4	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	45
4.1	Conclusiones	45
4.2	Recomendaciones	45
BIBLIOGRAFÍA		46
APENDICE		49
A-1	Ajustes de las cinéticas involucradas en el proceso fermentativo para la producción de bikaverina.	49

LISTA DE FIGURAS

		Página
1.1	Representación de los procesos físicos y su interpretación matemática.	3
1.2	Curso de la biomasa, sustrato y producto para diferentes tipos de fermentaciones.	5
2.1	Mínimo local por el método de Nelder-Mead.	28
2.2	Diagrama de bloques del programa principal.	32
3.1	Ajuste de los datos experimentales para la cinética de crecimiento.	37
3.2.	Ajuste de las cinéticas para el proceso fermentativo para el experimento 12.	40
A-1- A15	Ajustes de las cinéticas para cada uno de los experimentos.	49

LISTA DE TABLAS

		Página
3.1	Resultados de la prueba F para los ajustes realizados con Matlab®.	38
3.2	Parámetros obtenidos para las cinéticas de crecimiento con el modelo de Gompertz de dos parámetros.	40
3.3	Parámetros obtenidos para las cinéticas de crecimiento con el modelo de Gompertz de tres parámetros	41
3.4	Parámetros obtenidos para las cinéticas de crecimiento con el modelo Logístico.	42
3.5	Parámetros estimados para la producción de bikaverina.	43

NOMENCLATURA

SIMBOLO		UNIDADES
a	Constante empírica del modelo de crecimiento para el modelo de Gompertz de tres parámetros.	h^{-1}
a	Constante empírica del modelo de crecimiento para el modelo Logístico.	$l \cdot h \cdot g^{-1}$
A	Variable para la integración por partes del modelo logístico	-
B	Variable para la integración por partes del modelo logístico	-
dp	Variación de la concentración de producto	g producto
ds	Variación de la concentración de sustrato	g sustrato
dt	Variación del tiempo	h
dx	Variación de la concentración de biomasa	g biomasa
F	Valor de distribución de probabilidad	-
GL_1	Grados de libertad para el modelo de mayor número de parámetros	-
GL_2	Grados de libertad para el modelo de menor número de parámetros	-
k	Constante de modelos de crecimiento	h^{-1}
m_s	Coefficiente de mantenimiento	g sustrato/g biomasa·h
n	Conjunto de datos experimentales	-
SC	Suma de cuadrados	-
SRC	Sumatoria de residuales al cuadrado	-
SRC_1	SRC para el modelo de mayor número de parámetros	-
SRC_2	SRC para el modelo de menor número de parámetros	-
t	Tiempo	h
x	Concentración de biomasa	$kg \cdot m^{-3}$
x_i	Correspondiente al conjunto de datos experimentales	-

	de la variable independiente	
x_0	Concentración de biomasa inicial	$\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$
y_i	Correspondiente al conjunto de datos experimentales de la variable independiente	-
$Y_{x/s}$	Coefficiente de rendimiento para carbono	g biomasa/g dextrosa
$Y_{x/n}$	Coefficiente de rendimiento para nitrógeno	g biomasa/g nitrógeno
A'	Parámetro que evalúa el siguiente paso para obtener el que será reemplazado en el método de Nelder-Mead	-
B'	Parámetro que evalúa el siguiente paso para obtener el que será reemplazado en el método de Nelder-Mead	-
V_3	Valor inicial para los vértices del triangulo en el método de Nelder-Mead	-
V_2	Valor inicial para los vértices del triangulo en el método de Nelder-Mead	-
V_1	Valor inicial para los vértices del triangulo en el método de Nelder-Mead	-
T	Parámetro que engloba las constantes respectivas en el modelo que describe el consumo de nitrógeno de la ecuación 2.50	-
I	Parámetro que engloba las constantes respectivas en el modelo que describe el consumo de nitrógeno de la ecuación 2.50	-
R	Parámetro que engloba las constantes en el modelo que describe el consumo de nitrógeno de la ecuación 2.50	-
D	Parámetro que engloba las constantes respectivas en el modelo que describe el consumo de nitrógeno de la	-

	ecuación 2.55 previas a la integración	
C	Parámetro que engloba las constantes en el modelo que describe el consumo de nitrógeno de la ecuación 2.55 previas a la integración	-
L	Parámetro que engloba las constantes respectivas en el modelo que describe el consumo de nitrógeno de la ecuación 2.55 previas a la integración	-
U	Parámetro que engloba las constantes respectivas en el modelo que describe el consumo de sustrato de la ecuación 2.38 previas a la integración	-
V	Parámetro que engloba las constantes respectivas en el modelo que describe el consumo de sustrato de la ecuación 2.38 previas a la integración	-
W	Parámetro que engloba las constantes respectivas en el modelo que describe el consumo de sustrato de la ecuación 2.38 previas a la integración	-

SÍMBOLOS GRIEGOS

α	Parámetro asociado al crecimiento de la ecuación 1.6	-
$\hat{\alpha}$	Valor que determina la bondad de un modelo de la ecuación 2.71	-
β	Parámetro no asociado al crecimiento de la ecuación 1.6	h^{-1}
μ	Constante específica de velocidad de crecimiento	h^{-1}
μ_o	Constante específica de velocidad de crecimiento inicial	h^{-1}
$\mu_{m\acute{a}x.}$	Constante específica de velocidad de crecimiento máxima	h^{-1}
β_0	Parámetro correspondiente un modelo lineal de la ecuación 2.68	-
β_1	Parámetro correspondiente asociado a una función no lineal de la ecuación 2.68	-

β_2

Parámetro correspondiente asociado a una función no lineal de la ecuación 2.68

-

RESUMEN

AJUSTE DE DATOS EXPERIMENTALES DE PROCESOS FERMENTATIVOS MEDIANTE EL EMPLEO DE MODELOS NO ESTRUCTURADOS.

Presenta: Gilberto Toledo Chávez

Es importante entender la cinética de crecimiento microbiano para el diseño y operación de sistemas de fermentación. Los modelos son empleados para describir el comportamiento del microorganismo bajo diferentes condiciones físicas y químicas tales como la temperatura, el pH y la actividad del agua. Estos modelos permiten la predicción de la seguridad microbiana o la vida de anaquel de los productos, la detección de partes críticas de los procesos de producción y distribución y la optimización de cadenas de distribución y producción. Los modelos matemáticos facilitan el análisis de datos y pueden proporcionar una estrategia para resolver problemas encontrados en procesos de fermentación industrial. El presente estudio tiene la finalidad de desarrollar programas que ajusten datos experimentales de cinéticas de fermentaciones, arrojándonos parámetros importantes para la adecuada descripción del proceso de fermentación, tales como rendimientos de consumo de sustratos, constantes de velocidad de crecimiento máxima, parámetros para la formación de producto, entre otros. Los modelos matemáticos programados en MATLAB para la obtención de los parámetros de las cinéticas de las fermentaciones analizadas ajustaron de manera satisfactoria los datos experimentales y los residuales no mostraron tendencia alguna. De la comparación con el programa GREG en Fortran se encontró que los parámetros y los residuales son similares, además el empleo de la prueba F permitió discriminar entre los modelos estudiados para el ajuste de la concentración de biomasa. El modelo de Gompertz de dos parámetros fue seleccionado por la prueba F y éste se utilizó para ajustar las cinéticas de consumo de sustrato y formación de producto.

Dirigida por: Dra. Ma. Del Carmen Chávez Parga

SUMMARY

EXPERIMENTAL DATA FITTING FROM FERMENTATIVE PROCESSES BY MEANS OF NON-STRUCTURED MODELS

By: Gilberto Toledo Chávez

It is important to understand the microbial growth kinetics for the design and operation of fermentation systems. Models are employed to describe the behaviour of the microorganism under different physical and chemical conditions as the temperature, the pH and the water activity. These models allow the prediction of the microbial security or the shelf life of products, the detection of critical parts of the production and distribution processes and the optimization of distribution and production chains. Mathematical models ease the data analysis and they can provide a strategy to solve problems found in industrial fermentation processes. The present study has the purpose of developing programs that fit experimental data from fermentations kinetics, yielding important parameters for the appropriate description of the fermentation process, such as substrate consumption yields, maximum growth rate constants, parameters for the product formation, among others. Programmed mathematical models in MATLAB to obtain kinetic parameters from the analyzed fermentations fitted in a satisfactory way the experimental data and the residuals did not show any tendency. From the comparison with the GREG program in Fortran it was found that the parameters and the residuals are similar, besides the use of the F test allowed to discriminate between studied models for the biomass concentration fitting. The two-parameter Gompertz model was selected by the F test and it was used to fit substrate consumption and product formation kinetics.

Adviser: Dra. Ma. Del Carmen Chávez Parga

AGRADECIMIENTOS

A mi familia :

Gilberto Toledo Sepúlveda.

Elia Chávez Ceja.

Cecilia Toledo Chávez.

Francisco Javier Valencia Gutiérrez.

Bernardo Toledo Chávez.

Salvador Toledo Chávez.

Samuel Toledo Chávez.

por sus esfuerzos y apoyo para concluir esta etapa tan importante de mi vida.

De manera muy especial a la Dra. Maria del Carmen Chávez Parga, por su apoyo incondicional y disposición en la culminación de este trabajo.

Al comité de revisión de tesis por sus acertadas observaciones sobre el escrito:
M.M.E Maria del Rosario Gallardo Reyes, Dra. Maria del Carmen Chávez Parga,
Dra. Mariana Ramos Estrada y al Dr. Javier Lara Romero.

A mis compañeros de generación, por su amistad y apoyo moral, especialmente a:

Antonio García Martínez.

Filiberto Alvarado Montoya.

Carlos Alberto De la Peña Gutiérrez.

Julián López Tinoco.

Mario Rodríguez Mendoza.

A mis amigos y familiares.

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 Generalidades.

Los métodos numéricos constituyen técnicas mediante las cuales es posible formular problemas matemáticos, de tal forma que pueden resolverse utilizando operaciones aritméticas. Aunque existen diferentes tipos de métodos numéricos, estos comparten una característica en común, invariablemente requieren de un gran número de cálculos aritméticos repetitivos, de aquí surge la necesidad de hacer uso de una herramienta computacional. Ya que ahora contamos con las computadoras, por qué no hacer uso eficiente de ellas, las computadoras y los métodos numéricos nos ofrecen una alternativa para los cálculos complicados. Al usar la potencia de la computadora se obtienen soluciones directamente, de esta manera se pueden aproximar los cálculos sin tener que recurrir a consideraciones de simplificación o técnicas muy lentas.

Y aunque las soluciones analíticas aún son muy valiosas, tanto para resolver problemas como para brindar una mayor comprensión, los métodos numéricos presentan opciones que aumentan, en forma considerable, la capacidad de enfrentar problemas y por supuesto también resolverlos; como resultado, se dispone de más tiempo para otras actividades. Por tanto, podremos dedicar mayor tiempo a la formulación de un problema y a la respectiva interpretación de la solución.

Por lo que respecta a las ciencias experimentales uno de los problemas que se presentan con frecuencia, consiste en obtener un modelo matemático que relacione dos o más variables a partir de un número limitado de observaciones experimentales. En la mayor parte de los fenómenos que son objeto de investigación experimental no es posible deducir una relación exacta entre las variables involucradas pues la dependencia perfecta no existe en la naturaleza.

En cualquier caso, es frecuente observar una dependencia aproximada entre las variables que es posible expresar de forma analítica (por medio de una función). Este tipo de dependencia se denomina correlación; de esta forma, dos variables (por ejemplo, peso y estatura) se dice que guardan o que tienen correlación cuando es posible encontrar una relación funcional que expresa aproximadamente una en términos de la otra. Los casos extremos de esta situación son la dependencia funcional exacta en la que la función describe fielmente las observaciones y la independencia que es la situación opuesta: no existe una función que se ajuste a los datos observados.

En muchas ocasiones, los resultados obtenidos de los datos se interpretan mejor con ayuda de una representación gráfica. Además, este procedimiento muestra una tendencia que permite estimar los valores en otros puntos diferentes a los experimentales o demuestra una determinada relación matemática entre las variables representadas.

El desarrollo de modelos matemáticos es una aproximación ampliamente utilizada con el fin de analizar, comprender y predecir el funcionamiento de cualquier sistema en función de las condiciones que rigen su dinámica. En las últimas décadas, el nivel de desarrollo de estos modelos ha evolucionado de forma paralela al nivel de conocimiento de los procesos que los rigen y sobre todo, han alcanzado una gran popularidad en disciplinas tales como la biología, la ecología, la física, la química y la economía.

Debido al creciente interés en el desarrollo de este tipo de modelos se planteó la realización de programas orientados al modelado práctico en el campo de la bioquímica, aunque aplicable a cualquier otra disciplina. En la Figura 1.1 se representa la relación que existe entre el comportamiento de un proceso físico y el modelado matemático.

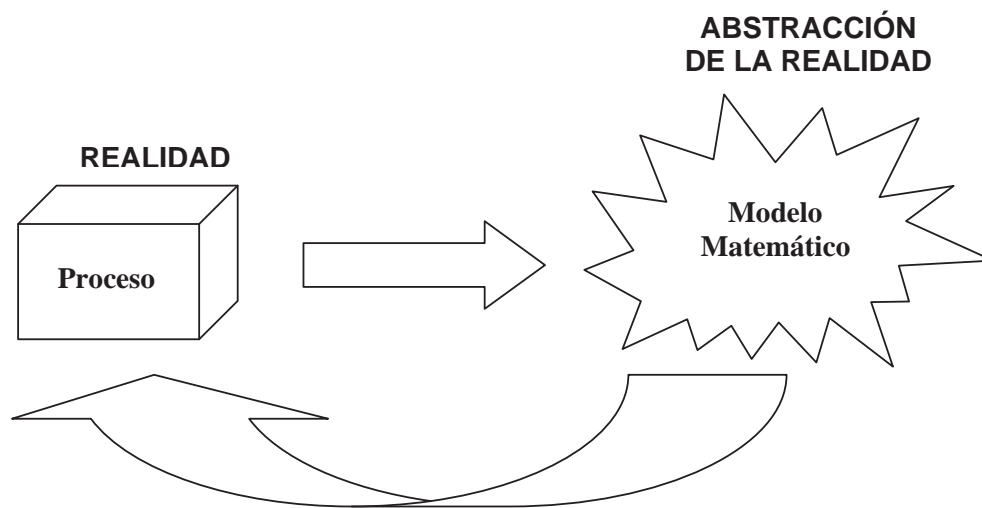


Figura 1.1. Representación de los procesos físicos y su interpretación matemática.

