

MODELACION MATEMATICA DE LA PRODUCCION DE GLUCOSA OXIDASA. (Un modelo diferencial de un cultivo microbiano del tipo batch)

Baldomero Valiño, Dpto. de Ecuaciones Diferenciales de la Facultad de Matemática y Computación, Universidad de La Habana

Aymée Marrero Severo, Dpto. Matemática Aplicada de la Facultad de Matemática y Computación, Universidad de La Habana

Juan Alfredo Gómez Fernández, Instituto de Cibernética, Matemática y Física, Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente

RESUMEN

En este trabajo se presenta un modelo matemático que describe, la dinámica del cultivo de *Penicilium Funiculosum* (PF) en un fermentador agitado de tipo BATCH, a escala de laboratorio, con la pretensión de dar una primera aproximación a la descripción de las transformaciones que ocurren en el proceso de fermentación, en el que se produce la enzima Glucosa Oxidasa. La modelación se hizo a través de un sistema de ecuaciones diferenciales que describen de manera muy general el fenómeno y en el que figuran parámetros, cuyos valores se estiman mediante métodos de optimización y la resolución numérica de las ecuaciones involucradas, utilizando los datos experimentales de los parámetros como datos iniciales para el ajuste del modelo. Es este enfoque, uno de los aspectos más novedosos del trabajo, tanto en el contexto de las aplicaciones como en la forma general de abordar el problema de estimación de parámetros.

MSC: 37N25

ABSTRACT

In this paper a mathematical model is presented, it describes the dynamic of the cultivate of *Penicilium Funiculosum* (PF), in a shaken fermenter of the BATCH type, at laboratory scale, with the aims of giving a first approximation to the description of the transformations which occur in the fermentation process, in the production of the enzyme Glucosa Oxidasa. The modelation uses a system of differential equations that describes in a very general way the phenomena where the parameters, which values are estimated by means of optimization methods and the numerical solution of the involved equations, using experimental data of the initial values of the parameters for fitting the model. This approach is one of the novelties of the paper, in the context of applications and in the general way of treating the estimation parameters problem.

Key words: ordinary differential equations, parameters estimation, optimization and microbiologic process control, numerical solution.

1. INTRODUCCION

La trascendencia de los logros científicos de la Microbiología para la práctica social humana es cada día mayor, lo que coloca a esta ciencia en un lugar de avanzada en la moderna revolución científico técnica [ver Deuffhard (1983) y Scholder-Bock (1991)]. Paralelamente, crece la importancia de los métodos matemáticos en la Microbiología, los que se convierten en una herramienta indispensable para la modelación de los complejos procesos que estudia dicha ciencia y permite la simulación de los experimentos y el pronóstico de sus resultados [ver Bock (1991)]. Todo lo anterior, contribuye a la planificación más exitosa y a la comprensión más exacta de los fenómenos cuya esencia se trata de desentrañar. Esto adquiere aún mayor importancia cuando el objetivo final de la investigación es la optimización de un proceso productivo en escala industrial, lo que supone la determinación de controles más adecuados para el logro eficiente de los fines de la producción [ver Dennis-Schnabel (1983), Gómez (1995), Luenberger (1984)].

Una de las ramas de la Microbiología en la que se manifiesta la tendencia anteriormente expuesta, estudia la producción de biopreparados enzimáticos, cuya variedad y esfera de empleo crecen día a día.

En nuestro país se invierten cada año, considerables recursos para la importación de diversos productos enzimáticos, principalmente para su uso en las instituciones de salud, por no mencionar los centros de investigaciones científicas que requieren de ellos para el propio desarrollo de su trabajo. Sin embargo,

algunos de esos productos podrían obtenerse en Cuba, lo que significaría un considerable ahorro de divisas para nuestro país. En esa dirección apuntan algunas investigaciones de microbiólogos cubanos, habida cuenta que muchos microorganismos se caracterizan por una alta capacidad para la producción de enzima, mientras que el rápido crecimiento de estos microorganismos en sustratos orgánicos hace relativamente fácil su cultivo en gran escala.

Uno de los productos enzimáticos que goza de las características apuntadas es la glucosa oxidasa (**GOD**). Se trata de una enzima muy valiosa por su utilización como reactivo para la determinación cuantitativa de glucosa en fluidos biológicos (por ejemplo, en la sangre, lo que permite diagnosticar la diabetes mellitus y otras enfermedades y estados fisiológicos); así como en la protección y conservación de alimentos. Microbiólogos de la Facultad de Biología de la Universidad de La Habana, lograron aislar esta enzima a partir del *Penicillium Funiculosum* (**PF**), un hongo que sintetiza la **GOD** en un medio adecuado; además, como resultado de la fermentación se obtiene también ácido glucónico (**AG**), producto no menos valioso que la enzima **GOD**, dado su amplio uso en las industrias farmacéutica, alimentaria y textil; en quimioterapia, en el estampado de tejidos, en la fotografía, en el tratamiento de cueros, en mezclas limpiadoras de metales y en muchas otras actividades productivas.

