



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO®

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE
DURANGO**

**INSTITUTO TECNOLÓGICO
DEL VALLE DEL GUADIANA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN**



**“Relación entre sustrato, Biomasa y Producto en la
Dinámica de Crecimiento de Microorganismos en Términos
de Ecuaciones Diferenciales Ordinarias de Primer Orden”**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestro en Ingeniería

Presenta:

Iván Alonso García Alcantar

Directora de tesis:

Yolocauhtli Salazar Muñoz

Co-Director:

Paul Antonio Valle Trujillo

Durango, Dgo. México, Septiembre, 2024.





Presenta:

ING. IVÁN ALONSO GARCÍA ALCANTAR

COMITÉ TUTORIAL

<p><u>DRA. YOLOCUAUHTLI SALAZAR MUÑOZ</u></p> <p>Director</p>	 <p>Firma</p>
<p><u>DR. PAUL ANTONIO VALLE TRUJILLO</u></p> <p>Codirector</p>	 <p>Firma</p>
<p><u>DR. AURELIO CASTILLO LIÑAN</u></p> <p>Asesor</p>	 <p>Firma</p>

M.C. Norma Alicia García Vidaña


Coordinadora del programa de la Maestría en Ingeniería.

Dr. Francisco Javier Godínez García


Jefe de la División de Estudios de Posgrado e Investigación



Durango, Dgo. México, Septiembre de 2024.





Victoria de Durango, Dgo., a **25 / Septiembre / 2024.**

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
DEPI / C / 380 / 24.

ASUNTO: Autorización de Tema de Tesis de Maestría.

C. IVÁN ALONSO GARCÍA ALCANTAR
No. DE CONTROL G02041051
PRESENTE.

Con base en el Reglamento en vigor y teniendo en cuenta el dictamen emitido por el Jurado que le fue asignado, se le autoriza a desarrollar el tema de tesis para obtener el **Grado de Maestro en Ingeniería** cuyo título es:

“Relación entre sustrato, Biomasa y Producto en la Dinámica de Crecimiento de Microorganismos en Términos de Ecuaciones Diferenciales Ordinarias de Primer Orden”

CONTENIDO:

	RESUMEN
CAPÍTULO I	INTRODUCCIÓN
CAPÍTULO II	MARCO TEÓRICO
CAPÍTULO III	METODOLOGÍA
CAPÍTULO IV	RESULTADOS
CAPÍTULO V	CONCLUSIONES
CAPÍTULO VI	BIBLIOGRAFÍA
	ANEXOS

ATENTAMENTE.

Excelencia en Educación Tecnológica®
“La Técnica al Servicio de la Patria”

C. FRANCISCO JAVIER GODÍNEZ GARCÍA
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



FJCG'ammc.





Victoria de Durango, Dgo., a **25 / Septiembre / 2024.**

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
DEPI / C / 381 / 24.

ASUNTO: Autorización de Impresión de Tesis de Maestría.

C. IVÁN ALONSO GARCÍA ALCANTAR
No. DE CONTROL G02041051
P R E S E N T E .

De acuerdo al reglamento en vigor y tomando en cuenta el dictamen emitido por el jurado que le fue asignado para la revisión de su trabajo de tesis para obtener el **Grado de Maestro en Ingeniería**, esta División de Estudios de Posgrado e Investigación le autoriza la impresión del mismo, cuyo título es:

“Relación entre sustrato, Biomasa y Producto en la Dinámica de Crecimiento de Microorganismos en Términos de Ecuaciones Diferenciales Ordinarias de Primer Orden”

Sin otro particular de momento, quedo de Usted.

A T E N T A M E N T E .

Excelencia en Educación Tecnológica®
“La Técnica al Servicio de la Patria”

C. FRANCISCO JAVIER GODÍNEZ GARCÍA
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



FJGC'ammc.



Av. Felipe Pescador #1830 Ote. Col. Nueva Vizcaya C.P. 34080 Durango, Durango.
Tel. (618) 8290900 e-mail: tecnm.mx | idedurango.edu.mx



2024
Felipe Carrillo
PUERTO
APUNTADEL DEL PASELIMAJE
REVOLUCIONARIO Y LIBERTAD
1873-1940





Agradecimientos

Culminar esta tesis de maestría ha sido un viaje de aprendizaje y crecimiento personal, por lo que quisiera expresar mi más profundo agradecimiento a todas las personas e instituciones que contribuyeron y apoyaron durante el desarrollo de esta investigación.

En primer lugar, Agradezco al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el soporte financiero que me ha otorgado para realizar este posgrado, teniendo número de becario: 1236020. Al Tecnológico Nacional de México campus Durango, que me brindo los espacios y entorno para llevar a cabo esta investigación.

Agradezco a mi directora de tesis, la Dra. Yolocuauhtli Salazar Muñoz, por su invaluable orientación, paciencia y sabios consejos a lo largo de todo este proceso, su experiencia y apoyo han sido fundamentales para la culminación de este trabajo.

También quiero extender mi gratitud al Dr. Paul Antonio Valle Trujillo y al M.I. Aurelio Castillo Liñán, miembros del comité académico, por sus valiosas sugerencias y comentarios constructivos que enriquecieron y facilitaron el progreso de mi tesis.

Agradezco infinitamente al M.I. Emmanuel Rodríguez Talavera que por fortuna coincidimos en esta etapa de vida académica, gracias por todo tu apoyo y paciencia para compartir tus conocimientos.

A mi familia, especialmente a mi esposa la M.A.A.D Adriana Ferman Rodríguez, por su apoyo incondicional en todo momento, gracias por creer en mí, por tu paciencia y comprensión, por ser mi compañera en cada proyecto que se me ocurre, este logro es tanto mío como tuyo.

A mis padres y hermanos por el amor que me brindan, enseñarme que todo lo que se hace con esfuerzo y dedicación se logra.

A mis amigos: M.I. Armando Raúl Maturino Barraza, M.E. Jaime Aguilar Fierro, Ing. Luis Pedro Cepeda Retana y al C.P. Rogelio Domínguez Márquez quienes me ayudaron de diversas maneras en lo laboral para iniciar y concluir esta investigación.





Resumen

En esta investigación, se abordan las limitantes que existen sobre el modelado matemático de procesos de fermentación alcohólica, ya que están centrados principalmente en el crecimiento de la biomasa, ignorando la interacción que existe entre las demás variables que intervienen en él, como lo son: sustrato, producto final y velocidad de agitación. Por lo que surge la necesidad de formular un modelo compuesto por ecuaciones diferenciales ordinarias de primer orden (*EDO's*) que sea capaz de describir la dinámica de estas variables. El modelo se desarrolló y ajustó con un algoritmo de regresión no lineal a partir de los datos experimentales proporcionados por el laboratorio de biotecnología microbiana de la Unidad de Posgrado e Investigación (*UPIDET*) del Instituto Tecnológico de Durango. En un inicio se trabajó únicamente con la cepa *ITD0165* obtenida de la levadura *Pichia fermentans* con una concentración de sustrato inicial de 35 g/L a 100, 125 y 150 rpm, desarrollando el modelo ***Pichia fermentans (PF)*** obteniendo resultados estadísticamente aceptables, pero al emplear una base de datos más robusta, no ajustó de manera correcta. Razón por la que se toma la decisión de profundizar la investigación, generando el nuevo modelo matemático ***Pichia Fermentans 2 (PF2)***, el cual es capaz de ajustar los datos observables de las cepas: *ITD0165* e *ITD0504* a la concentración de sustrato inicial de 35 g/L a 100, 125 y 150 rpm y a la concentración inicial de sustrato de 60 g/L a 117, 125 y 142 rpm vs los datos estimados por el algoritmo. Los análisis estadísticos realizados mostraron un índice de bondad de ajuste superior a 0.9 para cada una de las variables del sistema, incluyendo biomasa, fructosa y etanol. Se aplicó y comprobó la teoría de positividad de sistemas no lineales, al implementar el método de Localización de Conjuntos Compactos Invariantes (*LCCI*) se realizó el análisis de la dinámica global del sistema determinando los límites ínfimos y supremos de cada variable (biomasa, sustrato, etanol). Se calcularon los puntos de equilibrio del sistema, y con la aplicación de la función candidata del método indirecto de Lyapunov se determinó la estabilidad asintótica del modelo ***PF2***.