1.2 Antecedentes.

De forma general los datos de experimentos son factibles de ser descritos bastante bien por alguna teoría y/o comparables con antecedentes previos al respecto. Las descripciones teóricas, al ser confrontadas con datos experimentales, presentan uno o más parámetros, los cuales permiten intentar reproducir los datos, y si es el caso, efectuar extrapolaciones y/o interpolaciones. Este proceso de búsqueda de parámetros es lo que denominamos ajuste de datos.

Al conjunto de datos experimentales tal como se obtuvieron en el laboratorio se le denomina conjunto de datos brutos, esto es, en sí no son de mucha utilidad pero son la base de lo que será el análisis posterior. Los datos brutos son manejados, estadísticamente, identificando distribuciones, promedios, desviaciones, etc., dando origen a un segundo conjunto de información experimental. Este proceso se denomina reducción de datos, entregando como resultado el conjunto de datos

obtenidos del experimento propiamente tal, y es este conjunto de informaciones el que será usado para su análisis, en el contexto de alguna teoría.

1.2.1 Modelos para la descripción de cinéticas.

Los modelos matemáticos facilitan el análisis de datos y pueden proporcionar una estrategia para resolver problemas encontrados en procesos de fermentación industrial.

¿Por qué se modela?

Se modela porque nos permite hacer las siguientes actividades:

- Diseñar
- Optimizar
- Conducir un sistema
- Controlar procesos

En la Figura 1.2 se muestra el curso de una fermentación. Con respecto a la biomasa, el proceso puede dividirse en una fase *lag* inicial, una fase de crecimiento, una fase estacionaria y una fase de muerte. La fase *lag* inicial se debe a fenómenos regulatorios de los microorganismos como una adaptación de la propagación a las condiciones en el fermentador. Después de esto, puede observarse el crecimiento exponencial. En ambos casos el sustrato está en exceso. En la parte final del proceso, la limitación de sustrato, la inhibición por producto u otro fenómeno llevan a la fase estacionaria con una velocidad de crecimiento igual a cero. A lo anterior le sigue una fase de declinamiento en la que la biomasa disminuye debido a la lisis o al metabolismo endógeno.

El comportamiento es más complicado cuando se considera la concentración de producto, que generalmente se clasifica en tres tipos. En las fermentaciones del tipo I, el crecimiento y la formación de producto se encuentran completamente asociadas. Por lo tanto, el producto aumenta proporcionalmente con la velocidad de crecimiento y no se presenta una fase de producción separada.

En las fermentaciones del tipo II se presenta también un cierto acoplamiento pero la interrelación sigue una cinética más complicada que separa las fases de crecimiento y de producto.

Las fermentaciones del tipo III representan la producción de metabolitos secundarios en la que no existe una conexión simple entre la producción del metabolito secundario y el metabolismo primario. La mayoría de los procesos de producción de antibióticos se agrupan en este tipo.

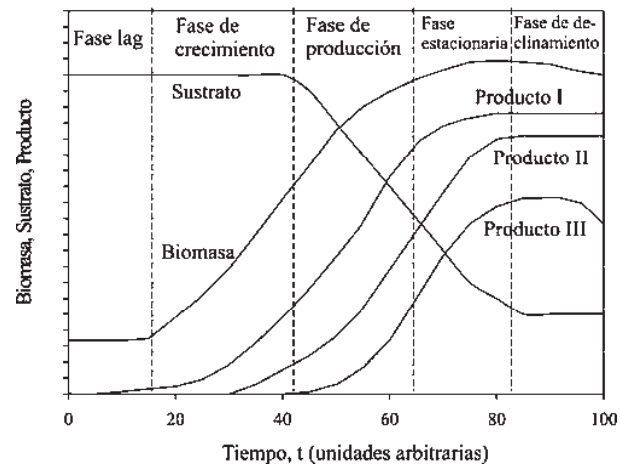


Figura 1.2. Curso de la biomasa, sustrato y producto para diferentes tipos de fermentaciones.

La función de los modelos biológicos es describir las velocidades de reacción metabólicas y su estequiometría con base en las condiciones anteriores y actuales del fermentador. Debido a la complejidad metabólica, todos los modelos deben ser una burda simplificación de la realidad.

La dificultad principal para el modelado es la identificación de los factores más importantes que influyen en el proceso de crecimiento y encontrar una estructura del modelo apropiado para los procesos intracelulares. De acuerdo a esto, los modelos biológicos o modelos de crecimiento se dividen en estructurados y no estructurados.

Los modelos no estructurados son los más simples. Estos modelos toman la biomasa como una cantidad uniforme sin dinámica interna cuya velocidad de reacción depende solamente de las condiciones en la fase líquida del biorreactor. Por lo tanto, los modelos solamente contienen cinéticas de crecimiento, consumo de sustratos y formación de productos.

Esto es una buena aproximación si el tiempo de respuesta de la célula a cambios ambientales es muy pequeño o muy grande comparado con la duración del proceso fermentativo. Es de esperarse que el potencial descriptivo de los modelos biológicos no estructurados sea limitado. Solamente el comportamiento del crecimiento promedio del cultivo se describe tomando en cuenta un promedio de la población de células y un tiempo promedio sobre el ciclo de división celular. En muchos casos esta simplificación es razonable porque es imposible tener un conocimiento exacto de la composición heterogénea de la biomasa y del estado de los sistemas intracelulares. Pero la simplificación puede causar también errores en el comportamiento estático y dinámico del modelo.

Para incluir algunos de los efectos anteriores y si el tiempo de relajación celular es de la misma magnitud de la duración del proceso, debe también considerarse el estado interno de las células. Esto lleva a los llamados modelos estructurados. Los modelos pueden estructurarse con base en los componentes de la biomasa tales como concentración de metabolitos, enzimas, RNA o por variables relacionadas a la población que describen las diferentes morfologías de las células y su envejecimiento.

Los modelos no estructurados mayormente empleados para describir la cinética de crecimiento son los modelos de Gompertz de dos (ecuación 1.1) y tres parámetros (ecuación 1.2), el modelo de Monod (ecuación 1.3) y el modelo Logístico (ecuación 1.4) (Gelmi y col., 2002; Shukla y col. 2005; Znad y col., 2004; Tavares y col., 2005).

$$\frac{dx}{dt} = kxe^{-\mu t} \quad (1.1)$$

$$\frac{dx}{dt} = kxe^{-\mu t} - ax \quad (1.2)$$

$$\frac{dx}{dt} = \frac{\mu_{m\acute{a}x} \cdot x \cdot s}{K_s + s} \quad (1.3)$$

$$\frac{dx}{dt} = kx - ax^2 \quad (1.4)$$

El modelo de Monod se encuentra asociado al consumo de sustrato limitante mientras que el resto solo depende del tiempo (Bailey y Ollis, 1986).

Para complementar lo que ocurre en el sistema se debe conocer la cinética de consumo de sustrato.

La ecuación 1.5 representa el consumo de la fuente de carbono y de la fuente de nitrógeno (Gelmi y col., 2002; Bailey y Ollis, 1986) . Ésta considera un cambio en la concentración debido al consumo paralelo de sustrato para crecimiento y para mantenimiento celular:

$$\frac{ds}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dx}{dt} - m_s \cdot x \quad (1.5)$$

Como se mencionó anteriormente existen tres tipos de formación de producto que son:

- Formación de producto asociada al crecimiento.
- Formación de producto mixta.
- Formación de producto no asociado al crecimiento.

El modelo de Leudeking-Piret (ecuación 1.6) combina las contribuciones asociadas al crecimiento y no asociadas al crecimiento. Esta expresión cinética de dos parámetros ha probado ser útil y versátil en el ajuste de datos de formación de producto de diferentes fermentaciones (Znad y col., 2004; Chávez y col., 2005; Tavares y col., 2005).

$$\frac{dp}{dt} = \alpha \frac{dx}{dt} + \beta x \quad (1.6)$$

Es importante señalar que es posible discriminar entre varios modelos estadísticamente. No es suficiente con comparar la sumatoria de residuales al cuadrado (*SRC*) que genera cada modelo ya que, generalmente, el modelo que tenga un mayor número de parámetros propiciará una menor *SRC*. Bajo esta premisa, la comparación se basa en determinar si vale la pena utilizar más parámetros para disminuir la *SRC*. Por lo anterior, los ajustes de los datos experimentales obtenidos por los diversos modelos estudiados pueden ser comparados estadísticamente mediante una prueba *F*.

La comparación de modelos se desarrolla bajo la suposición de que el modelo de mayor número de parámetros predice de manera exacta la concentración de biomasa en cualquier momento. Para hacer esto se calcula lo siguiente:

$$f = \frac{(SRC_2 - SRC_1)/(GL_2 - GL_1)}{SRC_1/GL_1} \quad (1.7)$$

Donde: SRC_2 es el valor de la *SRC* para el modelo de menor número de parámetros, SRC_1 es el valor de la *SRC* para el modelo de mayor número de parámetros, GL_1 son los grados de libertad para el modelo de mayor número de parámetros y GL_2 son los grados de libertad para el modelo de menor número de parámetros. Este valor *f* se compara con un valor de una tabla *F*. Si *f* es menor que *F* entonces no vale la pena contar con un parámetro adicional, de lo contrario el modelo de mayor número de parámetros debe ser seleccionado. Este análisis es una aproximación debido a la comparación de modelos no lineales y ha sido utilizado por Zwietering y col. (1990) y Chávez-Parga y col. (2005) para la discriminación entre modelos. De acuerdo al número de experimentos que sean aceptados por la prueba *F* se procederá a seleccionar el modelo que describa la cinética de crecimiento.

1.3 Justificación.

El desarrollo de modelos matemáticos facilita el análisis de datos experimentales y proporciona información útil que describa adecuadamente el escalamiento de los procesos.

En la literatura no se ha reportado el ajuste de las cinéticas obtenidas durante la producción de bikaverina a nivel matraz. Además que los modelos que han sido desarrollados no están disponibles para el uso en el ajuste de otros procesos de fermentación.

Aun cuando en la actualidad se dispone de herramientas computacionales y software comerciales, no se dispone, de modelos matemáticos que describan las cinéticas involucradas en los procesos fermentativos, tales como, producción de ácido giberélico y bikaverina, entre otros. Por ello es importante buscar alternativas de ajustes de datos experimentales para el desarrollo de programas computacionales de fácil manejo y bajo costo.

1.4 Objetivos.

1.4.1 Objetivo general.

Desarrollar programas en *MATLAB* que permitan el ajuste de datos experimentales a modelos no estructurados no acoplados al consumo de sustrato.

1.4.2 Objetivos particulares.

- Generar programas que permitan integrar numéricamente ecuaciones diferenciales ordinarias mediante el método de Runge-Kutta
- Ajustar datos experimentales de cinéticas de crecimiento utilizando modelos explícitos, de Gompertz de dos parámetros y de tres parámetros y el logístico.
- Ajustar datos experimentales de cinéticas de consumo de sustrato y formación de producto mediante el programa en *MATLAB* utilizando modelos implícitos integrados mediante el método de Runge-Kutta.

1.5 Hipótesis de investigación.

Con el uso de MATLAB se desarrollará un programa que contribuirá a la obtención de parámetros cinéticos involucrados en expresiones matemáticas que facilitarán el análisis de los resultados de procesos fermentativos.

CAPITULO 2

DESARROLLO DEL TRABAJO

2.1. DESARROLLO ALGEBRAICO DE LOS MODELOS

En este capítulo se presenta el desarrollo de los modelos algebraicos empleados para el desarrollo del programa en MATLAB.

La ecuación 2.1 muestra el modelo de Gompertz de dos parámetros.

$$\frac{dx}{dt} = kx \exp^{-\mu t} \quad (2.1)$$

donde: x es la concentración de biomasa (g/l), k es un parámetro cinético relacionado con la velocidad de crecimiento específica inicial (h^{-1}), μ es la velocidad de crecimiento específica (h^{-1}) y t es el tiempo (h). Esta considera un crecimiento autolimitado donde la velocidad decrece exponencialmente con el tiempo.

Integrando la función anterior nos queda:

$$\int_{x_0}^x \frac{dx}{x} = -\frac{k}{\mu} \int_0^t \mu \exp^{-\mu t} dt \quad (2.2)$$

Esto da como resultado:

$$\ln\left(\frac{x}{x_0}\right) = \left(-\frac{k}{\mu}\right) \exp^{-\mu t} + \frac{k}{\mu} \quad (2.3)$$

La cual es la ecuación que se usa para efectuar el ajuste que posteriormente se presenta con detalle.

Despejando la x (concentración de biomasa):

$$x = x_0 \exp\left(\frac{k}{\mu}(\exp^{-\mu t} - 1)\right) \quad (2.4)$$

La ecuación 2.5 muestra el modelo de Gompertz de tres parámetros.

$$\frac{dx}{dt} = kx \exp^{-\mu t} - ax \quad (2.5)$$

donde: x es la concentración de biomasa (g/l), k es un parámetro cinético relacionado con la velocidad de crecimiento específica inicial (h^{-1}), a es un parámetro cinético relacionado con la inhibición de crecimiento, μ es la velocidad de crecimiento específica (h^{-1}) y t es el tiempo (h).