La **GOD** es un producto muy deficitario en nuestro país y lograr su producción nacionalmente significaría un aporte importante al desarrollo de la Microbiología nacional. Producirla a partir de **PF** tiene la ventaja adicional de que simultáneamente, se obtendrían cantidades no despreciables de **AG**. Por consiguiente, la comprensión del proceso de crecimiento del **PF** y de la manera en que tiene lugar la formación de **GOD** y **AG** como consecuencia de dicho proceso en escala de laboratorio, constituyen una premisa insoslayable de su ulterior montaje en escala de planta piloto y, finalmente, en la industria.

En este trabajo se expone un modelo matemático que intenta describir la dinámica del cultivo de **PF** en un fermentador agitado de tipo BATCH, en escala de laboratorio. El modelo se propone con el objetivo de dar una primera aproximación, en la forma más simplificada posible de la descripción de las transformaciones que ocurren en el proceso de la fermentación, por lo que no refleja completamente la interrelación entre todos los factores concurrentes en la producción de **GOD**. El control y la optimización del proceso de producción industrial de **GOD** requerirán de un modelo matemático más perfeccionado que los autores se proponen elaborar en las sucesivas etapas conducentes al logro del objetivo final de la investigación.

Para concluir esta introducción diremos unas breves palabras acerca de los métodos matemáticos utilizados [ver Dennis-Schnabel (1983), Gómez (1995) y Shampine-Gordon (1991)]. Para la descripción del fenómeno se construyó un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias, cuya forma podía sólo describirse de manera muy general, formalmente. Ciertas consideraciones de carácter biológico permitieron adelantar las formas de los miembros derechos de algunas de las ecuaciones del sistema; en otros casos se hicieron suposiciones bastante aproximadas de su expresión. En todas ellas, figuran parámetros, [ver trabajos anteriores de Marrero-Gómez (1997).] cuyos valores –en investigaciones similares realizadas por otros autores– comúnmente son asignados de manera aproximada, partiendo de consideraciones hechas de los datos experimentales. A diferencia de ellos, nosotros usamos estos datos experimentales como datos iniciales para el ajuste del modelo y la identificación de sus parámetros, mediante métodos de optimización y resolución numérica de las ecuaciones diferenciales involucradas. En este enfoque del problema radica uno de los aspectos más novedosos de este trabajo, en el contexto de las aplicaciones de la matemática en el campo de la Microbiología y en la manera general de abordar el delicado problema de la estimación de parámetros.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1. El experimento

El problema real que se desea modelar, es un experimento de laboratorio mediante el cual se quiere conocer la dinámica de obtención de la enzima glucosa oxidasa (**GOD**) a partir del hongo *Penicillium Funiculosum* (**PF**) en un medio líquido de cultivo químicamente preparado. Se trata de un proceso de fermentación de tipo batch, que tiene lugar cuando en un medio de cultivo determinado se tiene un microorganismo (biomasa: en este caso el **PF**) y sustancias orgánicas que se descomponen o transforman por la acción de la biomasa o de otras sustancias, conformando un sistema de carácter cerrado (es decir, donde no existe contacto con el medio exterior). El medio de cultivo es un líquido que se prepara en un recipiente adecuado, que recibe el nombre de fermentador, en el cual ocurre todo el proceso. A partir de la introducción del inóculo previamente preparado, consistente en una pequeña cantidad de medio de cultivo que contiene las cantidades y otras sustancias que inician la fermentación, no habrá entrada ni salida de

biomasa, sustancias ni medio, salvo las pequeñas muestras que se extraen a intervalos regulares de tiempo con el objetivo de realizar las mediciones. Por otra parte, el volumen de estas muestras es apenas significativo en relación con el volumen total del fermentador (en nuestro caso, muestras de 10 a 20 ml en un fermentador de 2,5 litros). Para homogeneizar el medio de cultivo, el contenido del fermentador se agita ininterrumpidamente, mediante lo cual se evita que la biomasa y otros componentes no solubles se concentren en la superficie del líquido (cultivo sumergido). Esto permite suponer que toda la población del microorganismo está sometida a condiciones uniformes y que una pequeña cantidad de medio de cultivo que se extraiga del fermentador en cualquier instante de tiempo, sea una muestra representativa de todo el cultivo y en consecuencia, sirva para medir las concentraciones de biomasa y otras sustancias que se tienen en el instante dado, dentro del fermentador.