Abstract

In this research, the limitations of mathematical modeling of alcoholic fermentation processes are addressed, as they are primarily focused on biomass growth, ignoring the interaction between the other variables involved, such as substrate, final product, and agitation speed. Therefore, there is a need to formulate a model composed of first-order ordinary differential equations (*ODEs*) capable of describing the dynamics of these variables. The model was developed and adjusted using a nonlinear regression algorithm based on experimental data provided by the laboratorio de biotecnología microbiana de la Unidad de Posgrado e Investigación (*UPIDET*) at the Instituto Tecnológico de Durango. Initially, only the *ITD0165* strain obtained from the yeast *Pichia fermentans* was used, with an initial substrate concentration of 35 g/L at 100, 125, and 150 rpm, developing the *Pichia fermentans* (**PF**) model and obtaining statistically acceptable results. However, when using a more robust database, it did not fit correctly. This led to the decision to deepen the research, generating the new mathematical model *Pichia Fermentans 2* (**PF2**), which is capable of fitting the observable data of the strains: *ITD0165* and *ITD0504* at an initial substrate concentration of 35 g/L at 100, 125, and 150 rpm and at an initial substrate concentration of 60 g/L at 117, 125, and 142 rpm versus the data estimated by the algorithm. Statistical analyses showed a goodness-of-fit index higher than 0.9 for each variable in the system, including biomass, fructose, and ethanol. The theory of positivity of nonlinear systems was applied and verified by implementing the Localization of Invariant Compact Sets (*LCCI*) method. The global dynamics of the system were analyzed, determining the lower and upper limits of each variable (biomass, substrate, ethanol). The equilibrium points of the system were calculated, and by applying the candidate function of the indirect Lyapunov method, the asymptotic stability of the **PF2** model was determined.





Tabla de contenido

1	Introducción	1
1.1	Antecedentes.....	2
1.2	Definición del Problema	7
1.3	Objetivos.....	7
1.4	Hipótesis	8
1.5	Justificación.....	8
2	Marco Teórico	10
2.1	Fermentación alcohólica.....	10
2.1.1	Fermentación por lotes	12
2.1.2	Aplicación de la fermentación alcohólica.....	13
2.2	Sistemas dinámicos.....	17
2.2.1	Clasificación de sistemas	17
2.2.2	Ecuaciones de estado para sistemas dinámicos.....	18
2.2.3	Ecuaciones diferenciales ordinarias de primer orden.....	19
2.2.4	Análisis de Positividad del sistema	21
2.2.5	Método de Localización de Conjuntos Compactos Invariantes (LCCI)	22
2.3	Métodos de análisis matemáticos	24
2.3.1	Método de Euler.....	25
2.3.2	Puntos de equilibrio	26
2.3.3	Estabilidad asintótica.....	26
2.4	Modelos matemáticos de sistemas biológicos	27
2.4.1	Crecimiento exponencial.....	30
2.4.2	Decrecimiento exponencial.....	31
2.4.3	Crecimiento sigmoideal.....	32
2.4.4	Crecimiento logístico.....	32





2.4.5	Crecimiento alométrico.....	33
2.4.6	Crecimiento Gompertz	34
2.5	Ley de acción de masas.....	35
2.6	Bioestadística para el ajuste de modelos	36
2.6.1	Grados de libertad.....	36
2.6.2	Nivel de significancia	37
2.6.3	Distribución t de Student	37
2.7	Ajuste de modelos a datos experimentales.....	38
2.7.1	Regresión lineal	38
2.7.2	Regresión no lineal	39
3	Metodología	40
3.1	Datos experimentales.....	41
3.2	Modelos mecanicistas	43
3.2.1	Modelo mecanicista <i>Pichia fermentans</i> (PF).....	43
3.2.2	Modelo mecanicista <i>Pichia fermentans 2</i> (PF2).....	46
3.3	Estimación de parámetros de los modelos mecanicistas	48
4	Resultados	51
4.1	Modelo <i>Pichia fermentans</i> PF	51
4.2	Modelo <i>Pichia fermentans 2</i> PF2.....	54
4.2.1	Coeficiente de determinación R^2	61
4.2.2	Caracterización del sistema PF2	62
5	Conclusiones.....	69
6	Bibliografía.....	71
7	Apéndice A.....	78





Índice de figuras

Figura 1 Curva de crecimiento microbiano.....	11
Figura 2 Fisión binaria en un bacilo procariota.....	28
Figura 3 Serie de tiempo para el decrecimiento exponencial.....	32
Figura 4 Serie de tiempo para el crecimiento logístico	33
Figura 5 Serie de tiempo para el crecimiento Gompertz.....	34
Figura 6 Datos experimentales vs datos estimados a una agitación de 100 rpm.....	53
Figura 7 Datos experimentales vs datos estimados a una agitación de 125 rpm.....	53
Figura 8 Datos experimentales vs datos estimados a una agitación de 150 rpm.....	53
Figura 9 Datos experimentales de la Cepa ITD0165 vs datos estimados con sustrato inicial de 35 g/L para las agitaciones de 100 rpm fila 1, 125 rpm fila 2 y 150 rpm fila 3.....	57
Figura 10 Datos experimentales de la Cepa ITD0165 vs datos estimados con sustrato inicial de 60 g/L para las agitaciones de 117 rpm fila 1, 125 rpm fila 2 y 142 rpm fila 3.....	58
Figura 11 Datos experimentales de la Cepa ITD0504 vs datos estimados con sustrato inicial de 35 g/L para las agitaciones de 100 rpm fila 1, 125 rpm fila 2 y 150 rpm fila 3.....	59
Figura 12 Datos experimentales de la Cepa ITD0504 vs datos estimados con sustrato inicial de 60 g/L para las agitaciones de 117 rpm fila 1, 125 rpm fila 2 y 142 rpm fila 3.....	60





Índice de tablas

Tabla 1 Descripción y unidades para las variables y parámetros del modelo PF.....	45
Tabla 2 Descripción y unidades para las variables y parámetros del modelo PF2.....	47
Tabla 3 Valores estimados de los parámetros mediante el algoritmo	52
Tabla 4 Coeficiente de determinación R^2 para cada una de las variables del sistema PF	54
Tabla 5 Valores estimados de los parámetros mediante el algoritmo para la <i>Cepa ITD0165</i>	56
Tabla 6 Valores estimados de los parámetros mediante el algoritmo para la <i>Cepa ITD0504</i>	56
Tabla 7 Coeficiente de determinación R^2 para cada una de las variables del sistema para la <i>Cepa ITD0165</i>	61
Tabla 8 Coeficiente de determinación R^2 para cada una de las variables del sistema para la <i>Cepa ITD0504</i>	61



Capítulo 1

1 Introducción

A nivel mundial existen 200 especies de agaves, de las cuales, como parte de la biodiversidad de México se tiene 150 de ellas, equivalente al 75% de este grupo de plantas; de las cuales entre 15 y 20 son magueyes mezcaleros, propios de cada una de las regiones del país que lo producen. La palabra mezcal tiene sus orígenes de la lengua náhuatl, *mezcalli*, cuyo significado es: maguey cocido. Esta planta de maguey mezcalero es parte de la familia de los *amarilidáceas*, de hojas largas y fibrosas de forma lanceolada de color verde azulado, y que al ser procesada se obtiene la bebida artesanal llamada mezcal, cuyo olor y sabor son originales e inconfundibles, se puede encontrar con apariencia transparente o color exquisitamente ámbar cuando es reposado, añejado o curado con algún otro producto natural [1].

En 1995 se logró la denominación de origen para el mezcal, registrada ante la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (OMPI), la cual abarca territorios protegidos en los estados de Durango, Guanajuato, Guerrero, Oaxaca, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas, misma denominación le ha dado un plus a esta bebida, abriendo puertas para la exportación del producto, por lo que su elaboración ha incrementado de manera considerable ya que en el 2014 su producción alcanzaba apenas los 1.5 millones de litros, y en el 2021 llegó aproximadamente a los 8.1 millones de litros [2].

Aunado a esto, el proceso de fermentación tiene importantes aportaciones para la vida saludable de los seres vivos, ya que produce nutrientes que ayudan a eliminar organismos indeseables que producen enfermedades o malestares a la persona. Las levaduras son microorganismos, las cuales corresponden al reino de los hongos, se emplean para la elaboración de diferentes productos. En la farmacéutica para la elaboración de vacunas y medicamentos, en la industria química para la producción de ácidos, aldehídos, etc., alimenticios principalmente en derivados de lácteos: yogurt, mantequilla, crema, queso, etc., y en productos alcohólicos como: vino, cerveza, mezcales, entre muchos otros [3].

1.1 Antecedentes

A continuación, se muestran artículos e investigaciones que ayudaran a formular, analizar y proponer un modelo matemático que exprese la relación existente entre las variables que intervienen en el proceso de fermentación; el sustrato, biomasa y producto.