La expresión 2.5 al igual que el modelo de Gompertz de dos parámetros (ecuación 2.1) considera un crecimiento autolimitado donde la velocidad decrece exponencialmente con el tiempo. En este caso se cuenta con un término extra que toma en cuenta la inhibición de crecimiento proporcional a la concentración de biomasa.

Haciendo los arreglos respectivos de la ecuación 2.5 se procede a integrarla:

$$\int_{x_0}^x \frac{dx}{x} = -\frac{k}{\mu} \int_0^t -\mu \exp^{-\mu t} dt - \int_0^t a dt \quad (2.6)$$

Una vez realizado lo anterior se procede a darle una forma lineal quedando de la siguiente manera:

$$\ln\left(\frac{x}{x_0}\right) = -\left(\frac{k}{\mu}\right) \exp^{-\mu t} + \left(\frac{k}{\mu}\right) - at \quad (2.7)$$

De la ecuación 2.7 se despeja la biomasa (x), para hacer uso de la ecuación más adelante.

$$x = x_0 \exp\left(-\frac{k}{\mu} \exp^{-\mu t} + \frac{k}{\mu} - at\right) \quad (2.8)$$

La ecuación 2.9 muestra el modelo *Logístico con dos parámetros*:

Este modelo describe el crecimiento exponencial con un factor de inhibición proporcional a la concentración de biomasa al cuadrado (x^2):

$$\frac{dx}{dt} = kx - ax^2 \quad (2.9)$$

A continuación se muestra la ecuación 2.9, separada de ambos lados de la ecuación, para su integración.

$$\int_{x_0}^x \frac{dx}{(kx - ax^2)} = \int_0^t dt \quad (2.10)$$

El polinomio del lado izquierdo de la ecuación 2.10, se separa por fracciones parciales para realizar su integración.

$$\frac{1}{x(k - ax)} = \frac{A}{x} + \frac{B}{k - ax} \quad (2.11)$$

Ahora multiplicamos ambos lados de la ecuación por $x(k - ax)$:

$$1 = A(k - ax) + Bx \quad (2.12)$$

Para encontrar los valores respectivos de A y B , se realiza lo siguiente:

$$\text{Dando el valor a } x = 0, \text{ obtenemos: } A = \frac{1}{k}$$

$$\text{Ahora bien si } x = \frac{k}{a}, \text{ obtenemos: } B = \frac{a}{k}$$

Una vez separado y agrupado el polinomio, se procede a integrar de manera simplificada la expresión:

$$\frac{1}{k} \int_{x_0}^x \frac{dx}{x} + \frac{a}{k} \int_{x_0}^x \frac{dx}{k-ax} = \int_0^t dt \quad (2.13)$$

Integrando y sustituyendo los límites de la integración se obtiene:

$$\frac{1}{k} [\ln(x) - \ln(x_0)] + \frac{a}{k} \left(-\frac{1}{a} \right) [\ln(k-ax) - \ln(k-ax_0)] = t \quad (2.14)$$

Aplicando las propiedades de logaritmos se tiene que:

$$\ln\left(\frac{x}{x_0}\right) - \ln\left(\frac{k-ax}{k-ax_0}\right) = kt \quad (2.15)$$

Para el caso de la resta de los dos logaritmos de la ecuación 2.15, se vuelve aplicar, propiedades de logaritmos, quedando como sigue:

$$\ln\left(\frac{x(k-ax_0)}{x_0(k-ax)}\right) = kt \quad (2.16)$$

Aplicado la exponencial a toda la ecuación 2.16 se obtiene la ecuación 2.17.

$$\frac{x(k-ax_0)}{x_0(k-ax)} = \exp^{kt} \quad (2.17)$$

En la ecuación 2.18, 2.19 y 2.20, se realiza lo que es el despeje de la biomasa (x):

$$xk - ax_0x = x_0k \exp^{kt} - x_0xa \exp^{kt} \quad (2.18)$$

$$x(k - ax_0 + ax_0 \exp^{kt}) = kx_0 \exp^{kt} \quad (2.19)$$

$$x = \frac{x_0k \exp^{kt}}{k - ax_0 + ax_0 \exp^{kt}} \quad (2.20)$$

Para obtener una forma de ecuación lineal, a la ecuación 2.20 se le aplica el inverso, a ambas partes de la ecuación.

$$\frac{1}{x} = \frac{k}{x_0 k \exp^{kt}} - \frac{ax_0}{x_0 k \exp^{kt}} + \frac{ax_0 \exp^{kt}}{x_0 k \exp^{kt}} \quad (2.21)$$

Simplificando:

$$\frac{1}{x} = \frac{\exp^{-kt}}{x_0} - \frac{a \exp^{-kt}}{k} + \frac{a}{k} \quad (2.22)$$

Ahora tenemos una ecuación, parecida (en cuanto a estructura) a la de una línea recta.

$$\frac{1}{x} = \left(\frac{1}{x_0} - \frac{a}{k} \right) \exp^{-kt} + \frac{a}{k} \quad (2.23)$$

Desarrollo del modelo para el consumo de dextrosa usando el modelo de *Gompertz de dos parámetros*.

La dificultad del desarrollo de los modelos comienza cuando se sustituye en las ecuaciones que describen las cinéticas de consumo de sustrato (dextrosa y nitrógeno) y formación de producto, la ecuación que describe la cinética de crecimiento ya que la integración analítica de las ecuaciones se complica, de ahí la importancia de contar con programas de cómputo que faciliten esta tarea.

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dx}{dt} - m_s x \quad (2.24)$$

En donde: x es la concentración de biomasa (g/l), S es la concentración de sustrato (g/l); t es el tiempo (h); $Y_{x/s}$ es el coeficiente de rendimiento (g de biomasa/g de dextrosa) y m_s el coeficiente de mantenimiento (g de sustrato/g de biomasa h).

Para el caso de la ecuación 2.24 aplicada al consumo de sustrato (dextrosa), en el termino en donde se encuentra la diferencial de la biomasa respecto al tiempo y la

biomasa, se sustituye la ecuación 2.1 y la 2.8 respectivamente, dando la ecuación 2.25.

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/s}} kx \exp^{-\mu t} - m_s x \quad (2.25)$$

Ahora en la ecuación 2.25, en donde se encuentra la biomasa (x) se sustituye de nuevo la ecuación 2.8:

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{k \exp^{-\mu t}}{Y_{x/s}} \left(x_0 \exp^{\left(\frac{-k}{\mu} (\exp^{(-\mu t)} - 1) \right)} \right) - \left(m_s x_0 \exp^{\left(\frac{-k}{\mu} (\exp^{(-\mu t)} - 1) \right)} \right) \quad (2.26)$$

Agrupando las constantes en un solo lado de la ecuación:

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{kx_0}{Y_{x/s}} \left(\exp^{-\mu t} \left(\exp^{\left(\frac{-k}{\mu} (\exp^{(-\mu t)} - 1) \right)} \right) \right) - \left(m_s x_0 \exp^{\left(\frac{-k}{\mu} (\exp^{(-\mu t)} - 1) \right)} \right) \quad (2.27)$$

Para simplificar la ecuación 2.27 se agrupan en una sola variable W y V las “constantes”, tales como $-kx_0/Y_{x/s}$ y $-m_s x_0$ respectivamente.

$$\frac{dS}{dt} = W \left(\exp^{-\mu t} \left(\exp^{\left(\frac{-k}{\mu} (\exp^{(-\mu t)} - 1) \right)} \right) \right) - \left(V \exp^{\left(\frac{-k}{\mu} (\exp^{(-\mu t)} - 1) \right)} \right) \quad (2.28)$$

Asignándole el nombre de f_1 y f_2 a cada función de la ecuación 2.28, dividida por el signo negativo, se obtiene la ecuación 2.29, la cual es mas sencilla de manipular.

$$\frac{dS}{dt} = Wf_1 + Vf_2 \quad (2.29)$$

Modelo para el consumo de dextrosa usando el modelo de *Gompertz de tres parámetros*:

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dx}{dt} - m_s x \quad (2.30)$$

Para el caso de la ecuación 2.30 se hace una sustitución igual al de la ecuación 2.25, esto quiere decir introducir la ecuación 2.5 y su ecuación despejada, en donde se encuentra la concentración de biomasa (x).

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/s}} (kx \exp^{(-\mu t)} - ax) - m_s x \quad (2.31)$$

Efectuando el manejo y el agrupamiento de las “constantes”.

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{kx \exp^{-\mu t}}{Y_{x/s}} + \frac{ax}{Y_{x/s}} - m_s x \quad (2.32)$$

Agrupadas las “constantes”, nos queda de la siguiente forma:

$$\begin{aligned} \frac{dS}{dt} = & -\frac{kx_0 \exp^{-\mu t}}{Y_{x/s}} \left(\exp \left(\frac{-k}{\mu} \exp^{(-\mu t)} + \frac{k}{\mu} - at \right) \right) + \frac{ax_0}{Y_{x/s}} \left(\exp \left(\frac{-k}{\mu} \exp^{(-\mu t)} + \frac{k}{\mu} - at \right) \right) + \\ & + m_s x_0 \left(\exp \left(\frac{-k}{\mu} \exp^{(-\mu t)} + \frac{k}{\mu} - at \right) \right) \end{aligned} \quad (2.33)$$

$$\frac{dS}{dt} = \left(\exp \left(\frac{-k}{\mu} \exp^{(-\mu t)} + \frac{k}{\mu} - at \right) \right) \left(\frac{-kx_0 \exp^{-\mu t}}{Y_{x/s}} + \frac{ax_0}{Y_{x/s}} - m_s x_0 \right) \quad (2.34)$$

Del mismo modo se agrupan todas las “constantes”, que ahora pasarían a ser los parámetros de búsqueda, para saber que es U , V , W . bastaría con ver de manera análoga a la ecuación 2.34.

$$\frac{dS}{dt} = \left(\exp^{\left(-\frac{k}{\mu} \exp(-\mu t) + \frac{k}{\mu} - at \right)} \right) (U \exp^{-\mu t} + V + W) \quad (2.35)$$

Del mismo modo se agrupan las funciones, una vez que se realiza la multiplicación del exponencial término a término de la ecuación 2.35.

$$\frac{dS}{dt} = f_1 U + f_2 (V + W) \quad (2.36)$$

Modelo para el consumo de dextrosa usando el modelo *logístico*:

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/s}} (kx - ax^2) - m_s x \quad (2.37)$$

Ahora para el modelo Logístico, del mismo modo que se sustituye en la ecuación 2.30, así como para la respectiva biomasa (x) obtenemos:

$$\begin{aligned} \frac{dS}{dt} = & \left(-\frac{k}{Y_{x/s}} \right) \left(\frac{1}{\left(\frac{1}{x_0} - \frac{a}{k} \right) \exp^{-kt} + \frac{a}{k}} \right) + \left(\frac{a}{Y_{x/s}} \right) \left(\frac{1}{\left(\frac{1}{x_0} - \frac{a}{k} \right) \exp^{-kt} + \frac{a}{k}} \right)^2 - \\ & - m_s \left(\frac{1}{\left(\frac{1}{x_0} - \frac{a}{k} \right) \exp^{-kt} + \frac{a}{k}} \right) \end{aligned} \quad (2.38)$$

Observando la similitud de la ecuación 2.39 con la 2.38, podremos saber como se agruparon las funciones, así como los parámetros.

$$\frac{dS}{dt} = Uf_1 + Wf_2 + Vf_1 \quad (2.39)$$

Por último se factoriza, para el caso de la función 1 (f_1), quedando:

$$\frac{dS}{dt} = f_1(U + V) + f_2W \quad (2.40)$$

Modelo para el consumo de nitrógeno usando el modelo de *Gompertz de dos parámetros*:

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/N}} \frac{dx}{dt} - m_N x \quad (2.41)$$

En donde: x es la concentración de biomasa (g/l), N es la concentración de nitrógeno (g/l); t es el tiempo (h); $Y_{x/N}$ es el coeficiente de rendimiento (g de biomasa/g de nitrógeno) y m_N el coeficiente de mantenimiento (g de nitrógeno/g de biomasa h).

Para la ecuación de consumo de nitrógeno, se efectúa un procedimiento similar al realizado en la ecuación 2.30, con la diferencia de que ahora se efectúa para la ecuación 2.41.

$$\frac{dx}{dt} = kx \exp^{-\mu t} \quad (2.42)$$

$$x = x_0 \exp\left(\frac{-k}{\mu}(\exp^{-\mu t} - 1)\right) \quad (2.43)$$

A continuación se muestra la sustitución que se realizó en la ecuación 2.41 con las ecuaciones 2.42 y 2.43.

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/N}} kx_0 \exp\left(\frac{-k}{\mu}(\exp^{-\mu t} - 1)\right) \exp^{-\mu t} + m_N x_0 \exp\left(\frac{-k}{\mu}(\exp^{-\mu t} - 1)\right) \quad (2.44)$$

Agrupando las constantes de la ecuación 2.44:

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{kx_0}{Y_{x/N}} \exp\left(\frac{-k}{\mu}(\exp^{(-\mu)}-1)\right) \exp^{-\mu} + m_N x_0 \exp\left(\frac{-k}{\mu}(\exp^{(-\mu)}-1)\right) \quad (2.45)$$

Del mismo modo se agrupan las funciones como se observa con respecto a la ecuación 2.45.