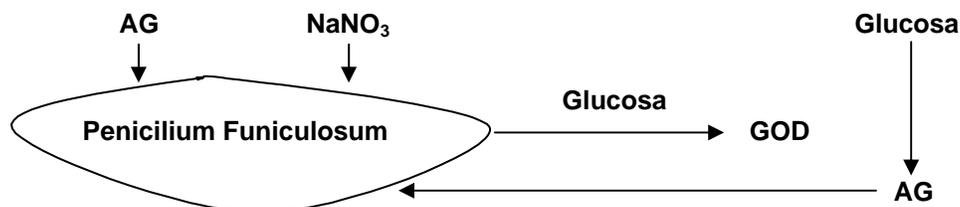
Para garantizar el suministro de oxígeno, elemento vital para los microorganismos aerobios, el fermentador se conecta a una entrada de aire.

3. DESCRIPCION FENOMENOLOGICA

A continuación se describe formalmente la dinámica de la fermentación:

En el medio líquido de cultivo químicamente preparado se tiene una población de **PF**, un hongo que sintetiza la enzima **GOD**, excretándola al medio inducida por la presencia de glucosa. Como fuentes de nitrógeno, de carbono y de energía, necesarias para la vida, crecimiento y desarrollo del microorganismo, se le suministra nitrato de sodio y ácido glucónico que son los sustratos que consume el mismo, y se piensa que el primero está directamente vinculado a la síntesis de **GOD**. La glucosa, a pesar de ser una fuente de carbono no constituye directamente un sustrato para el consumo del microorganismo; o sea, no es asimilable por este, sino que es una especie de sustrato crudo que sufre una transformación en ácido glucónico **AG** provocada por la presencia de la enzima **GOD**. Esta transformación ocurre en el medio, fuera del microorganismo.

Luego el **AG** juega un doble papel, como sustrato y como producto de la reacción extracelular de la glucosa y la enzima. La glucosa desaparece completamente durante esta transformación.

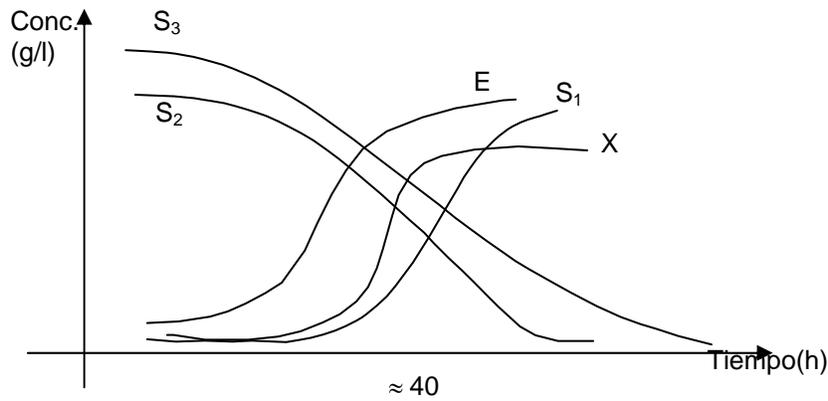


Todo este mecanismo es una representación macroscópica simplificada de una serie de reacciones bioquímicas más complicadas que se desencadenan a nivel celular y que no resultan conveniente considerar a la hora de modelar matemáticamente.

Durante el proceso intervienen 5 factores fundamentales: el microorganismo productor de **GOD** y consumidor de nitrato y **AG** para crecer; el nitrato, consumido en el proceso de formación de biomasa el que, por tanto, llega a desaparecer; la glucosa, que desaparece en la medida que se transforma en **AG**; el **AG**, sustrato que consume el microorganismo y que se forma producto de una reacción extracelular y la enzima **GOD**, producto sintetizado por el microorganismo. A lo largo de la fermentación, estos factores varían en cantidad, en la medida que se consuman o se formen. Así, podemos considerarlos como funciones del tiempo y serán las variables de nuestro modelo; asumiendo la siguiente notación:

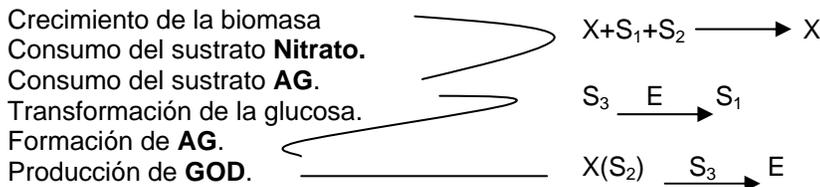
- X: Concentración de biomasa.
- S₁: Concentración de AG (sustrato).
- S₂: Concentración de Nitrato (sustrato).
- S₃: Concentración de Glucosa (sustrato no asimilable).
- E: Concentración de GOD (enzima).

Estas magnitudes se miden en gramos por litros (g/l) salvo E, cuya unidad de medición es (u.i./ml). El patrón de comportamiento general en función del tiempo de estas cinco variables se muestra en el siguiente gráfico.



En la primera parte del proceso la curva del **AG** es creciente ya que predomina su formación sobre el consumo, luego ocurrirá lo contrario, al ir desapareciendo la glucosa.

Se han considerado seis procesos fundamentales que ocurren durante el cultivo que pueden representarse simplificadaamente a través de las siguientes macroreacciones, identificables a nivel fenomenológico mediante la observación de la dinámica de cambio de los factores.