Título del artículo	Resumen
Modelado de la fermentación de alcohol en la cervecera, algunos enfoques prácticos [4].	La ecuación de Balling sugiere que, de 2.0665 g de extracto de mosto, recibieron 0.11 g de biomasa de levaduras y todos los azúcares en el mosto son monosacáridos fermentables. Existen diferencias en el curso de la fermentación con cepas de levadura de fermentación superior e inferior libres e inmovilizadas. La influencia de la inmovilización en la fermentación con dos cepas diferentes conduce a un perfil de sabor y sabor diferente de las cervezas producidas.
Modelado de la producción de etanol a partir de melaza: una revisión [5].	El objetivo del estudio fue el de comprobar si las condiciones que puso el investigador extienden la producción de etanol a una temperatura de 30 °C y un cultivo estático y lapso de fermentación de 48 h, consiguiendo 55.8 g L ⁻¹ muestra que <i>Zymomonas mobilis</i> ha llamado la atención en la actualidad debido a su disponibilidad y forma parte de la investigación en el área de la biotecnología. Se emplearon diferentes modelos matemáticos: Monod, Moser, Teiseer, Aiba y Luong, proyectando en las pruebas preliminares realizadas en medio de fermentación de glucosa (50 g/L) contrastando que cantidades altas de enzimas (2.5–3.5 FPU/mL) podrían causar un efecto contrario sobre la tasa de crecimiento de <i>K. marxianus</i> y el número de células viables. Sin embargo, la producción máxima de etanol no se vio afectada y alrededor del 86% del teórico (22 g/L) se alcanzó en todos los casos independientemente de la dosificación de enzimas.
Modelado a nivel de sistema de fermentación de acetona-butanol-etanol [6]	Se desarrolló un modelo que permite mejorar los rendimientos del producto final, la fermentación de acetona-butanol-etanol (ABE) es un proceso metabólico de clostridios que produce solventes de base biológica. Primeramente, se realiza una descripción general de los procesos integradores que subyacen a la fermentación. Luego se examinan los esfuerzos de modelado, incluidos los primeros modelos simples, los modelos con una descripción metabólica sistemática y los que incorporan el metabolismo a través de la regulación genética simple. Prestando especial atención al modelo Liao et al, a nivel de sistema que integra las reacciones metabólicas, regulación de genes y señales ambientales.
Modelos matemáticos para la cinética microbiana en la fermentación en estado sólido: una revisión [7].	Se discutió sobre los modelos empíricos y estequiométricos que se han avanzado para los procesos de fermentación en estado sólido (SSF) y la atribución que realizan las condiciones ambientales en las variables de estos modelos: temperatura y humedad. Los modelos empíricos simples se usan ampliamente en el modelado cinético de procesos SSF debido a su practicidad de uso. Los métodos de modelado robustos, como los modelos estequiométricos, se encuentran en sus primeras etapas en los procesos SSF y requieren más profundización. El desarrollo de modelos en los que los modelos de fenómenos de transporte se combinan con los modelos de cinética de crecimiento puede ayudar a diseñar mejor el biorreactor SSF. Por otro lado, para usar SSF para producir productos valiosos, son necesarios modelos de formación de productos, que no están bien desarrollados en los procesos SSF.
Tecnologías de fermentación de etanol a partir de materias	Se comparó el rendimiento que se tiene de etanol entre <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , y la productividad de <i>Zymomonas mobilis</i>

<p>primas de azúcar y almidón [8].</p>	<p>son más altos, porque se produce menos biomasa y se mantiene una tasa metabólica de glucosa más alta a través de su vía especial Entner-Doudoroff. Se destacó que para la producción de etanol se implementan materias primas heterogéneas en vez de glucosa pura, y el azúcar residual al final de los procesos, se controla a un nivel muy bajo, por lo que el rendimiento de etanol que se calcula en función del azúcar total que se introduce en los sistemas de fermentación sin la deducción del residual puede ser tan alta como 90 – 93% de su valor teórico de etanol a glucosa. El sustrato HG que contiene 180– 220 gL^{-1} de azúcares totales ya se usa para lograr una correspondiente concentración de etanol de 10 – 12% (v/v). La fermentación de baja gravedad aumenta significativamente el consumo de energía en los procesos posteriores, como la destilación y el tratamiento de destilación de residuos. El sustrato VHG que contiene más de 250 gL^{-1} de azúcares totales se recomienda como foco para futuras investigaciones sobre fermentaciones de etanol.</p>
<p>Big data en biología de sistemas de levadura [9].</p>	<p>Se revisaron los avances de Big Data Multi-Ómica para tres aspectos de los modelos que procesan levaduras: la dinámica de la expresión génica, metabolismo celular y la red de regulación entre la expresión génica y el metabolismo.</p> <p>Consolidando que la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>, ha sido pionero tanto en el desarrollo temprano de tales modelos y conceptos de modelado, como en la integración más reciente de Big Data Multi-Ómica en estos modelos para esclarecer los principios fundamentales de la biología.</p>
<p>El análisis unicelular del crecimiento de levaduras y bacterias en ciernes revela una estrategia común de regulación del tamaño [10].</p>	<p>Se comparó el crecimiento de las células en cinco medios de cultivo diferentes, para los cuales el modelo más preciso para su pronóstico y análisis fue el modelo incremental, ya que al promediar los datos de todas las células al nacer se encontró una correlación lineal con una pendiente muy cercana a 1. Además, se argumenta que para <i>Saccharomyces cerevisiae</i> el "incremento de volumen" no se agrega desde el nacimiento hasta la división, sino más bien entre dos eventos de gemación, misma célula se demostró la similitud que tiene con el control de tamaño en <i>Escherichia coli</i>.</p>
<p>Levaduras para el futuro [11].</p>	<p>Se investigó sobre los efectos que causan las variantes de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en el producto final de la fermentación, en el que los enólogos pueden diseñar creativamente el carácter y el valor del vino a través de un mejor manejo de la levadura, por lo que se espera un futuro desafiante entre los productores de vino, Con los avances tecnológicos se detonara una innovación y adaptación a los nuevos mercados, perfeccionando los productos existentes.</p> <p>Se pretenden seleccionar y desarrollar nuevas cepas comerciales y la implementación de levaduras diferentes a las comúnmente usadas <i>Saccharomyces</i>, las perspectivas de fermentaciones de cultivos mixtos y explora las posibilidades de fermentaciones continuas de alta densidad celular.</p>
<p>Optimización multiobjetivo del proceso de fermentación de cerveza mediante simulación dinámica [12].</p>	<p>Se estudió un modelo dinámico detallado que describe el proceso de fermentación de cerveza industrial, utilizado para simular variaciones de temperatura publicadas y comparar los resultados con los obtenidos, con el protocolo en vigor en la fábrica de cerveza WEST Beer (Glasgow, Escocia, Reino Unido). Identificando una compensación entre los objetivos de diseño, lo que dificulta la determinación de un único escenario óptimo. Se propuso un modelo cinético de Andrés-Toro et al (1998), el cual cuenta con 5 respuestas: biomasa, azúcar, etanol, diacetilo y acetato de etilo, el cual segrega la biomasa en tres componentes: retraso, activas y muertas, donde las activas son consideradas como el único agente fermentador La función</p>