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{kx_0}{Y_{x/N}} f_1 + m_N x_0 f_2 \quad (2.46)$$

Luego entonces, las “constantes”, se agrupan en una para cada lado de la función las cuales son Z y Q.

$$\frac{dN}{dt} = Zf_1 + Qf_2 \quad (2.47)$$

Modelo para el consumo nitrógeno usando el modelo *de Gompertz de tres parámetros*:

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/N}} \frac{dx}{dt} - m_N x \quad (2.48)$$

Para el caso del modelo de Gompertz de tres parámetros (ecuación 2.5 y 2.20) se hace la sustitución en la ecuación 2.48

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/N}} \left(kx \exp^{-\mu} - ax \right) + m_N x_0 \exp\left(\frac{-k}{\mu} \exp^{(-\mu)} + \frac{k}{\mu} - at\right) \quad (2.49)$$

En donde tenemos la biomasa (x) se sustituye la ecuación 2.8

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/N}} \left(kx_0 \exp\left(\frac{-k}{\mu} \exp^{-\mu t} + \frac{k}{\mu} - at\right) \exp^{-\mu t} - ax_0 \exp\left(\frac{-k}{\mu} \exp^{-\mu t} + \frac{k}{\mu} - at\right) \right) + m_N x_0 \exp\left(\frac{-k}{\mu} \exp^{-\mu t} + \frac{k}{\mu} - at\right) \quad (2.50)$$

Agrupando las “constantes” y las funciones se obtiene una forma lineal y de esta manera aplicar el método de mínimos cuadrados.

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{kx_0}{Y_{x/N}} \exp^{-\mu t} \left(\exp\left(\frac{-k}{\mu} \exp^{-\mu t} + \frac{k}{\mu} - at\right) \right) + \frac{ax_0}{Y_{x/N}} \left(\exp\left(\frac{-k}{\mu} \exp^{-\mu t} + \frac{k}{\mu} - at\right) \right) + m_N x_0 \exp\left(\frac{-k}{\mu} \exp^{-\mu t} + \frac{k}{\mu} - at\right) \quad (2.51)$$

De la misma forma se aplica el agrupamiento de las “constantes” y las funciones de manera análoga con la ecuación 2.51.

$$\frac{dN}{dt} = Tf_1 + If_2 + Rf_3 \quad (2.52)$$

Modelo para el consumo de nitrógeno usando el modelo Logístico *de dos parámetros*:

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/N}} \frac{dx}{dt} - m_N x \quad (2.53)$$

Para el caso de logístico se sustituye en la ecuación 2.53.

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/N}} (kx - ax^2) - m_N x \quad (2.54)$$

Ahora la concentración de biomasa (x) de la ecuación 2.18, se sustituye en la ecuación 2.54, obteniendo:

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/N}} \left(\left(\frac{k}{\left(\frac{1}{x_0} - \frac{a}{k} \right) \exp^{-kt} + \frac{a}{k}} \right) - a \left(\frac{1}{\left(\frac{1}{x_0} - \frac{a}{k} \right) \exp^{-kt} + \frac{a}{k}} \right)^2 \right) - m \left(\frac{1}{\left(\frac{1}{x_0} - \frac{a}{k} \right) \exp^{-kt} + \frac{a}{k}} \right) \quad (2.55)$$

Ahora se agrupan las “constantes” y las funciones en un solo termino:

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{k}{Y_{x/N}} \left(\frac{1}{\left(\frac{1}{x_0} - \frac{a}{k} \right) \exp^{-kt} + \frac{a}{k}} \right) - \frac{a}{Y_{x/N}} \left(\frac{1}{\left(\frac{1}{x_0} - \frac{a}{k} \right) \exp^{-kt} + \frac{a}{k}} \right)^2 - m \left(\frac{1}{\left(\frac{1}{x_0} - \frac{a}{k} \right) \exp^{-kt} + \frac{a}{k}} \right) \quad (2.56)$$

En esta ecuación se puede observar la sustitución de los nuevos nombres con respecto a la ecuación 2.56.

$$\frac{dN}{dt} = Cf_1 + Df_1^2 + Lf_2 \quad (2.57)$$

Modelo para la obtención de producto usando el modelo de *Gompertz de dos parámetros*:

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dx}{dt} + \beta x \quad (2.58)$$

En la ecuación anterior se procede a sustituir las siguientes ecuaciones:

$$x = x_0 \exp \left(\frac{-k}{\mu} (\exp^{-\mu t} - 1) \right) \quad (2.59)$$

$$\frac{dx}{dt} = kx \exp^{(-\mu t)} \quad (2.60)$$

Obteniendo la siguiente expresión:

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \left(kx_0 \exp^{\left(\frac{-k}{\mu}(\exp^{(-\mu t)} - 1)\right)} \exp^{(-\mu t)} \right) + \beta x_0 \exp^{\left(\frac{-k}{\mu}(\exp^{(-\mu t)} - 1)\right)} \quad (2.61)$$

De manera análoga con la ecuación 2.61 se sustituyen las funciones exponenciales divididas por el signo (+), obteniendo la siguiente ecuación:

$$\frac{dP}{dt} = \alpha k x_0 f_1 + \beta x_0 f_2 \quad (2.62)$$

Modelo para la obtención de producto utilizando el modelo de *Gompertz de tres parámetros*:

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dx}{dt} + \beta x \quad (2.63)$$

En la ecuación 2.63 se sustituyen las ecuaciones 2.64 y 2.65, respectivamente.

$$\frac{dx}{dt} = kx \exp^{-\mu t} - ax \quad (2.64)$$

$$x = x_0 \exp^{\left(\frac{-k}{\mu} \exp^{-\mu t} + \frac{k}{\mu} - at\right)} \quad (2.65)$$

Y obtenemos la ecuación 2.66:

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \left(kx_0 \exp\left(\frac{-k}{\mu} \exp(-\mu t) + \frac{k}{\mu} - at\right) \exp(-\mu t) - ax_0 \exp\left(\frac{-k}{\mu} \exp(-\mu t) + \frac{k}{\mu} - at\right) \right) + \beta x_0 \exp\left(\frac{-k}{\mu} \exp(-\mu t) + \frac{k}{\mu} - at\right) \quad (2.66)$$

De manera análoga con la ecuación 2.66 todos los exponenciales se engloban en una función 1 (f_1), una función 2 (f_2) y una función 3 (f_3).

$$\frac{dP}{dt} = \alpha k x_0 f_1 - \alpha a x_0 f_2 + \beta x_0 f_3 \quad (2.67)$$

Desarrollo de la ecuación de producto con sustitución del modelo *Logístico*:

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dx}{dt} + \beta x \quad (2.68)$$

Ahora para el caso del modelo Logístico se sustituyen las ecuaciones 2.69 y 2.70 en la ecuación 2.68 de producto:

$$\frac{dx}{dt} = kx - ax^2 \quad (2.69)$$

$$\frac{1}{x} = \left(\frac{1}{x_0} - \frac{a}{k} \right) \exp^{-kt} + \frac{a}{k} \quad (2.70)$$

$$x = \frac{1}{\left(\frac{1}{x_0} - \frac{a}{k} \right) \exp^{-kt} + \frac{a}{k}} \quad (2.71)$$

Una vez sustituidas las ecuaciones anteriores en la ecuación 2.68 se obtiene la ecuación 2.72:

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \left(k \frac{1}{\left(\frac{1}{x_0} - \frac{a}{k} \right) \exp^{-kt} + \frac{a}{k}} \right) - a \left(\frac{1}{\left(\frac{1}{x_0} - \frac{a}{k} \right) \exp^{-kt} + \frac{a}{k}} \right)^2 + \beta \left(\frac{1}{\left(\frac{1}{x_0} - \frac{a}{k} \right) \exp^{-kt} + \frac{a}{k}} \right) \quad (2.72)$$

Multiplicando las “constantes” en la ecuación 2.72 y asignándole otro nombre a cada función para el modelo Logístico, se obtiene:

$$\frac{dP}{dt} = \alpha k f_1 - \alpha a f_2 + \beta f_3 \quad (2.73)$$

2.2 Metodología de ajuste de los modelos de gompertz (de dos y de tres parámetros) y logístico.

2.2.1. Regresión no lineal simple.

Al modelar una relación basada en n pares de observaciones (x_i, y_i) , en ocasiones resulta una relación curvilínea. Cuando la tendencia es curvilínea, el modelo más apropiado para un conjunto particular de datos puede ser uno de dos tipos, lineal o no lineal, definido según el modelo en que se presentan los coeficientes desconocidos. Si los coeficientes se pueden sumar linealmente al modelo, se tiene un modelo lineal. Por el contrario, si los coeficientes no se pueden sumar en forma lineal, el modelo se conoce como no lineal.

Por ejemplo:

El tipo lineal:

$$y = a + bx + cx^2 \quad (2.74)$$

$$y = a + bx + c \ln(x) \quad (2.75)$$

$$y = a + \frac{b}{x} + \frac{c}{x^2} \quad (2.76)$$

El tipo no lineal:

$$y = a + b \exp^{cx} \quad (2.77)$$

$$y = a + bx^c \quad (2.78)$$

$$y = a + \frac{b}{c + x} \quad (2.79)$$

Para la regresión no lineal, el principio de los mínimos cuadrados no se puede aplicar directamente, porque las ecuaciones normales resultantes contienen coeficientes desconocidos en forma no lineal y no es posible resolverlas en forma directa. Por consiguiente es necesario utilizar un procedimiento iterativo de cálculo. Por otra parte, no existen métodos analíticos para determinar el modelo más adecuado, para un conjunto particular de datos. Sin embargo en muchos casos se pueden seleccionar modelos posibles y razonables con base en la naturaleza de la aplicación. Y aunque se tenga ya definido como es el caso nuestro, en la que los datos experimentales siguen una trayectoria exponencial, se tiene que ver cual de las combinaciones de exponenciales son las que dan un ajuste mejor.

2.2.2. Procedimiento de cálculo.

Para llevar a cabo esta tarea se utiliza el método de la falsa posición y una función de optimización, y se basa en la técnica siguiente:

- 1.- Para una forma funcional particular, se define una nueva variable por ejemplo Z, la cual incluye el coeficiente no lineal. Como el que se muestra a continuación:

$$y = a + b \exp^{cx} \quad (2.80)$$

$$z = \exp^{cx} \quad (2.81)$$

$$y = a + bz \quad (2.82)$$

- 2.- Se selecciona un valor apropiado (o cualquiera) para el coeficiente no lineal y calculamos los valores de Z_i , para el conjunto de datos.
- 3.- Ahora se procede a calcular la regresión simple y la suma de los cuadrados de los errores, para el valor particular del coeficiente no lineal.
- 4.- Posteriormente se vuelven a repetir los pasos 2 y 3, variando los valores del coeficiente no lineal hasta que la suma de los errores al cuadrado sea mínima. Es ahí donde entra la función preconstruida de *MATLAB* "*FMINSEARCH*", la cual es la que nos ahorra el trabajo de hacer los cálculos repetitivos, para cada suposición.

FMINSEARCH funciona de la siguiente manera: encuentra el mínimo de una función escalar de varias variables, con una estimación inicial. Esto generalmente es llamado la optimización no lineal no forzada. Esencialmente consiste en una implementación del método de Nelder-Mead. El cual es un método de búsqueda para encontrar un mínimo local de una función de varias variables. Utiliza un tipo de cuerpo geométrico llamado *simplex*, que en el caso del plano es un triángulo y en el caso del espacio tridimensional es un tetraedro.

En el caso de dos variables, cuando tenemos un triángulo, el método consiste en comparar los valores de la función en los vértices y sustituir el peor vértice, es decir aquel en el que la función es mayor, por un vértice nuevo. De esa manera, se forma un nuevo triángulo y se continua la búsqueda.

Durante el proceso de búsqueda se genera una sucesión de triángulos, en los que los valores de la función van decreciendo. El tamaño de estos triángulos se reduce y, cuando los vértices están suficientemente juntos, hemos encontrado el mínimo

local, tal como se muestra en la Figura 2.1, donde el punto negro representa el mínimo.

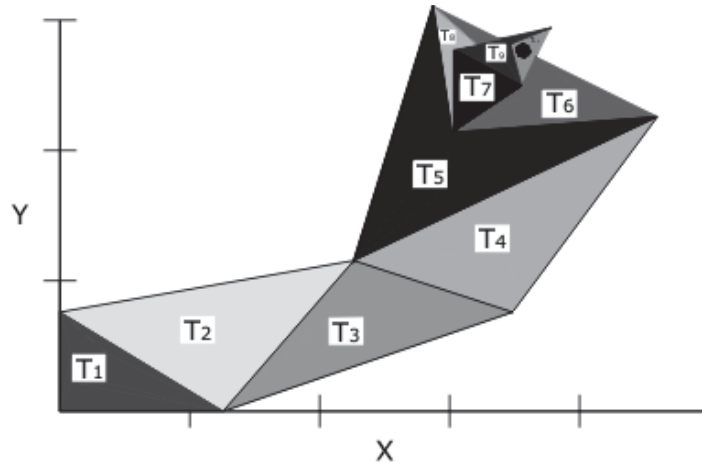


Figura 2.1. Mínimo local por el método de Nelder-Mead.

A continuación se muestra de manera resumida, la implementación del método. Por ejemplo: se tiene la función $f(x, y)$, posteriormente se suponen 3 vértices los cuales llamaremos: $V_1(x, y)$, $V_2(x, y)$, $V_3(x, y)$ y se evalúa la función en esos vértices, a continuación verificamos con cual de estos puntos la función es mayor y suponiendo que fue $V_1(x, y)$, entonces hay que reemplazarlo y ahora se evalúan los puntos que llamaremos A y B .

Quedando de la siguiente manera:

$$A = \frac{V_2 + V_3}{2} \quad (2.83)$$

y

$$B = 2A - V_1 \quad (2.84)$$

Ahora se evalúa la función en $f(B)$, la cual suponiendo que resultado menor que $f(V_3)$ (que era la menor que se había obtenido al inicio) y si $f(B) \leq f(V_2)$, quiere decir que la dirección a la solución es la correcta. Entonces se procede a evaluar el punto que sustituirá a $V_1(x, y)$ el cual es igual a:

$$E = 2B - A \tag{2.85}$$

Por último se calcula el valor de la función en $f(E)$ y se verifica si es menor que el punto de evaluación menor al inicio el cual fue $V_3(x, y)$ y si es menor se sustituye E por $V_1(x, y)$, si no se reemplaza por B y se continua el cálculo repetitivamente, como se mencionó en la parte de arriba hasta que los puntos sean próximos o bien que el triangulo sea más pequeño.