Para construir el modelo se realiza un balance de masa en cada una de las componentes del sistema (variables).

$$\text{Velocidad de transferencia (entrada-salida)} + \text{Velocidad de transformación (formación-consumo)} = \text{Velocidad de acumulación.}$$

Como la fermentación es de tipo batch, o sea no existe transferencia, el modelo toma la siguiente estructura:

$$\frac{dx}{dt} = \mu(S_1, S_2) \cdot X$$

$$\frac{dS_1}{dt} = -\frac{1}{Y_1} \mu(S_1, S_2) \cdot X + Y_3 Q_1(S_3, E)$$

$$\frac{dS_2}{dt} = -\frac{1}{Y_2} \mu(S_1, S_2) \cdot X$$

$$\frac{dS_3}{dt} = -Q_1(S_3, E)$$

$$\frac{dE}{dt} = Q_E(S_2, S_3, X)$$

donde:

μ : velocidad específica de crecimiento de la biomasa.

Q_1 : velocidad de formación del sustrato **AG**.

Q_E : velocidad de biosíntesis de **GOD**.

Y_1, Y_2, Y_3 : coeficientes estequiométricos del consumo de nitrato y **AG** para la formación de biomasa y de la transformación de la glucosa en **AG** respectivamente.

El concepto de velocidad específica se define como velocidad por unidad de biomasa, los coeficientes Y_i

son llamados rendimientos (debe expresar qué cantidad de biomasa debe obtenerse con cierta cantidad inicial de nitrato en ciertas condiciones). Las funciones, Q_1 , Q_E y los coeficientes Y_1, Y_2, Y_3 son positivos. La formación del **AG** no depende de la biomasa ya que tiene un carácter puramente química porque ocurre fuera de la célula.

Este tipo de modelación tiene la dificultad de que, a diferencia de otras ciencias como la Física, no se presentan leyes determinadas que rigen el fenómeno, sino que la expresión matemática de las leyes cinéticas o velocidades de los procesos, es necesario determinarlas empíricamente. [ver Núñez (1992), Pérez **et al.** (1999)]

El sistema de ecuaciones diferenciales que conforman el modelo se concretó para las primeras 40 o 50 horas del cultivo, que representa casi la primera mitad del tiempo total de duración de los experimentos y durante la cual se alcanza el máximo de producción de **GOD** y una fase estacionaria en el crecimiento del microorganismo. En esta parte del proceso el **AG** no constituye un sustrato limitante, o sea su concentración en el medio es suficientemente alta, en realidad crece debido a la alta concentración inicial de glucosa y no limita el crecimiento del microorganismo. Por lo tanto, este factor no se incluye en la expresión de, sino que consideramos el consumo de **AG** simplemente proporcional a la cantidad de biomasa. El sustrato limitante en esta etapa es el nitrato, ya que decrece hasta desaparecer y en la medida que esto ocurre se retarda el crecimiento de la biomasa; de ahí que usemos la siguiente expresión para la velocidad específica del crecimiento, $\mu(S_2) = \frac{\mu_m S_2}{K_{S_2} + S_2}$, donde μ_m es el coeficiente de velocidad específica máxima de crecimiento de la biomasa y K_2 es la constante de saturación del nitrato.

Esta expresión refleja además, una etapa inicial de crecimiento aproximadamente exponencial cuando la concentración de nitrato es aún relativamente alta o se ha consumido poco. Esta es una forma típica de crecimiento microbiano en cultivos batch, una fase exponencial y una fase de desaceleración que conduce a una fase estacionaria (acumulación máxima de biomasa). Puede observarse en los gráficos de las curvas de mediciones cierta propiedad entre las velocidades de crecimiento de la biomasa y el consumo de nitrato y entre la de la formación de **AG** y la desaparición de la glucosa. El sistema con el que se realizó el ajuste de las curvas experimentales es el siguiente:

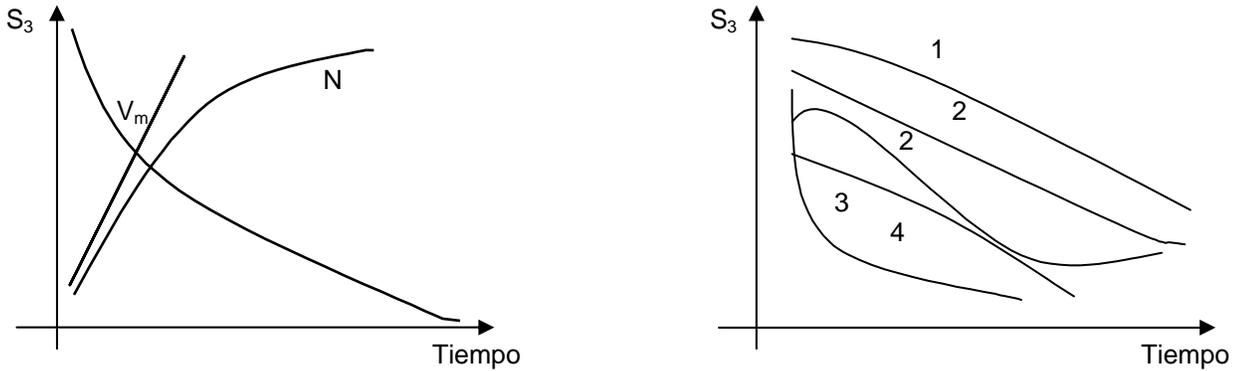
$$\begin{aligned} \frac{dX}{dt} &= \frac{\mu_m S_2}{K_2 + S_2} \cdot X \\ \frac{dS_1}{dt} &= -q_1 \cdot X - Y_3 \frac{dS_3}{dt} = -q_1 \cdot X + Y_3 \cdot \frac{V_m S_3}{K_3 + S_3 + \frac{1}{K_i} \cdot S_3^2} \\ \frac{dS_2}{dt} &= -\frac{1}{Y_2} \cdot \frac{dX}{dt} = -\frac{1}{Y_2} \cdot \frac{\mu_m S_2}{K_2 + S_2} \cdot X \\ \frac{dS_3}{dt} &= -\frac{V_m S_3}{K_3 + S_3 + \frac{1}{K_i} \cdot S_3^2} \\ \frac{dE}{dt} &= \frac{q_E}{K_E + S_2} \end{aligned}$$

Donde: $\mu_m, K_2, Y_2, q_1, Y_3, K_3, V, K_i, q_e, K_E$ son constantes positivas.

En la ecuación de la enzima se ha tenido en cuenta solamente el hecho de que al inicio, mientras $[S_2]$ es relativamente alta, hay cierta inhibición de la síntesis de enzima y en la medida que avanza el proceso y el microorganismo consume suficiente nitrato aumenta la velocidad de producción de **GOD**.

La expresión de la velocidad de consumo de glucosa refleja cómo tiende a cero mientras lo hace la concentración de glucosa, además tiene la utilidad de englobar otras más sencillas que se ajustaron indistintamente a diferentes experimentos; por ejemplo para $1/K_i = 0$ se tiene, que es el caso en que la glucosa decrece al inicio de forma casi lineal en el tiempo, luego tiende a cero a una velocidad también decreciente, en valor absoluto. En este caso, la derivada nunca decrece, en valor absoluto, con el tiempo y si $K_3 \gg S_3$ decrecerá exponencialmente en el tiempo, en valor absoluto. El término $(1/K_i) \cdot S_3^2$ en el

denominador, introduce un punto de inflexión en la curva de $S_3(t)$, siendo la velocidad creciente en el tiempo, en valor absoluto. Si $K_3 = 0$, entonces la derivada siempre crece con el tiempo, en valor absoluto y esto sólo podría ajustar a un intervalo inicial.



Para la construcción del modelo [ver Hairer **et al.** (1996) y Shampine-Gordon. (1991)] se trató que el sistema de ecuaciones resultara lo más sencillo posible, de ahí que no se hayan considerado todas las dependencias en las expresiones cinéticas o se hicieran algunas simplificaciones. Además, no pudo contarse con un grupo de experimentos específicos para determinar la forma de dependencia de las velocidades respecto a cada factor, a diferentes concentraciones iniciales de dicha variable. Tampoco contamos con literatura sobre este proceso ni información sobre los valores de las constantes. En la medida que se consideren nuevas hipótesis y se diseñen nuevos experimentos se incluirán otras relaciones en el modelo que describan con mayor precisión el comportamiento real.

Este sistema de ecuaciones brinda la facilidad de no tener que trabajar con las cinco evaluaciones a la vez, sino hacerlo por separado con sistemas de menor dimensión, lo cual representa cierta ventaja para el cálculo. Por ejemplo, la ecuación de S_3 puede integrarse independiente de las otras ecuaciones y se obtiene,

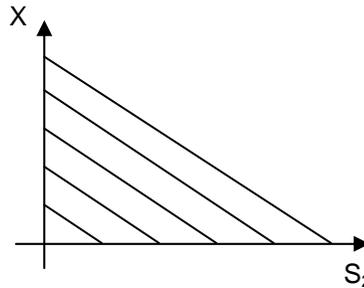
$$K_3 \ln\left(\frac{S_3}{S_3^0}\right) + (S_3 - S_3^0) + \frac{1}{2K_i} (S_3^2 - S_3^{0^2}) = V(t - t_0)$$