	<p>primordial considera la maximización del etanol, así como la minimización del tiempo de lote (con asignación de peso variable) y restricciones explícitas sobre las concentraciones de diacetilo y acetato de etilo. Determinamos variaciones de temperatura prometedoras, que permiten disminuciones de tiempo de lote de hasta 15 h: esto representa una disminución sustancial en el tiempo del ciclo de producción y, por lo tanto, se espera que mejore el rendimiento y la rentabilidad de la planta anual, sin ningún efecto perceptible en el sabor.</p>
<p>El modelado de la producción de etanol por <i>Kluyveromyces marxianus</i> utilizando suero como sustrato en biorreactores A-Stat continuos [13].</p>	<p>Se investigó la cinética de la bioconversión del suero en etanol por <i>Kluyveromyces marxianus</i> en biorreactores continuos utilizando la “técnica del acelerostato” (A-stat), siendo los modelos matemáticos más apropiados para la descripción cinética de la bioconversión los propuestos por Monod y Levenspiel en combinación con el de Ghose y Tyagi, resaltando que estos resultados serán útiles para ampliar este tipo de proceso.</p> <p>Estos sistemas se modelaron utilizando cuatro modelos no estructurados diferentes, que difieren en las expresiones para el crecimiento específico (μ) y las tasas de consumo de sustrato (r_s), teniendo en cuenta la limitación del sustrato y la inhibición del producto. Los datos experimentales mostraron que la tasa de dilución (D) afectaron directamente la fisiología y el metabolismo de las células. La tasa de crecimiento específico siguió a la tasa de dilución ($\mu \approx D$) para la tasa de aceleración más baja ($a = 0.0015 h^{-2}$), condición en la que el mayor rendimiento de etanol ($0.52 gg^{-1}$) fue obtenido. La tasa de aceleración más alta ($a = 0.00667 h^{-2}$) condujo a un menor rendimiento de etanol ($0.40 gg^{-1}$) en el sistema donde se utilizaron células libres, mientras que con células inmovilizadas los rendimientos de etanol aumentaron un 23% ($0.49 gg^{-1}$).</p>
<p>Monitorización de la población bacteriana durante la fermentación alcohólica de mezcal en Durango por DGGE [14].</p>	<p>Se estudió la aplicación de una técnica molecular independiente del cultivo, para detectar las poblaciones bacterianas involucradas en la fermentación espontánea del mezcal, debido a que son las menos estudiadas debido a la dificultad que conlleva recuperarlas, deduciendo que las bacterias no aisladas fueron significativas en el proceso, además de sugerir que la población de bacterias ácido-lácticas y ácido-acéticas son semejantes a las aisladas en otras regiones productoras de mezcal, pero hacen contraste en algunas que podrían ser fundamentales en el desarrollo de las particularidades sensorias del mezcal.</p>
<p>Optimización del diseño del proceso de fermentación de etanol [15].</p>	<p>Se diseñó un proceso de producción de etanol basado en la fermentación de melaza, teniendo por objetivo la elaboración de etanol al 95.7% y levadura como producto secundario.</p> <p>La ventaja del sistema de columna de destilación única radica en el hecho de que en la columna única se concentra el componente ligero y también se requiere una bomba de calor más económica. Cuanto menor sea la diferencia de temperatura entre los puntos de ebullición de los componentes separados, menor será la diferencia de temperatura dentro de la columna y más económica será la bomba de calor. El rango de temperaturas en el que opera la bomba de calor es el factor decisivo para su economía y uso.</p> <p>El esquema básico del proceso con dos columnas de destilación se integró térmicamente, lo que permitió reducir los costos totales anuales en un 27%. Esto se logró principalmente mediante el intercambio de calor entre las corrientes de las columnas frías y calientes. Se redujeron las áreas de vaporizadores y condensadores, pero los principales ahorros se debieron a la reducción de los servicios públicos.</p>

<p>Una ecuación diferencial no autónoma para modelar el crecimiento bacteriano [16].</p>	<p>Se implementó un modelo de ecuación diferencial, Baranyi y Robert, que da solución a los defectos del modelo de Gompertz, que describe la fase de retraso/latencia como un periodo de ajuste $\alpha(t)$ y para el parámetro de retraso se añadió una nueva definición, incluyendo una fase de crecimiento exponencial lineal $\mu(x)$, con ello se construyó una familia de modelos de crecimiento, cuyas propiedades ventajosas fueron demostradas. Contando con una base de datos de más de 500 curvas de crecimiento, sus propiedades estadísticas se compararon con el enfoque de Gompertz generalmente manejado en la microbiología de alimentos.</p>
<p>Un enfoque dinámico para predecir el crecimiento bacteriano en los alimentos [17].</p>	<p>De acuerdo con los modelos de crecimiento descritos por Baranyi, se planteó uno nuevo, en el que el estado fisiológico de las células está representado por una sola variable, donde la duración del desfase está determinado por el valor de esta variable en la inoculación y por el entorno posterior a ella, destacando que cuando el procedimiento de subcultivo está estandarizado (100% controlado), el estado fisiológico del inóculo es relativamente constante e independiente de las condiciones de crecimiento posteriores. Demostró que, con células con el mismo historial de pre-inoculación, el producto del parámetro de desfase y la tasa de crecimiento específica máxima es una transformación simple del estado fisiológico inicial.</p>
<p>Cuando es lo suficientemente bueno: una comparación de los modelos de Gompertz, Baranyi y modelos lineales trifásicos para el ajuste de curvas de crecimiento bacteriano [18].</p>	<p>Se desarrolló un modelo lineal trifásico para determinar qué tan bien se podrían describir las curvas de crecimiento al emplear un modelo sencillo. El modelo separa las curvas de crecimiento bacteriano en tres fases: las fases de retraso y estacionarias donde la tasa de crecimiento específica es cero ($\mu = 0$), y la fase exponencial, en que el logaritmo de la población bacteriana se desarrolla linealmente con el tiempo ($\mu = \text{constante}$), y tiene cuatro parámetros: N_0 (Log_{10} densidad de población inicial), N_{MAX} (Log_{10} densidad de población final), t_{LAG} (tiempo en que termina la fase de retraso) y t_{MAX} (tiempo en que termina la fase exponencial). Se realizó un comparativo entre del modelo desarrollado y los modelos de Baranyi y Gompertz, utilizando datos de crecimiento establecidos para <i>Escherichia coli</i> 0157:H7, confirmando que sus respectivas curvas de crecimiento compartían similitudes aceptables. El modelo lineal fue más "robusto" que los demás, especialmente cuando los datos experimentales eran mínimos. Se planteó que la conducta de transición de las bacterias al final de la fase de retraso puede explicarse sobre la base de la variabilidad biológica.</p>
<p>Modelado de la curva de crecimiento bacteriano [19].</p>	<p>Se realizó un comparativo de las funciones sigmoidales: logísticas, Gompertz, Richards, Schnute y Stannard, para describir una curva de crecimiento bacteriano, también se contrastaron estadísticamente empleando el modelo de Schnute, se utilizó la prueba "t" para calcular los intervalos de confianza para los parámetros de crecimiento, también se realizó la prueba "f", en la que la falta de ajuste de los modelos se compara con el error de medición. Todas estas funciones sigmoidales se modificaron para que incluyeran parámetros biológicamente relevantes. En casi todos los casos, el modelo de Gompertz puede considerarse como el mejor modelo para describir los datos de crecimiento.</p>
<p>Análisis de modelos matemáticos para el comportamiento de dos microorganismos en un proceso de fermentación [20].</p>	<p>Se llevo a cabo el análisis de 4 propuestas de modelado matemático, los cuales muestran el desempeño y comportamiento de los microorganismos en la producción de etanol, con el objetivo de estudiar y comprender las fases que presentan las bacterias de acuerdo el medio donde se desarrollan, para cada una de las propuestas se cuantificó Biomasa, Sustrato y Producto. Con el primero (Monod), se comprobó que la obtención de producto está en función específicamente de la concentración del sustrato limite y de</p>

	<p>otros parámetros presentes en este tipo de procesos como lo son las constantes de saturación y velocidad específica.</p> <p>En la segunda propuesta, se estudió más a fondo el proceso de fermentación, pero esta vez empleando dos microorganismos: <i>X</i> y <i>Z</i>. los cuales generan su propio producto, siendo el <i>X</i> que crea etanol y el microorganismo <i>Z</i>, produce ácido láctico.</p> <p>En el tercero (usando dos microorganismos, de los cuales solo uno produce hidrólisis de sacarosa), se pudo deducir que tienen proporcionalidad de crecimiento tanto la biomasa y el producto, y el punto límite de este crecimiento lo establece el valor de la tasa máxima de crecimiento.</p> <p>Para finalizar, en el último modelo (inhibición por producto para el crecimiento de biomasa), se efectuó un proceso similar al modelo anterior, con la diferencia que el microorganismo <i>X</i> mostro inhibición por producto para el desarrollo de biomasa sin afectar la producción final de etanol.</p>
<p>Simulación del proceso de fermentación de cerveza artesanal [21].</p>	<p>Se estudió el comportamiento que se tiene en el proceso de fermentación para la elaboración de cerveza artesanal, usando un modelo matemático dinámico propuesto por Gee y Ramírez (1988),</p> <p>Dicha propuesta trabajó con velocidades de consumo de las variables: glucosa, maltosa y maltotriosa., y su variable de salida es la concentración de etanol y la concentración de biomasa (levaduras) como variable auxiliar. Deduciendo que el apoyarse con este tipo de sistemas dinámicos, se efficientiza el tiempo realizando las estimaciones de los parámetros necesarios para la fermentación de acuerdo con el tipo de producto que se necesite elaborar: calidad de etanol final</p> <p>Se encontró una buena concordancia entre las predicciones del modelo y las mediciones de las variables de estado en términos de estadísticas de sesgo (BIAS), coeficiente de correlación (r), raíz cuadrática media (RMSE), error absoluto medio (MAE) y eficiencia de modelado (EF). Estimación de parámetros destacando que el modelo de Monod fue el que apporto mejores resultados.</p>
<p>Modelo mecanicista del crecimiento de biomasa, consumo de glucosa y producción de etanol por <i>Kluyveromyces marxianus</i> en fermentación por lotes [22].</p>	<p>Se desarrollo un modelo mecanicista capaz de detallar el comportamiento que tienen entre si las variables de una fermentación alcohólica por lotes empleando la levadura <i>Kluyveromyces marxianus</i>: el crecimiento de biomasa, consumo de glucosa y la producción de etanol. El modelo propuesto consta de 3 ecuaciones diferenciales no lineales de primer orden, 10 parámetros que se ajustaron a los datos experimentales de 17 cepas de la levadura por medio de un algoritmo de Matlab obteniendo un intervalo de confianza superior al 95%.</p> <p>Los resultados de este modelo matemático fueron comparados con los ya existentes en la literatura: el modelo logístico y el modelo de Pirt y de Luedeking-Piret obteniendo mejores resultados apegados a la dinámica del proceso de acuerdo con los datos experimentales y por el coeficiente de determinación calculado para cada una de las cepas.</p>