Para los ajustes, donde se observa que hay varias funciones no lineales se utilizó el ajuste con una regresión múltiple haciendo igual a una variable diferente para cada función. La cual es una extensión de la regresión lineal simple, a la que se le agregan más términos. El principio básico de mínimos cuadrados se puede aplicar con facilidad, independientemente del número de términos de coeficientes lineales.

El procedimiento de solución es el siguiente:

Se define n como el conjunto de observaciones $(x_{i1}, x_{i2}, x_{i3}, \dots, x_{ip}, y_i)$, donde:

x_{ij} = i -ésima observación para la variable independiente j . Cualquiera de las variables independientes puede representar funciones de las otras variables independientes, es decir $x_2 = x_1^2, x_3 = x_1x_2$, etc.

y_{ij} = i -ésima observación de la variable dependiente, que también se define como la respuesta y se considera una variable al azar, la cual refleja un determinado grado de error, dado que $y_i = Y_i + \varepsilon_i$, donde Y_i es el valor real y ε_i corresponde al error de medición o distribución, con varianza constante σ^2 , en el intervalo de los datos.

$$Y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \dots + \beta_px_p, \tag{2.86}$$

Para implementar el método, se desarrolla la matriz de forma parecida a los mínimos cuadrados, quedando de la siguiente forma.

Por ejemplo para un modelo:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 \quad (2.87)$$

Resolviendo los parámetros de la ecuación 2.87 se obtiene siguiente arreglo matricial:

$$\begin{bmatrix} n & \sum x_1 & \sum x_2 \\ \sum x_1 & \sum x_1^2 & \sum x_1 x_2 \\ \sum x_2 & \sum x_1 x_2 & \sum x_2^2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \beta_0 \\ \beta_1 \\ \beta_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sum y \\ \sum x_1 y \\ \sum x_2 y \end{bmatrix} \quad (2.88)$$

Luego se procede a calcular la matriz inversa y multiplicarla por la matriz de coeficientes:

$$\begin{bmatrix} \beta_0 \\ \beta_1 \\ \beta_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sum y \\ \sum x_1 y \\ \sum x_2 y \end{bmatrix} \begin{bmatrix} n & \sum x_1 & \sum x_2 \\ \sum x_1 & \sum x_1^2 & \sum x_1 x_2 \\ \sum x_2 & \sum x_1 x_2 & \sum x_2^2 \end{bmatrix}^{-1} \quad (2.89)$$

Para todos los casos antes citados se evalúa una cantidad útil para caracterizar el ajuste la cual, es el error estándar de $\hat{\alpha}$ estimada, lo cual cuantifica la dispersión relativa de las observaciones en la curva obtenida por mínimos cuadrados. La ecuación para su evaluación es

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{(\text{suma.de.los.residuales}^2)^{\frac{1}{2}}}{n - P - 1} \quad (2.90)$$

En donde P representa el número de términos (Perry, 1992).

2.3 Implementación en MATLAB®.

En la Figura 2.2 se presenta el diagrama de bloques para el algoritmo del programa en MATLAB 7.0, en donde el programa principal a ejecutar es 'gilberto'.

A continuación se muestra el código para las tres primeras funciones para los ajustes de las cinéticas de crecimiento las cuales son: Gompertz de dos parámetros, Gompertz de tres parámetros y Logístico. Mostrándose en la parte del código el uso de la función *fminsearch*.

Código para el modelo de Gompertz de dos parámetros:

```
function err = ajuste(M,t,y,P)
A = zeros(length(t),length(M));
for j = 1:length(M)
    A(:,j) =exp(M(j)*t);
end
savefile='susgom.mat';
c = A\y;
save(savefile, 'c');
z = A*c;
err = norm(z-y);
set(gcf,'DoubleBuffer','on')
set(P,'ydata',z)
drawnow
pause(.04)

plot(t,y,'ro'); hold on; h = plot(t,y,'b'); hold off;
title('Datos de entrada');
start = [tat];
options = optimset('TolX',0.1);
Valoresde_M = fminsearch(@ (x) gom1(x,t,y,h),start,options);
```

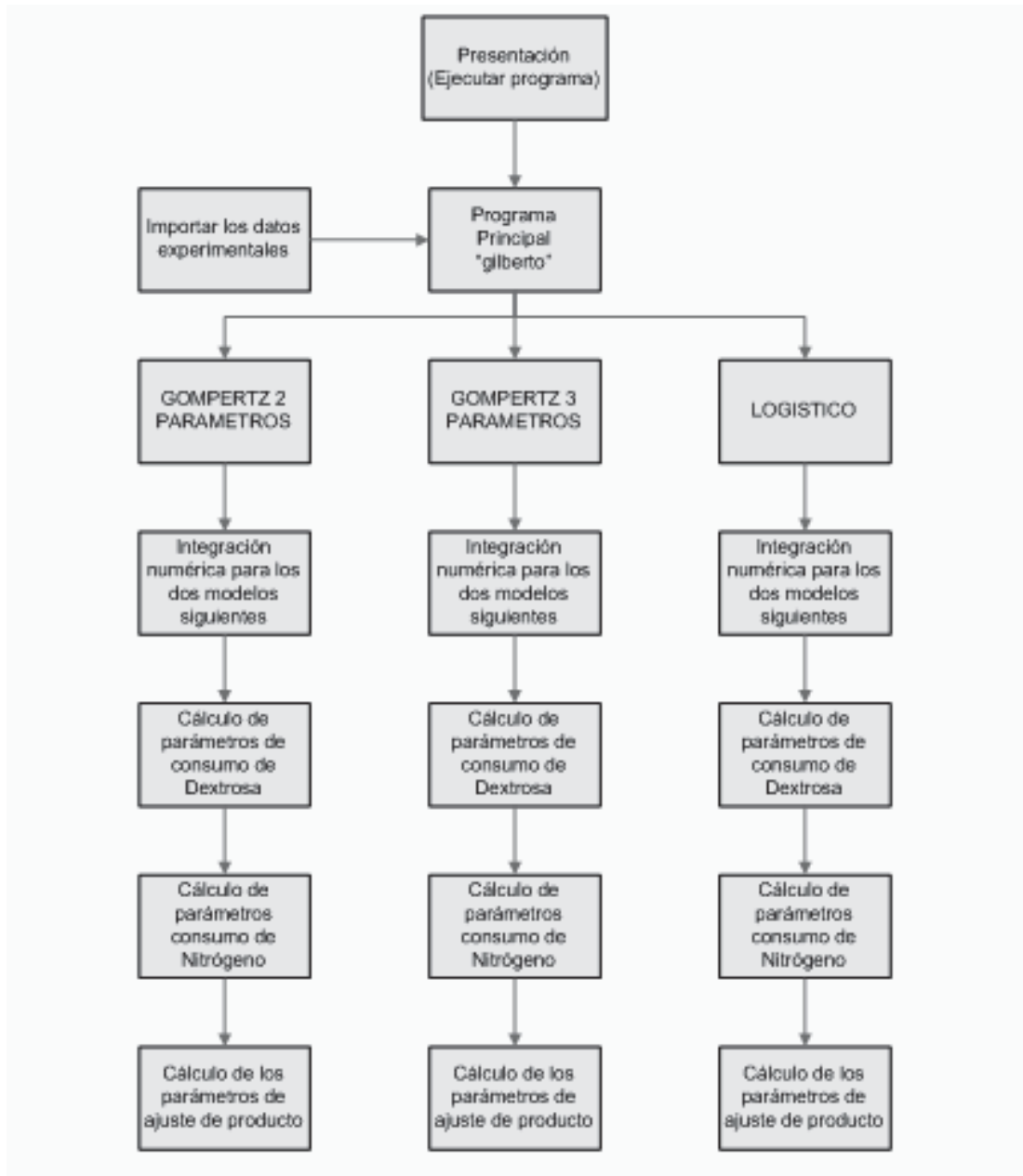


Figura 2.2. Diagrama de bloques del programa principal.

Código para el modelo Gompertz de tres parámetros:

```
function error= GOMPE2(c,t,y,handle)
z=exp(c*t);
st=sum(t);
st2=sum(t.^2);
sz=sum(z);
stz=sum(t.*z);
sy=sum(y);
sty=sum(t.*y);
g=inv([st sz;st2 stz]);
hy=[sy sty]';
re=g*hy;
savefile='gil.mat';
a=re(1);
b=re(2);
save(savefile, 'a','b');
fret=b*exp(c*t)+ a*t;
convergio=(sum((fret-y).^2));
error=norm(fret-y);
set(gcf,'DoubleBuffer','on');
set(handle,'ydata',fret)
drawnow
pause(.04)

plot(t,y,'ro'); hold on; h = plot(t,y,'b'); hold off;
title('Datos de entrada');
start = [tat];
options = optimset('TolX',0.1);
estimated_c = fminsearch(@(x) GOMPE2(x,t,y,h),start,options);
```

Código para el modelo Logístico:

```
function error= LOGISTICO(c,t,y,handle)
z=exp(c*t);
L=length(t);
sz=sum(z);
sz2=sum(z.^2);
sy=sum(y);
gt=z.*y;
szy=sum(gt);
g=inv([L sz;sz sz2]);
hy=[sy szy]';
re=g*hy;
savefile='gil.mat';
a=re(1);
b=re(2);
save(savefile, 'a','b');
fret=b*exp(c*t)+ a;
convergio=(sum((fret-y).^2));
error=norm(fret-y);
set(gcf,'DoubleBuffer','on');
set(handle,'ydata',fret)
drawnow
pause(.04)

plot(t,y,'ro'); hold on; h = plot(t,y,'b'); hold off;
title('Datos de entrada');
start = [tat];
options = optimset('TolX',0.1);
estimated_c = fminsearch(@(x)LOGISTICO(x,t,y,h),start,options);
```

Cabe mencionar que la variable mostradas en el código llamada '*star*' es la que proporcionamos como valor supuesto, generalmente del parámetro no lineal, para el inicio de cálculos, el cual se carga en los parámetros de la función de minimización, en esta función también se introduce la secuencia de calculo, guardado en un archivo *m_file*, que en el caso del código de arriba se llama LOGISTICO y también se puede observar la palabra 'options' la cual proviene del código en donde es igual a optimset que crea una estructura de optimización que se completa con la función antes mencionada '*fminsearch*'.

```

M=Valoresde_M;
inte;
load('susgom.mat', '-mat');
Prp=c;
gg = 1;
for m = 1:gg
YM= input('Introduzca los datos del sustrato');
prrr(1:length(YM),gg) = (YM(:).')';
Y=prrr;
end
% Metodo para calcular parametros de dextrosa
z2=A*t.^6+B*t.^5+C*t.^4+D*t.^3+E*t.^2+t; % funcion dos con parametro WCM
sf1=sum(z1);
sf12=sum(z1.^2);
sf2=sum(z2);
sf1f2=sum(z1.*z2);
sy=sum(Y);
sz1y=sum(z1.*Y);
g=inv([sf1 sf2;sf12 sf1f2]);
hy=[sy sz1y]';
re=g*hy;
a=re(1);
b=re(2);
fprintf('\n Valor de coeficiente funcion 1=%8.5g',a)
fprintf('\n Valor de coeficiente funcion 2=%8.5g',b)

```

El código que se muestra en la parte superior es similar al del ajuste para el consumo de nitrógeno y para la formación de producto. En estos dos casos la diferencia radica en los datos que se cargan en el programa, esto quiere decir, respectivos a cada variable. Por ejemplo: en lugar de cargar para YM los datos de sustrato, se cargan los datos para producto y nitrógeno.

```

function dy=func(x,y)
dy=exp(c*exp(-Valoresde_M.*t));
function [t,y]=rung(f_name, a, b, ya, n)
h = (b-a)/n;
t = a:h:b;
y(1) = ya;

for i = 1:n
k1 = h * feval(f_name, t(i), y(i));
k2 = h * feval(f_name, t(i)+h/2, y(i)+k1/2);
k3 = h * feval(f_name, t(i)+h/2, y(i)+k2/2);
k4 = h * feval(f_name, t(i)+h, y(i)+k3);

y(i+1) = y(i) + (k1 + 2*k2 + 2*k3 + k4)/6;
end

```


Para el caso de la integración individual de funciones se usa el programa de Runge-Kutta.

2.4 Datos experimentales empleados.

El proceso de fermentación analizado fue el empleado para la obtención de bikaverina. La bikaverina es una quinona de color rojo con una fórmula química $C_{20}H_{14}O_8$ (punto de fusión: 322-324 °C). Se aisló de fermentaciones con *Gibberella fujikuroi* y *Fusarium oxysporum* (Balan y col., 1970; Escamilla-Silva y col., 2001). La bikaverina presenta actividad antiprotozoaria contra *Leishmania brasiliensis* (Balan y col., 1970) y antitumoral (Fuska y col., 1975). Se logró sintetizar químicamente por Barton y col. (1976) y Katagiri y col. (1981). Sus propiedades químicas y espectroscópicas fueron descritas por Kjaer (1971) y su estructura cristalina y molecular fue descrita por de Boer y col. (1971). La metodología mayormente empleada para la producción de bikaverina en laboratorio es la fermentación microbiana.

Los datos experimentales empleados para la realización de los ajustes fueron los obtenidos por Jerónimo y Vera (2006), para la producción de bikaverina en matraz agitado por fermentación microbiana con *Gibberella fujikuroi*. Jerónimo y Vera (2006) emplearon un diseño de experimentos, variando la concentración de las fuentes de carbono (dextrosa) y de nitrógeno (cloruro de amonio) y el pH, a temperatura constante (29 °C). Las determinaciones analíticas realizadas a las muestras para obtener los datos de las cinéticas fueron: para la cinética de crecimiento de biomasa (método de peso seco), para la cinética de consumo de sustratos; nitrógeno por el método colorimétrico, Solórzano, (1969) y Presley, (1971), y los azúcares reductores se determinaron por el método del ácido dinitrosalicílico, DNS (Miller, 1959) y para la formación de producto se realizan extracciones líquido-líquido y sólido-líquido cuantificando la concentración de bikaverina en un espectrofotómetro a 520nm, Chávez (2005).