Lo mismo puede hacerse con el sistema de orden 2 formado por las ecuaciones de la biomasa y el nitrato. Su aspecto de fases se describe por segmentos de rectas en el primer cuadrante (no tienen sentido valores negativos) ya que se obtiene una primera integral de forma:

$$\frac{d}{dt}(X + Y_2 S_2) = 0, X + Y_2 S_2 = \text{cte.}$$

$$X + Y_2 S_2 = X^0 + Y_2 S_2^0$$

$$X = X^0 - Y_2 (S_2 - S_2^0)$$



Con esta ecuación lineal no diferencial puede estimarse fácilmente el valor de Y_2 . Si despejamos S_2 y sustituimos en X , puede obtenerse una sola ecuación diferencial no lineal de primer orden

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_m (Y_{s0} + X_0 - X)}{Y \cdot K_2 + Y_{s0} + X_0 - X} \cdot X$$

Esta ecuación puede integrarse separando variables,

$$\left[\left(\frac{YK_2 + YS_0 + X_0}{YS_0 + X_0} \right) \left(\frac{1}{X} + \frac{1}{YS_0 + X_0 - X} \right) - \frac{1}{YS_0 + X_0 - X} \right] dX = \mu_m dt$$

$$\int_{t_0}^t \left[\left(1 + \frac{YK_2}{YS_0 + X_0} \right) \cdot \frac{1}{X} + \frac{YK_2}{YS_0 + X_0} + \frac{1}{YS_0 + X_0 - X} \right] dX = \int_{t_0}^t \mu_m dt$$

$$\left(1 + \frac{YK_2}{YS_0 + X_0} \right) \ln \left(\frac{X}{X_0} \right) - \frac{YK_2}{YS_0 + X_0} \cdot \ln \left(\frac{YS_0 + X_0 - X}{YS_0} \right) = \mu_m \cdot t$$

A pesar de que no se obtiene, al integrar, una función explícita $S_3(t)$ y $X(t)$, las ecuaciones resultantes pueden ser útiles por su linealidad respecto a las constantes, en la estimación inicial de los valores de estas.

Para completar el modelo es necesario identificar las constantes que aparecen en el mismo, cuyos valores se desconocen [ver otras estrategias en Bard (1998), Bock (1991) y Jacquez-Greif (1985)]. Una vez dados los valores de las constantes podremos resolver el sistema de ecuaciones y comparar la solución con las mediciones. La estimación de los parámetros o constantes nos permite determinar la bondad de ajuste del modelo, o sea, si nos satisface la aproximación entre la solución del sistema y los datos experimentales. De hecho, las constantes se estiman seleccionando los valores que determinen la solución del sistema que mejor aproxime las mediciones [ver Marrero-Gómez (1990), (1994) y (1997)].

3. LAS MEDICIONES

Para validar el modelo se tomó un conjunto de experimentos y se ajustó el sistema en cada caso. Cada experimento consiste en una fermentación batch [ver Núñez (1992), Pérez *et al.* (1999)] donde se miden, cada cierto intervalo de tiempo los valores de concentraciones de biomasa, sustratos y productos, como se muestra en las tablas posteriores, correspondientes a la cepa P40-1 del *Penicilium Funiculosum*. Todos los experimentos no se realizaron en las mismas condiciones de cultivo, de uno a otro varió un elemento importante: la velocidad de aereación o flujo de aire. El tiempo se mide en horas. En las tablas también se muestran los valores del PH en el medio que varía en cierto rango (debiera ser constante), lo cual pudiera influir en las velocidades.

Experimento 1 (En zaranda)

t	X	S ₁	S ₂		S ₃		E
0	1,07	7,19	13,73	10	150	100	0,048
12	1,1	27,9	4,16	3,028	102,02	67,99	0,446
24	9,26	36,6	2,65	1,93			2,03
48	15,76	64,08	0,503	0,366	27,8	18,53	5,61

Experimento 2 (Agitación 300, aereación 60)

t	X	S ₁	S ₂		S ₃		E	PH	Volumen de muestra
0	0,33	2,62	12,53	10	172	100	0,083	5,28	12
16	3,44	23,54	9,55	7,62	129,9	75,5	0,674	5,4	14,5
24	5,91	34,27	2,8	2,234	128,52	74,72	0,74	3,7	18,6
40	7,5	51	1,07	0,8538	49,1	28,53	5,62	4,8	12

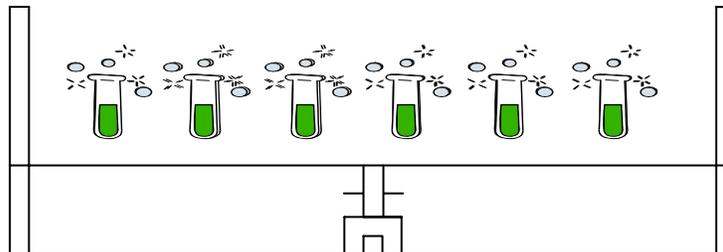
Experimento 3 (Agitación 300, aereación 80)

t	S ₁	S ₂		S ₃		E	PH	Volumen de muestra
0	2,35	8,93	10	168,97	100	0,005		14
17	22,49	7,9	3,84	104,47	61,637	0,9	4,6	13,5
23	46,03	2,29	2,5625	57	33,63	1,74	4,0	18,5
41	57,02	0,603	0,6747	3,58	2,0827	5,24	3,7	21