1.2 Definición del Problema

En la actualidad existen funciones matemáticas temporales que ayudan a predecir el comportamiento del crecimiento de las levaduras o la generación del producto, pero éstos se enfocan específicamente en la concentración de la biomasa, dejando fuera del modelado otros factores que influyen directamente en el producto final en los procesos de fermentaciones alcohólicas. Por lo que es necesario un modelo matemático que describa la dinámica interactiva entre las principales variables del proceso sustrato, biomasa y producto.

1.3 Objetivos

General:

Determinar la relación entre sustrato, biomasa, y producto en la dinámica de crecimiento de microorganismos en términos de Ecuación Diferenciales Ordinarias de primer orden.

Específicos:

1. Analizar la cinética de crecimiento de microorganismos respecto al efecto causado por la velocidad de agitación sobre la relación sustrato, biomasa y producto.
2. Determinar un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias de primer orden que muestren la relación entre las variables sustrato-biomasa-producto y la velocidad de agitación empleado en el proceso de fermentación alcohólica.
3. Analizar la estabilidad local de los puntos de equilibrio, así como los límites del dominio de localización.
4. Establecer las condiciones de los parámetros que permitan optimizar la generación del producto.

1.4 Hipótesis

H.O. El modelo matemático propuesto no podrá determinar la relación de la velocidad de agitación y la concentración de sustrato para optimizar la generación del producto generado en el proceso de fermentación alcohólica.

H.A. El modelo matemático propuesto podrá determinar la relación de la velocidad de agitación y la concentración de sustrato para optimizar la generación del producto generado en el proceso de fermentación alcohólica.

1.5 Justificación

Durango ha tenido un crecimiento exponencial, principalmente en los municipios: Nombre de Dios, Tamazula, Tepehuanes y Topia, hasta el 2021 se cuenta con 73 empresas con marca registrada ante el IMPI, gracias al apoyo para los productores dedicados a la elaboración de bebidas alcohólicas, solo en el 2021 se entregaron 200 *mil* plantas de agave para su siembra, y en este 2022 se incrementó a 800 *mil*, generando cerca de 1000 empleos directos y 2000 indirectos [23], a nivel nacional el tema del mezcal también está llevando su avanzarse significativamente, ya que en el año 2010 se envasaron para el mercado nacional tan solo 270,426 *litros* y en el 2021 se llegó a 3,684,458 *litros* en el que Durango de manera porcentual subió del 2.30% al 2.58%, y en cuanto a la producción para exportación en el mismo intervalo, de envasar 647,989 subió a 5,102,520 *litros*, de los cuales, Durango ha ido cubriendo más terreno año con año cerrando el 2021 con un porcentaje del 2.55%, resaltando que fue hasta el 2016 en que comenzó tener participación en este rubro [24].

Por lo anterior, se genera la utilidad y viabilidad de esta investigación sobre la determinación de un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias (*EDO's*) que muestren la relación entre las variables sustrato-biomasas-producto estableciendo las condiciones de los parámetros que permitan optimizar la generación del producto, beneficiando principalmente al productor: al mejorar el uso de los insumos para la elaboración de mezcal y estandarizar el proceso dependiendo de las características que el productor requiera como lo son; aroma, sabor, textura, color, etc., y por ende al Estado ya que el pasado 2021 dejó una derrama económica de \$24,318.59 millones de pesos, también tendrá un gran impacto en el medio ambiente por la reducción de tiempos y materias primas utilizadas, ya que en la

elaboración del mezcal de manera artesanal se llegan a utilizar de 15 a 20 *kg* de agave por litro producido, y en la destilación al estar empleando sistemas poco convencionales se llega a consumir hasta 20 *L* de agua [25].

Capítulo 2

2 Marco Teórico

2.1 Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica es un proceso biológico anaeróbico, en que el intervienen microorganismos comúnmente conocidos como levaduras, los cuales descomponen los carbohidratos, produciendo a su vez, metabolitos primarios como enzimas, etanol, butanol, acetona, ácidos orgánicos, entre otros. Este proceso de fermentación ha sido utilizado por la humanidad desde hace mucho tiempo para la producción de bebidas alcohólicas como el vino, cerveza y otros licores.

En cuanto a la fermentación alcohólica, principalmente se emplea la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, estos microorganismos unicelulares (eucariotas) determinan el grado de alcohol que se produce en los vinos, así como el pH, aroma, sabor, cuerpo de la bebida, burbujeo característico en los vinos espumosos como el champagne, por ende, contribuye en la calidad del producto final. Es importante tener en cuenta que, para la producción de etanol, se emplean otros ingredientes y variables que al aumentar o disminuir sus unidades métricas, cambian el porcentaje de alcohol generado, o bien, simplemente no se obtiene el producto deseado, algunos de estos insumos son: glucosa, ácidos, base, temperatura, velocidad de agitación, etc., [26] [27].

Las levaduras consiguen su energía para sobrevivir, rompiendo las moléculas de fructosa hasta en un 90 % en cantidades equimoleculares de alcohol y dióxido de carbono de su totalidad, pero para que esto se genere, además de la implementación de la levadura, debemos considerar algunas condiciones para la producción, como lo son: concentración de azúcares, ausencia de oxígeno (O_2) ya que es un proceso anaeróbico, presencia de fosfatos, control de temperatura entre 15 y 25 °C, ya que al ser un proceso exotérmico, emite energía en forma de calor y si se llegara a pasar de este nivel de temperatura, las levaduras comienzan a morir y por ende, inicia la conclusión del proceso fermentativo [28]. Todo este proceso, se puede englobar en 4 fases principales (Figura 1):

Fase de Latencia, donde los microorganismos se adaptan al entorno, no hay un aumento significativo en el número de células, ya que las células están sintetizando enzimas y metabolitos necesarios para su reproducción.

Fase Logarítmica: También conocida como la fase de crecimiento exponencial, es el período en el que los microorganismos se reproducen a una tasa constante y máxima. Durante esta fase, la población celular experimenta un crecimiento exponencial, ya que cada célula madre se divide para dar lugar a dos células hijas idénticas. La tasa de reproducción es máxima en este punto y las condiciones ambientales son óptimas para el crecimiento celular.

Fase Estacionaria: En esta fase, el crecimiento de la población microbiana se estabiliza y se equilibra con la tasa de muerte celular. Las condiciones del entorno, como la limitación de nutrientes o la acumulación de productos de desecho, pueden contribuir a la desaceleración del crecimiento. La población se mantiene constante, ya que el número de nuevas células que se dividen es igual al número de células que mueren.

Fase de Muerte: En esta última fase, las condiciones del entorno se vuelven cada vez más desfavorables para el crecimiento celular. La tasa de muerte celular supera la tasa de reproducción, lo que resulta en una disminución neta de la población microbiana. Factores como el agotamiento de nutrientes, acumulación de productos tóxicos o cambios drásticos en las condiciones ambientales contribuyen a la disminución de la población microbiana hasta alcanzar niveles mínimos [29] [30].