CAPÍTULO 3

RESULTADOS

3.1 Ajuste de las cinéticas de crecimiento.

Los modelos no estructurados, estudiados en este trabajo, como el modelo de Gompertz de tres parámetros (ecuación 1.2), se han usado para modelar sistemas de fermentación empleando el hongo *Gibberella fujikuroi* (Berber, 1995; Escamilla y col., 1997; Negrete, 2002; Chávez y col., 2005), obteniendo un buen ajuste de los datos experimentales. Los modelos de Gompertz de dos y tres parámetros y el logístico (ecuaciones 1.1, 1.2 y 1.4; respectivamente), han sido empleados para ajustar datos durante la producción de ácido giberélico en fermentación sumergida (Chávez, 2005).

3.1.1. Aplicación de la prueba *F* para discriminación entre modelos.

Los tres modelos considerados para describir la cinética de crecimiento dieron buenos ajustes de los datos experimentales (Figura 3.1) con el programa 'gilberto'.

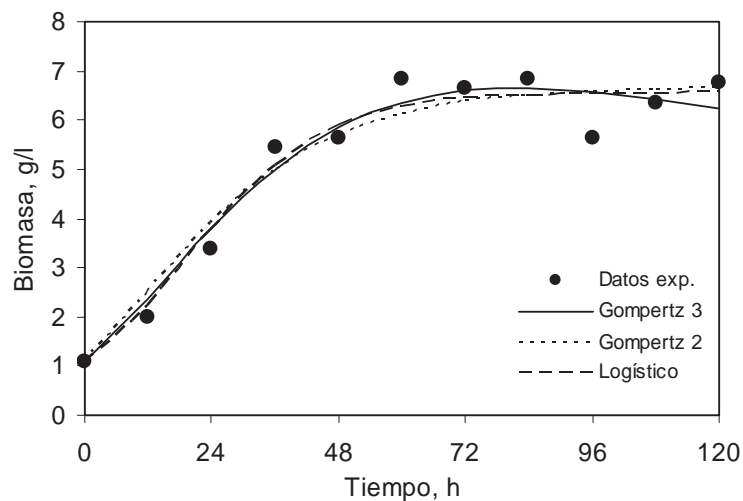


Figura 3.1. Ajuste de los datos experimentales para la cinética de crecimiento en el experimento 12.

El modelo de Gompertz de tres parámetros presentó problemas durante el ajuste debido a su alta no-linealidad. Los modelos de dos parámetros no presentaron problemas durante el ajuste. El análisis de los residuales no mostró tendencia alguna para los tres modelos estudiados.

Los resultados de la prueba F para los datos experimentales sobre la producción de bikaverina (Jerónimo y Vera, 2006) con el programa 'gilberto' en MATLAB se presentan en la Tabla 3.1. Como ejemplo se consideran los resultados del primer experimento en donde el valor F es mayor que el f de los modelos de Gompertz de dos parámetros y Logístico. Esto indica que es suficiente con un modelo de dos parámetros. Además puesto que el valor f del modelo de Gompertz de dos parámetros es menor que el valor f del modelo Logístico implica es mejor el modelo de Gompertz de dos parámetros. Para el caso del experimento 4 el valor de F es mayor que el valor del modelo de Gompertz de dos parámetros y menor que el valor de f del modelo Logístico, lo que implica que es suficiente con el modelo de Gompertz de dos parámetros. Si se estuviera comparando solamente el modelo Logístico y el de Gompertz de tres parámetros, para el mismo experimento si sería conveniente tener un modelo con tres parámetros.

Tabla 3.1. Resultados de la prueba F para la comparación de modelos para el ajuste con el programa en MATLAB®.

Exp.	F		Valor de F	SRC		
	Gompertz 2	Logístico		Gompertz 3	Gompertz 2	Logístico
1	0.2971	3.9606	4.84	0.7388	0.7662	1.1046
2	1.0574	1.6562	4.84	0.6878	0.7787	0.8302
3	0.1923	2.7678	4.84	0.3789	0.3880	0.5099
4	0.3193	10.4001	4.84	0.6637	0.6902	1.5266
5	0.1309	11.5205	4.84	0.4503	0.4576	1.0987
6	0.0391	0.7922	4.84	0.3625	0.3643	0.3984
7	0.1974	2.3964	4.84	2.7937	2.8626	3.6305
8	1.7208	3.8510	4.84	2.9543	3.5897	4.3764

Exp.	<i>F</i>		Valor de <i>F</i>	SRC		
	Gompertz 2	Logístico		Gompertz 3	Gompertz 2	Logístico
9	0.6938	2.4299	4.84	0.9891	1.0749	1.2895
10	0.0331	8.1075	4.84	0.6039	0.6064	1.2160
11	0.0009	0.3764	4.84	0.8491	0.8492	0.8891
12	1.7341	-1.0094	4.84	1.9695	2.3964	1.7210
13	7.2522	12.2431	4.84	0.5730	1.0924	1.4499
14	0.0000	4.5863	4.84	1.0852	1.0852	1.7073
15	1.8630	7.2021	4.84	2.6648	3.2854	5.0638

De acuerdo a los resultados de la prueba *F*, el modelo de Gompertz de dos parámetros fue aceptado en 93% de los experimentos mientras que el modelo Logístico fue aceptado en 67% de los casos y en solamente en el 7.0% de los experimentos fue aceptado el modelo de Gompertz de tres parámetros. La prueba *F* reportada por Zwietering (1990) y empleada por Chávez y col., (2005) facilita la discriminación de modelos. Por lo anterior, el modelo de Gompertz de dos parámetros fue el utilizado para modelar las cinéticas de consumo de sustrato y formación de producto. La Figura 3.2 muestra los ajustes de las cinéticas de los datos experimentales, tales como consumo de sustrato (dextrosa y nitrógeno) y formación de producto (bikaverina). El resto de los ajustes de los datos experimentales se muestra en el Apéndice A-1.

3.2 Parámetros obtenidos.

En las Tablas 3.2, 3.3 y 3.4 se muestran los resultados de los parámetros obtenidos con los modelos de Gompertz de dos y tres parámetros y el modelo logístico para las cinéticas de crecimiento, obtenidos con el programa 'gilberto' en MATLAB. Los parámetros obtenidos son similares en orden y magnitud a los obtenidos con la subrutina GREG.

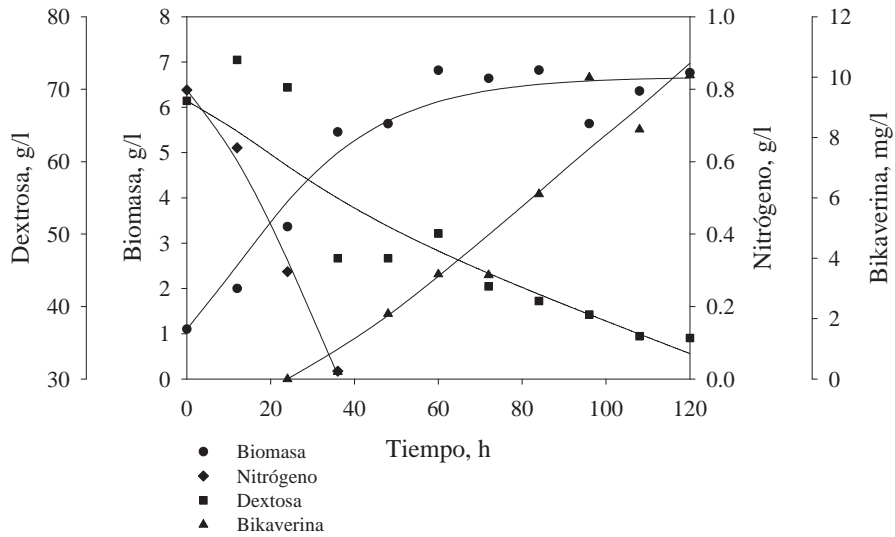


Figura 3.2. Ajuste de las cinéticas para el proceso fermentativo para el experimento 12.

Tabla. 3.2. Parámetros obtenidos para las cinéticas de crecimiento con el modelo de Gompertz de dos parámetros.

Experimento	$k(h^{-1})$	$\mu (h^{-1})$
1	0.1060	0.0478
2	0.1340	0.0593
3	0.0847	0.0537
4	0.0981	0.0431
5	0.1507	0.0575
6	0.1228	0.0512
7	0.1529	0.0550
8	0.0975	0.0446
9	0.0900	0.0509
10	0.0869	0.0390
11	0.1333	0.0700
12	0.0799	0.0437

Experimento	$k(h^{-1})$	$\mu (h^{-1})$
13	0.1992	0.0831
14	0.1994	0.0781
15	0.1983	0.0800

Tabla. 3.3. Parámetros obtenidos para las cinéticas de crecimiento con el modelo de Gompertz de tres parámetros.

Experimento	$k (h^{-1})$	$\mu (h^{-1})$	$a (h^{-1})$
1	0.1092	0.0500	0.0003
2	0.1318	0.0575	0.0006
3	0.0868	0.0587	0.0009
4	0.1002	0.0500	0.0024
5	0.1593	0.0675	0.0025
6	0.1243	0.0500	0.0008
7	0.1580	0.0612	0.0019
8	0.1068	0.0550	0.0023
9	0.0921	0.0537	0.0006
10	0.0887	0.0393	8.0×10^{-05}
11	0.1327	0.0700	8.2×10^{-05}
12	0.0807	0.0318	0.0059
13	0.2221	0.1012	0.0025
14	0.2178	0.0925	0.0021
15	0.2442	0.115	0.0040

Tabla. 3.4. Parámetros obtenidos para las cinéticas de crecimiento con el modelo Logístico.

Experimento	k (h^{-1})	a ($l \cdot h^{-1} \cdot g^{-1}$)
1	0.1060	0.0050
2	0.1340	0.0079
3	0.0847	0.0045
4	0.0981	0.0042
5	0.1507	0.0086
6	0.1228	0.0063
7	0.1529	0.0084
8	0.0975	0.0043
9	0.0900	0.0045
10	0.0869	0.0034
11	0.1333	0.0093
12	0.0799	0.0035
13	0.1992	0.0165
14	0.1994	0.0155
15	0.1983	0.0158

La velocidad específica de crecimiento, k , para los ajustes con el modelo de Gompertz de dos parámetros osciló entre 0.03 y 0.08 h^{-1} , para el modelo de gompertz de tres parámetros entre 0.03 y 0.1 h^{-1} y para el modelo Logístico de 0.07 a 0.19 h^{-1} . Shukla y col., (2005) reportan una velocidad específica de crecimiento de 0.084 h^{-1} para fermentación sumergida de *Gibberella fujikuroi*, Chávez (2005) reporta valores de la velocidad específica de crecimiento que oscilan entre 0.05 a 0.1 h^{-1} utilizando la misma fuente de nitrógeno (cloruro de amonio) en matraz agitado con *Gibberella fujikuroi*.

En la Tabla 3.5 se presentan los parámetros estimados para las cinéticas de consumo de sustrato, nitrógeno y dextrosa, y para la producción de bikaverina, obtenidos con el modelo de Gompertz de dos parámetros.

Tabla 3.5. Parámetros estimados para la producción de bikaverina.

Experimento	$Y_{x/s}$	m_s	$Y_{x/N}$	m_N	α	β	$k(h^{-1})$	$\mu (h^{-1})$
1	0.3109	0.0307	7.2274	0.0030	1.4225	0.0032	0.1060	0.0478
2	0.4557	0.0366	6.7535	0.0021	2.6785	0.0005	0.1340	0.0593
3	0.2867	0.0738	9.8955	0.0006	2.9397	0.0039	0.0847	0.0537
4	0.3254	0.0506	4.5203	0	*	*	0.0981	0.0431
5	0.4622	0.0008	5.1496	0	2.4223	-0.0015	0.1507	0.0575
6	0.2657	0	4.7516	0.0010	11.5480	-0.0128	0.1228	0.0512
7	0.4250	0	4.6553	0.0003	*	*	0.1529	0.0550
8	0.2034	0.0099	4.8822	0.0003	*	*	0.0975	0.0446
9	0.1471	0.00005	6.7113	0.0011	0.4775	-0.0002	0.0900	0.0509
10	0.5500	0.0323	9.9822	0.0025	0	0.0072	0.0869	0.0390
11	0.4714	0.0329	11.0099	0	3.0089	-0.0062	0.1333	0.0700
12	0.4026	0.0329	13.9287	0.0044	0	0.0180	0.0799	0.0437
13	1.0×10^{10}	0.0334	7.2467	0	3.2288	0.0185	0.1992	0.0831
14	0.3668	0.0207	28.6218	0.0061	4.2672	0.0459	0.1994	0.0781
15	0.4420	0.0325	5.007	0	2.0374	-0.0017	0.1983	0.0800

* Sin producción.

El coeficiente de rendimiento ($Y_{x/N}$) osciló entre 4.5 y 28.6 g biomasa/g nitrógeno, teniendo que el valor bajo nos indica una baja velocidad de crecimiento con un alto consumo de nitrógeno, para el caso contrario un valor alto representa una elevada velocidad de crecimiento con un bajo consumo de nitrógeno. Los coeficientes de mantenimiento (m_N) oscilaron entre 0.0003 a 0.006 g nitrógeno/g biomasa-h. Valores del coeficiente de mantenimiento (m_N) iguales a cero indican que la velocidad de consumo de nitrógeno es proporcional a la velocidad de crecimiento.