Experimento 4 (Agitación 300, aereación 70)

t	X	S ₁	2	S ₃		E	PH	Volumen de muestra
0				10		100		7
3	0,05	1,56	8,23		170	93,6	0,059	5,4
23	13,03	31,128	2,34		95,6	52,613	1,317	3,97
47	23,94	63,3	0,73		15,3	8,415	9,4	4

Para la glucosa y el nitrato aparecen dos columnas de mediciones donde la segunda corresponde a la normalización de la primera a partir del valor inicial que debió ser 100 y 10 respectivamente. En el experimento 4 no se normalizó el nitrato por falta de la medición inicial y el valor inicial de glucosa se estimó suponiendo que su comportamiento al inicio es lineal. Debe tenerse en cuenta que, en general estos valores de S₁, S₂ y S₃ son el resultado de promediar las mediciones que se repiten para una misma muestra y que muchas veces difieren mucho más que otras, por lo que la dispersión podría ser significativa. No se realizaron dos experimentos bajo las mismas condiciones de cultivo (concentraciones iniciales y factores ambientales) y los tiempos de medición fueron pocos y no uniformes. El experimento 1 se realizó en zaranda (los demás, en fermentador con 2,5 litros) que consiste en una especie de cubeta donde se colocan varios erlenmeyers con el mismo contenido y cada cierto tiempo, se toman un grupo de ellos para efectuar las mediciones. Aquí el sistema de agitación es menos efectivo ya que no se agita el contenido directamente, sino la base sobre la que descansan los recipientes; tampoco hay suministro de aire. Los erlenmeyers son de 100 ml con 25 ml de medio y cada uno equivale a una muestra en el fermentador.



A continuación se muestran los gráficos correspondientes a las mediciones de una misma variable en los distintos experimentos.

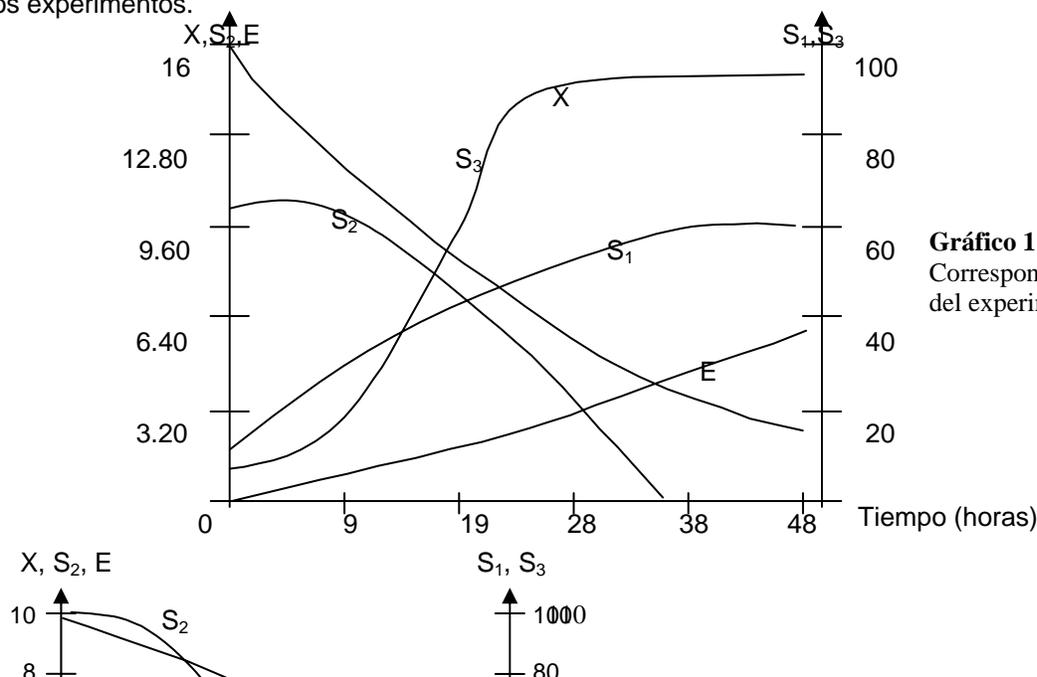


Gráfico 3.
Correspondiente a datos del experimento 3.