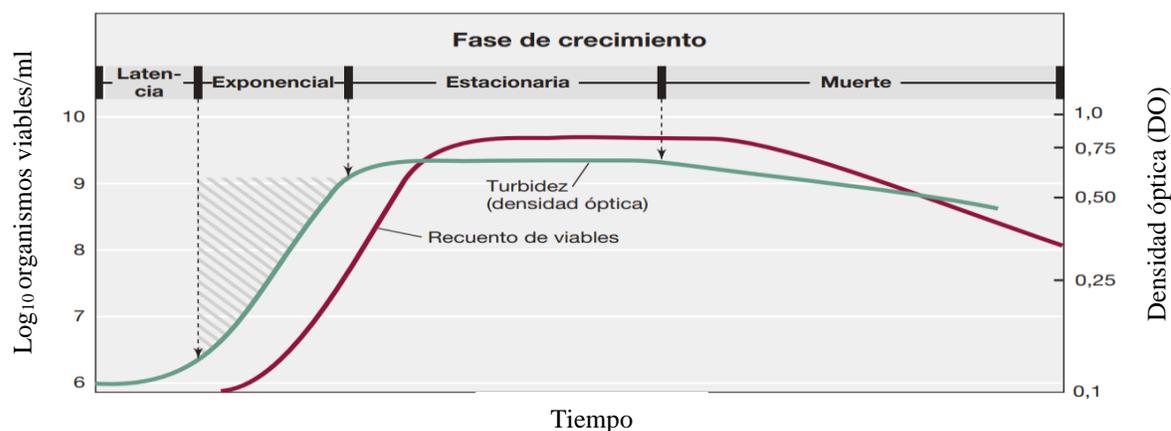


Figura 1 Curva de crecimiento microbiano

2.1.1 Fermentación por lotes

Este proceso se caracteriza por llevarse a cabo en un sistema cerrado y controlado, donde se añaden los nutrientes y microorganismos al inicio del proceso, permitiendo que la fermentación se desarrolle hasta que se alcanza un estado deseado o una producción específica de metabolitos, extrayendo el producto final dando por terminado el proceso de fermentación [28] [31].

En este tipo de fermentación por lotes, se utiliza un tanque o recipiente de fermentación que puede variar en tamaño desde pequeños fermentadores hasta grandes instalaciones industriales. Este recipiente es preparado con un medio de fermentación específico que contenga los nutrientes esenciales para el crecimiento de los microorganismos y la producción del producto deseado. Los microorganismos adecuados para el proceso de fermentación se introducen en el medio, y la fermentación se inicia bajo condiciones controladas de temperatura, pH, oxígeno y agitación. El proceso de fermentación por lotes generalmente consta de las siguientes etapas:

Preparación del medio de fermentación: Se prepara una solución o mezcla apropiada de nutrientes que proporcionen las condiciones óptimas para el crecimiento y la actividad de los microorganismos seleccionados.

Inoculación: Se añaden los microorganismos seleccionados al medio de fermentación. Estos microorganismos principalmente son las levaduras, bacterias u otros organismos especializados en la producción del producto deseado, como alcohol, ácidos orgánicos, enzimas u otros compuestos.

Fermentación: Se inicia la fermentación y se permiten que los microorganismos crezcan y se multipliquen, metabolizando los sustratos presentes en el medio y produciendo el producto deseado. Durante esta etapa, se controlan cuidadosamente parámetros como la temperatura, el pH y la disponibilidad de oxígeno para optimizar las condiciones de crecimiento y producción.

Monitoreo del proceso: Durante la fermentación, se monitorean regularmente diversos parámetros, como la concentración de nutrientes, la concentración de biomasa

(crecimiento microbiano) y la concentración del producto deseado. Estos controles permiten ajustar las condiciones de fermentación según sea necesario para maximizar el rendimiento y la calidad del producto final.

Detención y extracción del producto: Una vez que se alcanza el estado deseado de fermentación, se detiene la fermentación. El producto final se extrae del tanque de fermentación mediante filtración, centrifugación u otros métodos de separación.

La fermentación por lotes ofrece varias ventajas y desventajas en comparación con otros métodos de fermentación, como la fermentación continua. Algunas ventajas incluyen la flexibilidad para producir una variedad de productos con diferentes composiciones y la capacidad de controlar y optimizar las condiciones de fermentación para cada lote individual.

2.1.2 Aplicación de la fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica es un proceso bioquímico, donde las levaduras utilizan enzimas para descomponer los azúcares en etanol y dióxido de carbono. El etanol es el principal producto de interés en la industria alimentaria, específicamente para las productoras de bebidas alcohólicas, ya que es el compuesto responsable de las propiedades de estos productos como lo son: cerveza, vinos, mezcales y destilados.

2.1.2.1 El mezcal

El mezcal es una bebida alcohólica obtenida del maguey (*agave*), el cual es una planta característica de México, ya que se cuenta con aproximadamente 150 especies de las 200 que hay en el mundo, particularmente de regiones semiáridas de país. Esta bebida tuvo sus orígenes a partir de la unión de la tradición prehispánica en cuanto al consumo de los productos del maguey y la técnica de destilación traída por los españoles [32].

A lo largo de la historia se tiene muy claro que las bebidas alcohólicas han estado presentes en hechos relevantes para el hombre, desde una simple manera de relajación hasta la de celebrar alguna conquista o descubrimiento, cada civilización tenía sus técnicas de fermentación para la conservación de alimentos y para la elaboración de bebidas alcohólicas.

En México, le dieron diferentes usos a la planta del maguey tales como: agujas para cocer, tejados, alimento, hilos, prendas de vestir y calzar, clavos, armas de guerra y papel.

Sin dejar a un lado la elaboración de aguardientes empleando los tipos de agave que contaban en su entorno por lo que reciben el nombre genérico de “mezcal” acompañado por el nombre de la población donde se producen, por ejemplo: Mezcal de Durango, Mezcal de Guerrero, Mezcal de Michoacán, Mezcal de Oaxaca o bien la bebida más emblemática de México, el Tequila de Jalisco. Es importante señalar que existe un sinnúmero de variedades de bebidas alcohólicas derivadas del maguey que se pueden degustar en diversos estados de la República, tales como: el Sotol de Chihuahua y Bacanora en Sonora.

El hablar sobre la elaboración del mezcal, conlleva hablar de productos artesanales, elaborados con métodos y técnicas que se han transmitido de generación en generación de forma práctica u oral, dejando con esto un gran sesgo entre la similitud y calidad de cada lote de producción. Lamentablemente la mayoría de los productores no han implementado nuevas tecnologías que le permitan mejorar su eficiencia de producción pero que se conserven sus características tradicionales [33].

Los agaves (del griego *αγαπή*, 'noble' o 'admirable') o también llamados magueyes, son plantas perennes, de formas variadas: lineal (larga y angosta) a lanceolada (larga, más ancha en la mitad) u ovalada (en forma de huevo, con la extremidad afilada), mismas que en las especies pequeñas no sobrepasan los veinte gramos de peso, con hojas comúnmente suculentas, fibrosas, con base pulposa y extendida. Los magueyes pulqueros son las plantas más grandes de la especie, con un peso de poco más de treinta kilos cada hoja, éstas crecen de manera ordenada, una tras de la otra, desde el centro del tallo hacia el exterior, el cual puede ser corto en cuanto a su altura, elevándose del suelo tan solo unos centímetros, o bien, ser largo y erecto, alcanzando a llegar hasta los 3 metros de altura. La longevidad de estas plantas es legendaria, las grandes especies de estas plantas alcanzan su madurez entre los 10 y 25 años, mientras que las especies pequeñas oscila entre los 4 y 5 años [25].

Desde el año 1994, esta representativa bebida logró la obtención de “denominación de origen” por lo que debe acatar lo señalado en la *Norma Oficial Mexicana NOM – 070 – SCFI – 2016 Bebidas alcohólicas, Mezcal, Especificaciones*. Esto reside en que un producto está vinculado con la zona geográfica de la que es originario, garantizando que

sus características, calidad y reputación sean exclusivamente debido al origen geográfico de sus materias primas, sus procesos de elaboración y a los factores naturales o culturales [2] .

2.1.2.1.1 Proceso de elaboración

Con el objetivo de mejorar la eficiencia en la utilización de las plantas de maguey en la elaboración del mezcal, se opta por emplearlas una vez que han alcanzado su madurez. La consecución de este estado maduro está influenciada por diversos factores, tales como la humedad y el tipo de suelo en el que se desarrolla la planta, el tiempo de exposición al sol, la vegetación presente en la zona, entre otros. Este proceso de maduración exhibe variaciones, abarcando un lapso que va desde los 7 hasta los 10 años, y dicha duración depende tanto de la región específica del país como del ciclo de vida característico de la planta en cuestión. En esta fase de madurez, se logra un contenido elevado de glucosa en las piñas, el cual desempeña un papel crucial en el proceso de fermentación [33].