El coeficiente de rendimiento ($Y_{x/s}$) para el experimento 10 fue de 0.55 g de biomasa/g de dextrosa y para el experimento 9 fue de 0.14 g de biomasa/g de dextrosa. El coeficiente de rendimiento ($Y_{x/s}$) con el valor alto representa una alta velocidad de crecimiento y un bajo consumo de dextrosa. Para el experimento 13

se tiene un valor muy grande de $Y_{x/s}$ debido al error experimental en la obtención de los datos de la cinética de consumo de dextrosa, ya que implica que aun sin consumirse la dextrosa se tiene una elevada velocidad de crecimiento. De lo anterior surge la necesidad de tomar un mayor número de datos experimentales en los comienzos de las fermentaciones para tratar de eliminar este error experimental.

Los valores del coeficiente de mantenimiento (m_s) iguales a cero indican que la velocidad de consumo de dextrosa es proporcional a la velocidad de crecimiento.

Los coeficientes de mantenimiento (m_s), oscilaron entre 0 y 0.07 g de dextrosa/g biomasa-h. Esto implica que para que el microorganismo cuente con una fuente de carbono para producir energía se debe adicionar dextrosa al medio fermentativo a razón de por ejemplo: 0.07 g de dextrosa/g biomasa-h. Los valores del coeficiente de mantenimiento (m_s) iguales a cero indican que la velocidad de consumo de dextrosa es proporcional a la velocidad de crecimiento.

Para el modelo de Leudeking Piret (ecuación 1.6), cuando el valor de α es positivo indica que la formación de producto en estos experimentos se encuentra asociada al crecimiento, en los experimentos donde se hace cero implica que no esta asociado al crecimiento. Para el parámetro β un valor positivo implica que una parte de la producción no esta asociada al crecimiento. Para el caso en que se hace negativo implica que el producto se está degradando por parte del microorganismo.

CAPÍTULO 4

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

El desarrollo del presente trabajo permitió establecer las siguientes conclusiones:

1. Los modelos programados en MATLAB para ajustar los datos experimentales de las cinéticas involucradas en la producción de un proceso fermentativo (producción de bikaverina) ajustaron de manera satisfactoria los datos experimentales y los residuales no presentaron tendencia alguna.
2. Estadísticamente se demostró que el modelo de Gompertz de dos parámetros describe de manera satisfactoria la cinética de crecimiento durante el proceso de fermentación y que no es necesario contar con un modelo de tres parámetros.
3. El ajuste de los datos experimentales de consumo de nutrientes se efectuó de manera satisfactoria con el modelo de consumo paralelo sucediendo lo mismo para el ajuste de los datos de producción con el modelo de Leudeking-Piret.
4. Los parámetros obtenidos con el programa en MATLAB se corroboraron con la subrutina GREG, obteniéndose parámetros similares y del mismo orden de magnitud.

De lo anterior se puede concluir que se lograron los objetivos propuestos para este trabajo.

4.2 RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS

El desarrollo del presente trabajo permite establecer las siguientes recomendaciones y sugerencias para trabajos futuros:

1. Realizar una programación con interfaces visuales Matlab-Excel.
2. Analizar modelos matemáticos acoplados al sustrato por ejemplo el modelo de Monod.

BIBLIOGRAFÍA

- Bailey, J. E., and Ollis D. F. (1986). *Biochemical Engineering Fundamentals*. 2da. Edition Ed. Mc-GrawHill International Editions. Chemical Engineering Series. ISBN: 0-07-003212-2.
- Balan, J., Fuska J., Kuhr I. and Kuhrová V. (1970). Bikaverin, an Antibiotic from *Gibberella fujikuroi*, effective against *Leishmania brasiliensis*. *Folia Microbiológica*. 15:479-484.
- Barton, D. H., Cottier, L., Freund, K., Luini, F., Magnus, P. D. and Salazar I. (1976). Total synthesis of bikaverin. *Journal of Chemical Society*. 499-502.
- Berber, S. (1995). "Estudio de la cinética de crecimiento de *G. fujikuroi* en matraz agitado". Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Química, I. T. C. Celaya, Gto.
- Chávez-Parga, Ma del C. (2005). "Producción de ácido Giberélico en un biorreactor *ailiff*". Tesis de Doctorado en Ciencias en Ingeniería Química. I. T. C., Celaya, Gto.
- Chávez-Parga, Ma del C., González-Ortega O., Sánchez-Cornejo G., Negrete-Rodríguez Ma. De la L. X., González-Alatorre G., and Escamilla-Silva E. M. (2005). Mathematical description of bikaverin production in a fluidized bed bioreactor. *World J. of Microb. & Biotech.* 21: 683-688.
- de Boer, J. J., Bright, D., Dalling, G. and Hewitt, T. G. (1971). Crystal and molecular structure of the chloroform solvate of bikaverin. *Journal of Chemical Society*. 2788-2791.
- Escamilla-Silva, E., De la Torre M. y Ciurlizza, A. (1997). Aplicación del modelo de Gompertz para el estudio cinético de crecimiento del hongo *Gibberella fujikuroi* en cultivo sumergido. Trabajo presentado en el VII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. II Simposio Internacional sobre ingeniería de bioprocesos. Mazatlán, México.
- Escamilla-Silva, E. M., Poggi-Varaldo H., De la Torre Martínez M., Sánchez Cornejo M. G. and Dendooven L. (2001). Selective production of bikaverin in

- a fluidized bioreactor with immobilized *Gibberella fujikuroi*. World J. of Microbiol. and Biotechnol. 17:469-474.
- Fuska, J., Proksa, B. and Fuskova, A. (1975). New potential cytotoxic and antitumor substances. Neoplasma 22: 335-338.
- Gelmi, C., Pérez-Correa R. and Agosin E. (2002). Modeling *Gibberella fujikuroi* growth and GA₃ production in solid-state fermentation. Process. Biochemistry. 37:1033-1040.
- Jerónimo R. A. y Vera V. G. (2006). "Estudio de la producción de Bikaverina en matraz agitado utilizando *Gibberella fujikuroi*". Monografía en Ingeniería Bioquímica. I. T. M. En proceso.
- Katagiri, N., Nakano, J. and Kato, T. (1981). Synthesis of bikaverin. Journal of Chemical Society. 2710-2716.
- Kjaer, D., Kjaer, A., Pedersen, C., Bu'lock, J. D. and Smith J. R. (1971). Bikaverin and norbikaverin, benzoxanthetrone pigments of *Gibberella fujikuroi*. Journal of Chemical Society. 2792-2797.
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31:426-428.
- Nakamura, S. (1997). *Análisis numérico y visualización gráfica con MATLAB @*. 1a. Edición. Ed. Pearson Education. ISBN:968-880-860-1.
- Negrete, R. M. L. X. (2002). "Producción de ácido giberélico (GA₃) en biorreactor de tanque agitado con *Gibberella fujikuroi* empleando aceite de maíz como fuente de carbono". Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Química. I.T.C.
- Perry, J. H. (1992). Manual del Ingeniero Químico. 6a. Edición. MacGraw-Hill.
- Presley, B. J. (1971). Appendix: Techniques for analyzing interstitial water samples. Part I: Determination of selected minor and major inorganic constituents. In Winterer et al., 1971, initial reports of the deep sea drilling project, Volume VII. Washington, U. S. Government Printing Office, pag.1749-1755.

- Shukla, R., Chand S. and Srivastava A. K. (2005). Batch kinetics and modeling of gibberellic acid production by *Gibberella fujikuroi*. *Enzyme and Microbial Technol.* 36:492-497.
- Solórzano, L. (1969). Determination of ammonia in natural waters by the phenylhypochlorite method. *Limnol. Oceanogr.*, 14: 799-801.
- Tavares, A. P. M., Coelho, M.AZ., Coutinho, J. A. P. and Xavier A.M.R.B. (2005). *Laçasse* improvement in submerged cultivation: induced production and kinetic modeling. *J. of Chemical Techn. and Biotechnol.* 80:669-676.
- Znad, H; Blažej, M.; Blálešej, M. and Markoš, J.. (2004). A Kinetic Model for Gluconic Acid Production by *Aspergillus niger*. *Chem. Pap.* 58(1)23-28.
- Zwietering, M. H.; Jongenburger, I.; Rombouts, F. M. and Van't Riet, K. (1990). Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology.* 56:1875-1881.

APÉNDICE

A-1. Ajustes de las cinéticas involucradas en el proceso fermentativo (producción de bikaverina).

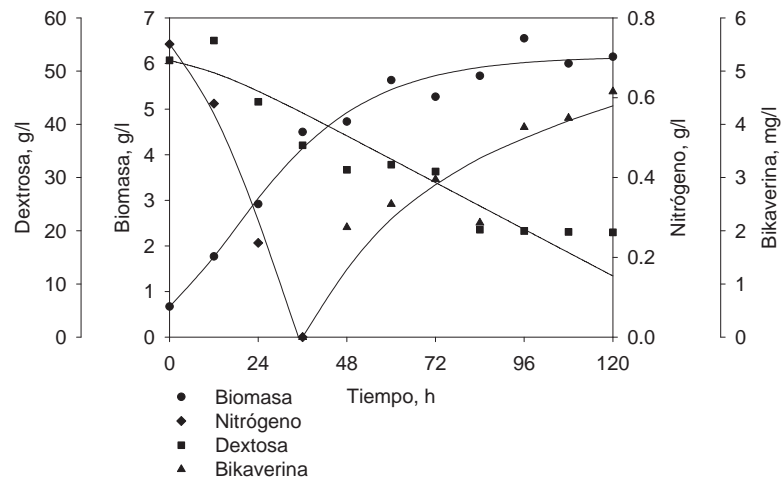


Figura A.1. Ajuste de las cinéticas para el experimento 1.

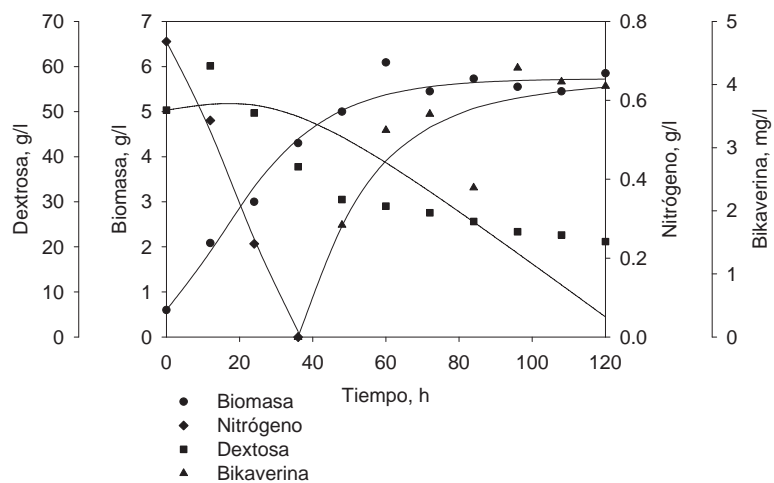


Figura A.2. Ajuste de las cinéticas para el experimento 2.

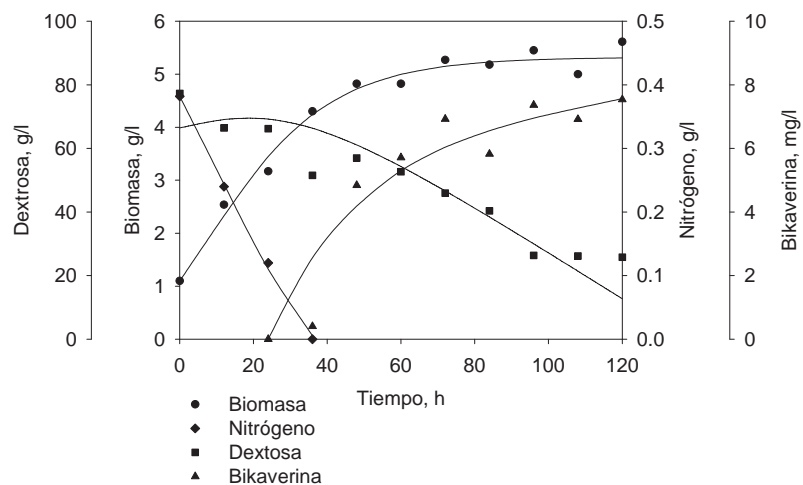


Figura A.3. Ajuste de las cinéticas para el experimento 3.

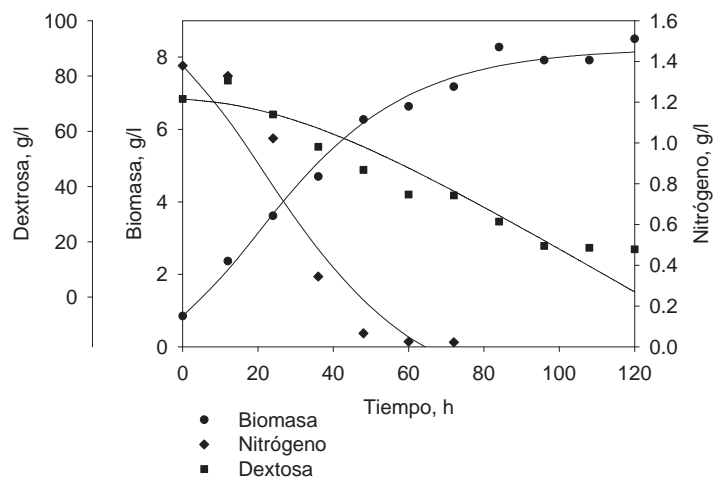


Figura A.4. Ajuste de las cinéticas para el experimento 4.