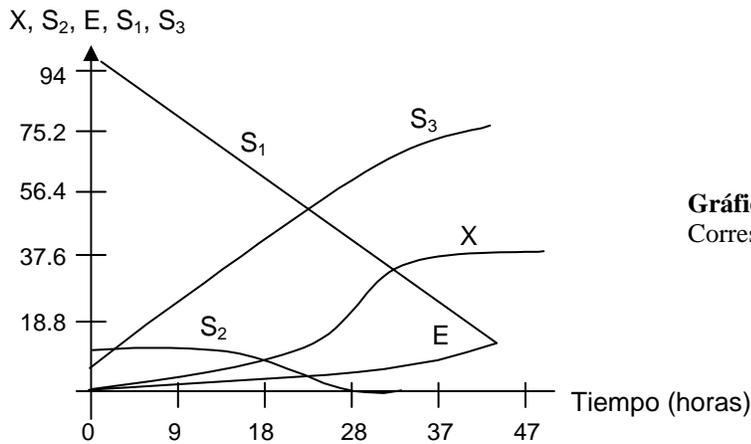
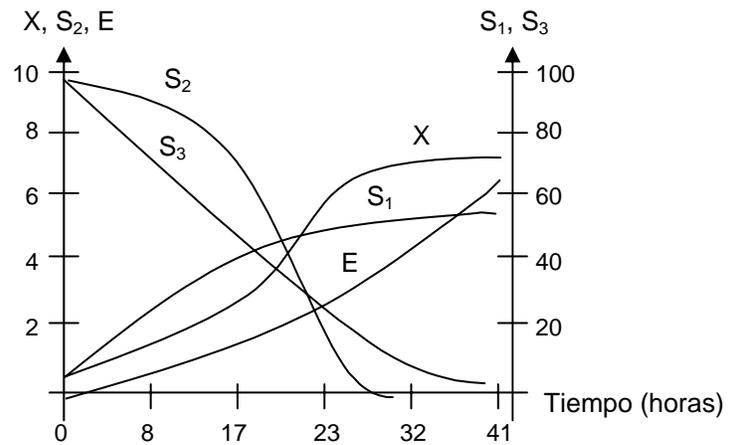


Gráfico 4.
Correspondiente a datos del experimento 4.

REFERENCIAS

- BARD, J. (1998): **Nonlinear Parameter Estimation**, Academic Press, New York.
- BOCK, H.G. (1991): "Recent parameter identification techniques for ODE in modern methods of Optimization", **Proceedings of the Summer School**, Bayreuth, 1990, (W. Krabs and Zowe Eds.), Springer Verlag, New York.
- DENNIS, J.E. and R.B. SCHNABEL (1983): **Numerical Methods for unconstrained optimization and non linear equations**, Prentice-Hall Series in Computational Mathematics, New Jersey.

- GOMEZ FERNANDEZ, J.A. (1995): Curso de Cálculo Variacional y Control Optimal. Notas para un libro de texto. Ediciones Universidad de La Habana, tomo I, La Habana.
- HAIRER, E.; G. WANNER and S.P. NORCETT (1996): **Solving Ordinary Differential Equations I, II**, Springer Verlag, New York.
- JACQUEZ, J. and P. GREIF (1985): "Numerical parameter identifiability and estimability: Integrating identifiability, estimability and optimal sampling design", **Mathematical Biosciences**, 77, 201-227.
- LUENBERGER, D.E. (1984): **Linear and Nonlinear Programming**, Second Edition, Addison-Wesley Publishing Co.Inc.Massachusetts.
- MARRERO, A. y J.A. GOMEZ (1990): "Estimación de parámetros en modelos dinámicos no lineales con empleo de métodos numéricos", **Investigación Operaciones**, XI, 101-118.
- _____ (1994): "Problemas de estimación de parámetros en modelos dinámicos no lineales", **Ciencias Matemáticas**, 15, 41-54.
- _____ (1997): "Experiencias numéricas con métodos multipaso-multi-derivadas para el problema de estimación de parámetros en modelos dinámicos", **Investigación Operaciones**, 18, 3-10.
- NOWAK, U. and P. DEUFLHARD (1983): "Towards parameter identification for large chemical reaction systems in numerical treatment of inverse problems in differential and integral equations", **Proceedings of International Workshop**. Heidelberg 1982. (P. Deuffhard and E.Hairer Eds.) Birkhauser. Boston.
- NUÑEZ, A. (1992): "Modelación matemática de un proceso microbiano de tipo Batch", Trabajo de Diploma, Facultad de Matemática y Computación. Universidad de La Habana. Ciudad de La Habana.
- PEREZ, J. y otros (1999): "Modelación Matemática de la producción de glucosa oxidasa", (Un modelo diferencial de un cultivo microbiano tipo batch). Reporte de aplicación. ICIMAF. Ciudad de La Habana.
- SCHOLDER, J. and G. BOCK (1991): "Identification of rate constants in bistable chemical reactions in modern methods of optimization", **Proceedings of the Summer School**, Bayreuth, 1990. (W.Krabs and J. Zowe Eds). Springer Verlag, New York.
- SHAMPINE, L.F. and M.K. GORDON (1991): "Computer Solution of Ordinary Differential Equations", **The Initial Value Problem**. W.H.Freeman and Co., San Francisco.