De acuerdo con lo establecido en la Norma Oficial Mexicana *NOM – 070 – SCFI – 2016*, se reconocen dos categorías de mezcal, las cuales se definen en función del porcentaje de glucosa proveniente del agave utilizado en su producción. Dichas categorías son las siguientes:

Clase 1 - Mezcal 100% *agave*: Este tipo de mezcal se obtiene a partir de la destilación y rectificación de los mostos preparados con los azúcares propios de las piñas maduras de los magueyes. Estas piñas son sometidas previamente al proceso de fermentación alcohólica, utilizando diversas levaduras según el resultado deseado, ya sea un mezcal joven, reposado o añejo.

Clase 2 - Mezcal: Como su nombre indica, este mezcal, además de emplear la glucosa natural presente en sus propias piñas, permite la adición de hasta un 20% de carbohidratos, según lo permitido por la legislación vigente.

La clasificación e identificación del producto final se establecen según el manejo posterior a la destilación y rectificación [34]:

Añejo: Se deja madurar durante al menos un año, generalmente en barricas de roble blanco o encino, adquiriendo características particulares.

Joven: Este mezcal se obtiene directamente al concluir el proceso de fermentación, destilación y rectificación. Se embotella a la brevedad para su venta y consumo inmediato, destacando por su color cristalino y total transparencia.

Reposado: Almacenado por un mínimo de 2 meses en barricas de roble blanco o encino, adquiere un ligero tono amarillento durante este periodo de estabilización.

En términos generales, el procedimiento para la producción de mezcal puede ser dividido en cinco fases:

Selección y Corte de la Planta de Maguey: Se realiza la elección de plantas de acuerdo con su punto óptimo de madurez. Se procede a cortar todas sus hojas para facilitar el transporte de la piña, la cual es dividida en secciones para maximizar la capacidad del horno evitando dejar huecos entre cada sección.

Cocción: Este proceso posibilita la generación de azúcares mediante la hidrólisis de los almidones presentes en las plantas.

Molienda: En esta fase se extraer el jugo, denominado "mosto", y el bagazo, necesarios para el proceso de fermentación. En este paso, se utilizan comúnmente piedras o rodillos para triturar las piñas.

Fermentación: El mosto recopilado se concentra en tinajas, comúnmente hechas de madera o acero inoxidable, donde se dejará reposar un mínimo de 6 días pudiéndose extender hasta 20 días, según las condiciones ambientales y la cantidad de glucosa presente en los trozos de piña triturada. Este paso es el foco principal de nuestra investigación, ya que se busca desarrollar un modelo matemático que permita prever el comportamiento que existe en esta fase de producción de acuerdo con la interacción de la biomasa (levadura), sustrato (glucosa) y su producto final (etanol).

Destilación: Es aquí donde se condensa el vapor producido por la evaporación del alcohol generado durante la fermentación, logrando con ello la separación de los materiales sólidos y el alcohol. Algunos productores llevan a cabo esta fase por segunda ocasión mejor conocida como rectificación, con el objetivo de aumentar el contenido alcohólico de la bebida a un valor superior al 40% en volumen [1].

2.2 Sistemas dinámicos

Podemos definir a los sistemas dinámicos como representaciones matemáticas que modelan/simulan el comportamiento de múltiples variables respecto al tiempo, clasificándose en lineales o no lineales, y continuos o discretos. Estos modelos se establecen a partir de un conjunto de variables interdependientes que evolucionan conforme a leyes definidas y parámetros específicos del sistema que se pretende aproximar. La comprensión del estado actual de estas variables es fundamental para prever su estado futuro conforme aparezca o no alguna perturbación durante el proceso.

Las ecuaciones y variables empleadas para este tipo de modelización pueden expresarse como: ecuaciones algebraicas, ecuaciones de diferencias, ecuaciones diferenciales ordinarias o ecuaciones diferenciales parciales. Para analizar y experimentar su evolución temporal desde un estado inicial propuesto, se requiere la integración del sistema a través de iteraciones en intervalos de tiempo pequeños, generando así una serie de puntos de aproximación denominados solución. En general, para el análisis de estos sistemas, al ser muy complejo su desarrollo de manera manual, se opta por la implementación de softwares especializados para este tipo de procedimientos, mediante el uso de métodos numéricos, lo que permite, facilitando la visualización de la dinámica y evolución temporal de los modelos matemáticos [35] [36].

2.2.1 Clasificación de sistemas

Sistema Lineal: sistema en el que su comportamiento se puede describir empleando ecuaciones lineales (*ec. (2.1)*), de modo que $x(t)$ y $y(t)$ son soluciones del sistema, por lo que cualquier combinación lineal de la forma $ax(t) + by(t)$, donde a y b son términos constantes, también será una solución para el sistema, ya que cumple con el principio de superposición y homogeneidad, esto lo podemos expresar matemáticamente como:

$$\frac{dx}{dt} = Ax(t) + By(t) \quad (2.1)$$

donde $x(t)$ es el vector de estado, $y(t)$ es la entrada al sistema, A y B son matrices constantes, y $\frac{dx}{dt}$ representan la tasa de cambio del vector de estado $x(t)$.

Sistema No Lineal: Por otro lado, este tipo de sistema no lineal tiene un comportamiento que no se puede describir al emplear ecuaciones lineales, ya que su solución no cumple con la propiedad de superposición y puede arrojar comportamientos inválidos y complejos del sistema. Matemáticamente un sistema no lineal se expresa de la siguiente manera (*ec. (2.2)*):

$$\frac{dx}{dt} = f(x(t), y(t)) \quad (2.2)$$

donde f es una función no lineal de las variables $x(t)$ y $y(t)$.

2.2.2 Ecuaciones de estado para sistemas dinámicos

Una ecuación de estado para los sistemas dinámicos es aquella que describe la evolución del sistema con respecto al tiempo en función de sus variables de estado y las relaciones que existen entre ellas, una ecuación de estado típica en sistemas dinámicos puede tomar la forma de ecuaciones diferenciales, dependiendo de si el sistema es continuo o discreto en el tiempo, por lo que estas ecuaciones ofrecen un análisis matemático que propicia una mejor comprensión sobre como las condiciones iniciales y las interacciones de sus variables influyen en el comportamiento del sistema temporalmente [35] [36] [37].

A continuación, se muestra de manera general como está compuesta la estructura de un sistema dinámico no lineal y continuo, apoyándonos de ecuaciones diferenciales ordinarias de primer orden:

$$\dot{x}_1 = f_1(t, x_1, x_2, \dots, x_i) \quad (2.3)$$

$$\dot{x}_2 = f_2(t, x_1, x_2, \dots, x_i) \quad (2.4)$$

$$\dot{x}_i = f_i(t, x_1, x_2, \dots, x_i), \quad (2.5)$$

donde $\dot{x}_i; i = 1, \dots, n$ es la derivada de x_i con respecto al tiempo t , es decir $\dot{x}_i = \frac{dx_i}{dt}$, las variables x_1, \dots, x_n se denominan variables de estado, las cuales tienen la función de almacenar el estado anterior del sistema y las funciones f_1, \dots, f_n determinan la relación de las variables de estado con el sistema que se está analizando.

En los sistemas dinámicos continuos de n-dimensiones, estas ecuaciones desempeñan un rol fundamental para predecir la dinámica temporal del sistema, y son representadas matemáticamente por la función $\dot{x} = f(t, x)$, donde la variable x representa el vector en \mathbb{R}^n que contiene todas las variables de estado del sistema y $f(t, x)$ es un vector de funciones que especifica las tasas de cambio del sistema respecto al tiempo, y se escriben como se muestra a continuación:

$$x = \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ \vdots \\ x_n \end{bmatrix} \text{ y } f(t, x) = \begin{bmatrix} f_1(t, x) \\ f_2(t, x) \\ \vdots \\ f_n(t, x) \end{bmatrix}$$

La ecuación diferencial ordinaria $\dot{x} = f(t, x)$ representa un sistema no autónomo que describe el sistema (2.3)-(2.5), debido a depender en todo momento del tiempo, comúnmente conocido como “variante en el tiempo”, en cambio, si el término que se encuentra al lado derecho del signo igual depende únicamente de la variable x excluyendo la variable del tiempo t , se llama autónomo o invariante en el tiempo, expresado matemáticamente como $\dot{x} = f(x)$.