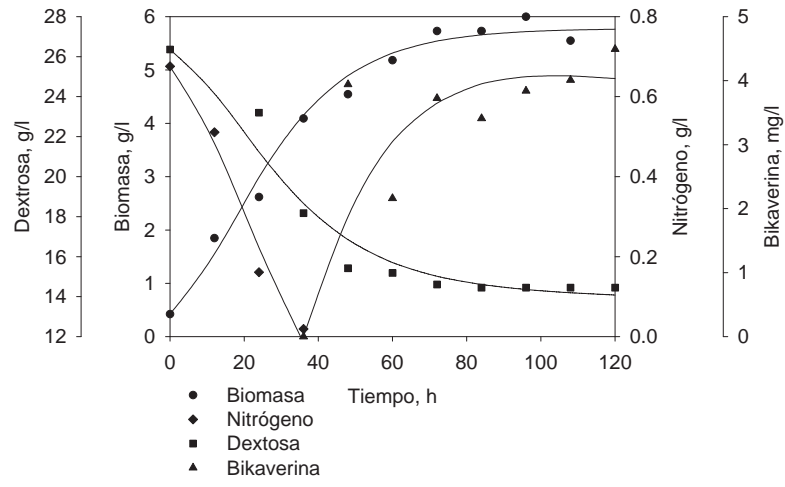


Figura A.5. Ajuste de las cinéticas para el experimento 5.

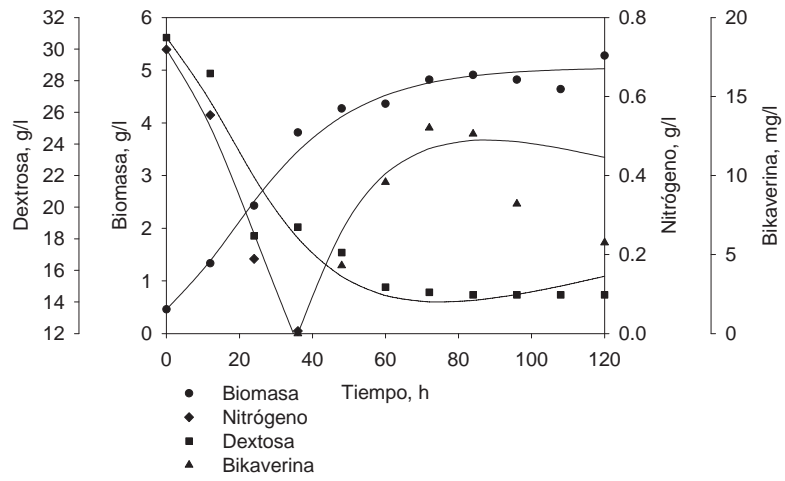


Figura A.6. Ajuste de las cinéticas para el experimento 6.

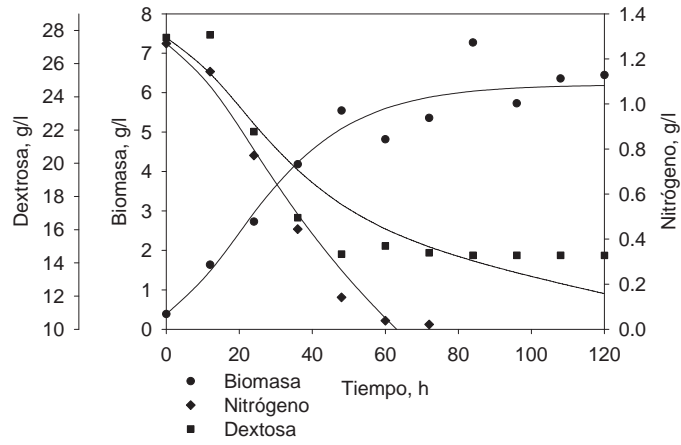


Figura A.7. Ajuste de las cinéticas para el experimento 7

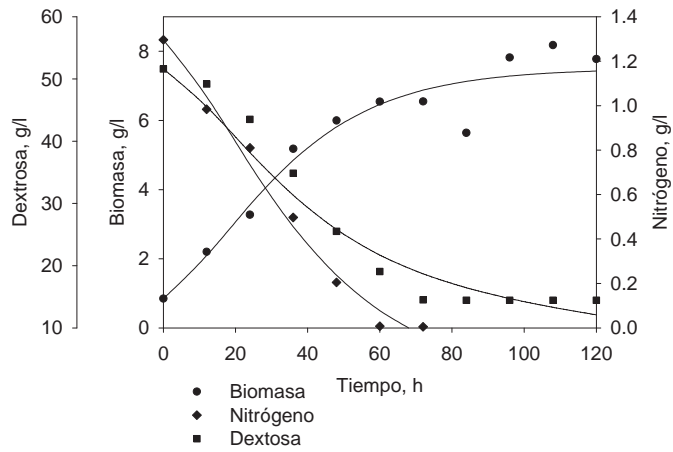


Figura A.8. Ajuste de las cinéticas para el experimento 8.

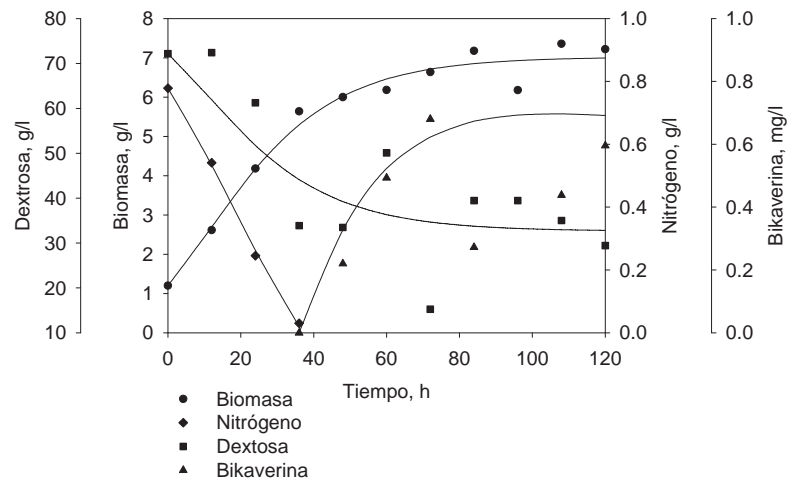


Figura A.9. Ajuste de las cinéticas para el experimento 9.

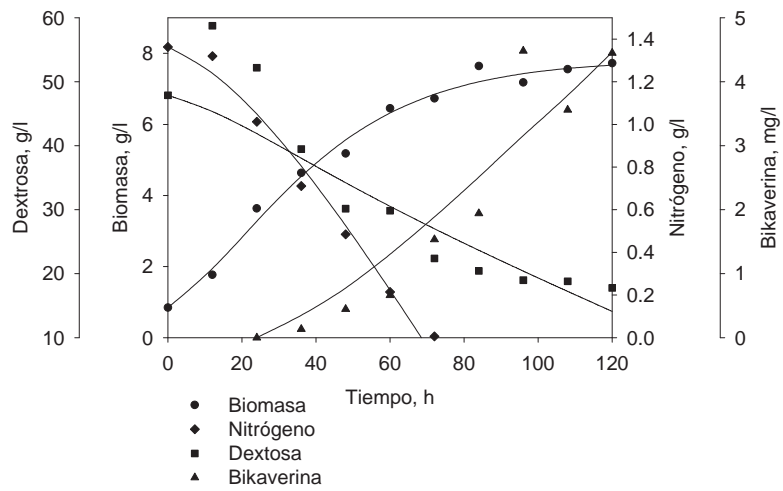


Figura A.10. Ajuste de las cinéticas para el experimento 10.

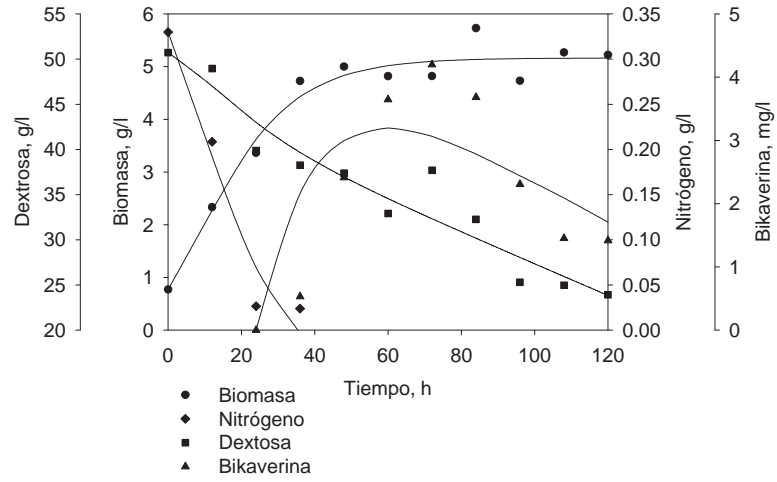


Figura A.11. Ajuste de las cinéticas para el experimento 11.

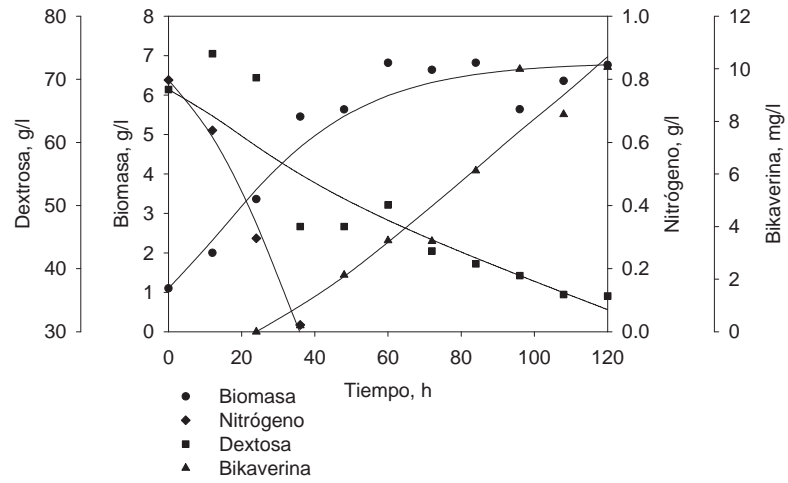


Figura A.12. Ajuste de las cinéticas para el experimento 12.

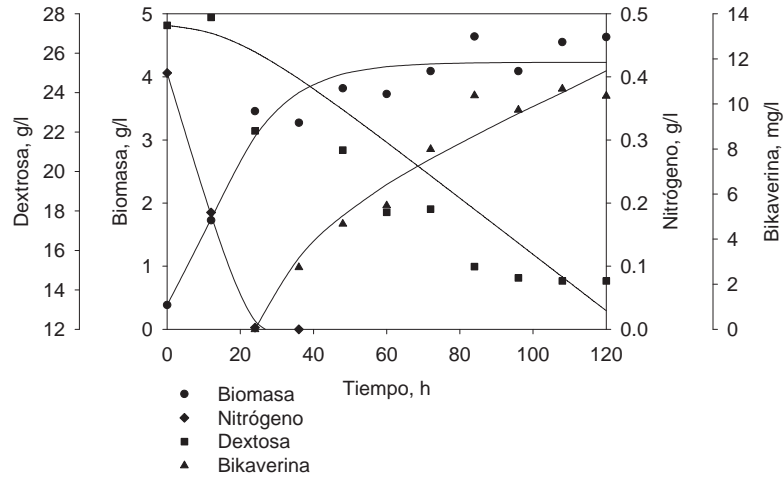


Figura A.13. Ajuste de las cinéticas para el experimento 13.

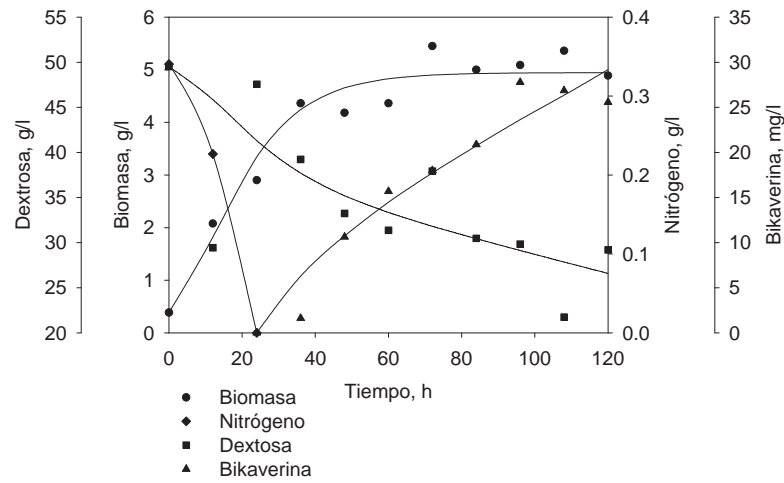


Figura A.14. Ajuste de las cinéticas para el experimento 14.

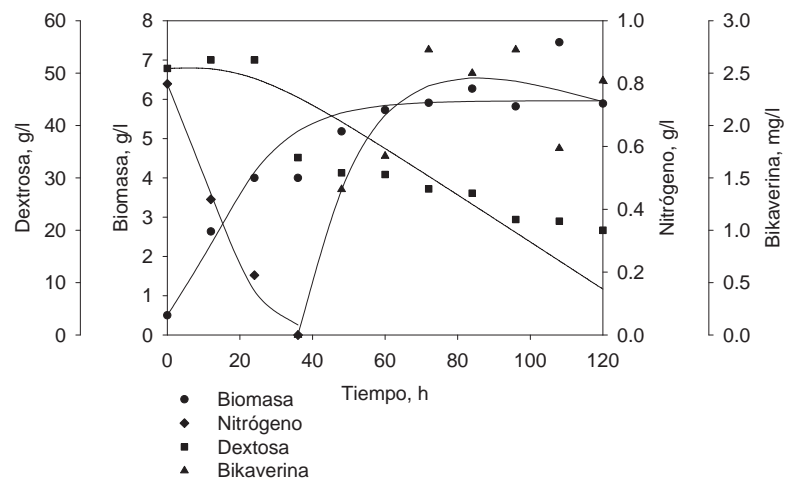


Figura A.15. Ajuste de las cinéticas para el experimento 15.