2.2.3 Ecuaciones diferenciales ordinarias de primer orden

Las ecuaciones diferenciales ordinarias (EDO) de primer orden [38] son una clase fundamental de ecuaciones diferenciales que involucran una función desconocida y su derivada con respecto a una sola variable independiente. Su forma general se describe en la ecuación (2.6):

$$\frac{dy}{dt} = f(x, y), \tag{2.6}$$

donde y es una función desconocida, x es la variable independiente y $f(x, y)$ es una función que describe cómo la tasa de cambio y con respecto de x está relacionada con las variables x e y mismas.

Las EDO de primer orden son herramientas fundamentales en diversas disciplinas científicas y de ingeniería. Su capacidad para modelar y prever el cambio en una amplia variedad de fenómenos hace que estas ecuaciones sean esenciales para comprender y analizar sistemas dinámicos en la naturaleza y la tecnología, algunas de estas aplicaciones son:

- Crecimiento y Decaimiento Exponencial: Las EDO de primer orden son esenciales para describir fenómenos de crecimiento o decaimiento exponencial. Por ejemplo, la ley de enfriamiento de Newton (*ec. (2.7)*) describe cómo un objeto caliente se enfría en un entorno más frío:

$$\frac{dT}{dt} = -k(T - T_e), \quad (2.7)$$

donde $\frac{dT}{dt}$ indica la tasa de cambio de la temperatura del objeto respecto al tiempo t , T es la temperatura del objeto en un tiempo determinado t , T_e corresponde a la temperatura del entorno en el que se encuentra el objeto y k es la constante de proporcionalidad positiva.

- Circuitos Eléctricos: En ingeniería eléctrica, una aplicación de las EDO de primer orden es para modelar la carga (*ec. (2.8)*) y descarga (*ec. (2.9)*) de capacitores y la corriente en circuitos RC como lo describe las ecuaciones:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{V(t)}{RC} \text{ carga del capacitor}, \quad (2.8)$$

$$\frac{dV}{dt} = -\frac{V(t)}{RC} \text{ descarga del capacitor}, \quad (2.9)$$

donde $V(t)$ es el voltaje que tiene el capacitor en el tiempo t , R es la resistencia eléctrica en ohms (Ω) y C es la capacitancia en faradios (F).

- **Biología:** En biología, las EDO se utilizan para describir el crecimiento de poblaciones, la cinética de reacciones químicas en sistemas biológicos y la dinámica de la propagación de enfermedades, un ejemplo de este tipo de modelado muy conocido es el del sistema presa-depredador de *Lotka – Volterra*:

$$\dot{x} = \alpha x - \beta xy \quad (2.10)$$

$$\dot{y} = \delta xy + \Upsilon y \quad (2.11)$$

donde x es el número de presas y y el número de depredadores en un instante de tiempo t , por lo que las variables quedan como $x(t)$ y $y(t)$. La ecuación (2.10) describe la evolución de la población presa y la ecuación (2.11) modeliza la población de los depredadores.

2.2.4 Análisis de Positividad del sistema

La positividad en los sistemas dinámicos se refiere a la propiedad que implica que las variables de estado del sistema, que pueden representar cantidades físicas como la temperatura, la presión, la concentración, entre otras, permanecen no negativas o positivas durante todo el tiempo de operación del sistema, es decir, la positividad en este tipo de sistemas establece que las variables físicas o abstractas asociadas con el sistema nunca toman valores negativos. Por ejemplo, en un sistema que modela el comportamiento de la biomasa en un proceso fermentativo, la positividad garantiza que el crecimiento microbiano nunca sea negativo, lo que tiene sentido físico ya que no puede haber valores negativos de microorganismos.

La positividad en los sistemas dinámicos puede ser una propiedad inherente del sistema o puede ser una propiedad que se impone a través de la formulación de las ecuaciones que describen el comportamiento del sistema. En muchos casos, se requieren condiciones específicas sobre los parámetros y las funciones que definen el sistema para garantizar la positividad.

Matemáticamente se identifica la positividad de un sistema dinámico, cuando sus condiciones iniciales son iguales o mayores a cero, es decir, pertenecen al primer ortante $R_{+,0}^n$

y las soluciones de esté permanecen en todo momento futuro en el ortante no negativo $R_{+,0}^n: \{x \in \mathbb{R}^n: x_i \geq 0 \text{ para todo } i\}$ [39] [40].

2.2.5 Método de Localización de Conjuntos Compactos Invariantes (LCCI)

Este método fue propuesto por el científico ucraniano Alexander Petrovich Krishchenko [41] [42] y aplicado para el estudio sistemas dinámicos no lineales descritos por ecuaciones diferenciales ordinarias de primer orden analizados a corto y largo plazo. Este enfoque analítico se centra en identificar el dominio de localización, que representa una región delimitada en el espacio de fase donde se encuentran todos los conjuntos compactos invariantes que pueden surgir en el sistema dinámico en cuestión.

Los conjuntos compactos invariantes considerados abarcan una amplia gama de estructuras, incluyendo puntos de equilibrio, órbitas periódicas, órbitas homoclícas y heteroclícas, ciclos límite y atractores caóticos. Además de su aplicación fundamental en el estudio del comportamiento dinámico, el método de LCCI ha demostrado ser útil para analizar la estabilidad asintótica y para construir funciones candidatas de Lyapunov. Una característica destacada de este enfoque es su naturaleza analítica, lo que significa que no es necesario resolver numéricamente las *EDO's* para determinar el dominio de localización y explorar la dinámica del sistema con detalle y precisión.

2.2.5.1 Función localizadora

Para delimitar con exactitud los límites del dominio de localización, es imprescindible proponer y examinar la función localizadora específica, identificada por la siguiente ecuación (2.12):

$$h(x): R^n \rightarrow R, \tag{2.12}$$

en la que $h(x)$ es una función vectorial diferenciable y $x \in R^n$ es el vector de estados del sistema de estudio. Para el caso de que el sistema dinámico modelado sea de la forma $\dot{x} = f(x)$, su análisis de la función localizadora $h(x)$ se realiza implementando la derivada de Lie de dicha función, la cual esta matemáticamente representada por $L_f h(x)$ estando expresada de la siguiente manera:

$$L_f h(x) = \sum_{i=0}^n \frac{\partial h}{\partial x} \dot{x}_i = \sum_{i=0}^n \frac{\partial h}{\partial x} f_i(x) = \left[\frac{\partial h}{\partial x_1}, \frac{\partial h}{\partial x_2}, \dots, \frac{\partial h}{\partial x_n} \right] \begin{bmatrix} f_1(x) \\ \vdots \\ f_n(x) \end{bmatrix} = \frac{\partial h}{\partial x} f(x).$$

Por otra parte, en caso de que el sistema sea variante en el tiempo, de la forma $\dot{x} = f(x, t)$ la función $h(x)$ estará descrita en el espacio $\mathbb{R}^n \times \mathbb{R} = \{(x, t)\}$, la derivada de Lie por la función $f(x, t)$ se describe como $L_f h(x, t)$ está expresada como:

$$L_f h(x, t) = \sum_{i=0}^n \frac{\partial h}{\partial x} \dot{x}_i = \sum_{i=0}^n \frac{\partial h}{\partial x} f_i(x, t) = \left[\frac{\partial h}{\partial x_1}, \frac{\partial h}{\partial x_2}, \dots, \frac{\partial h}{\partial x_n} \right] \begin{bmatrix} f_1(x, t) \\ \vdots \\ f_n(x, t) \end{bmatrix} = \frac{\partial h}{\partial x} f(x, t).$$

Estas funciones localizadoras se eligen empleando un método heurístico, donde se analizan diferentes funciones para encontrar una solución que defina los límites del dominio de localización [36].

2.2.5.2 Dominio de localización

Se refiere al conjunto de puntos o elementos del espacio inicial sobre los cuales la función localizadora está definida y tiene sentido [41], por lo que una vez propuesta la función localizadora $h(x)$ y obtener su derivada de Lie $L_f h(x)$ se determina el conjunto $S(h)$ matemáticamente expresado como en la ecuación (2.13) :

$$S(h) = \{x \in \mathbb{R}^n | L_f h(x) = 0\} \quad (2.13)$$

De lo anterior, al realizar el estudio algebraico de la función $S(h)$ se puede calcular los valores ínfimo y supremo de la función localizadora $h(x)$ quedando como :

$$h_{inf} = \inf\{h(x) | x \in S(h)\} \text{ y } h_{sup} = \sup\{h(x) | x \in S(h)\}.$$

Asimismo, cuando aplicamos $h(x)|_U$ se impone la restricción de la función localizadora $h(x)$ al subconjunto U del dominio \mathbb{R}^n , de acuerdo con este contexto, el Teorema General que se refiere a la identificación y localización de todos los conjuntos compactos invariantes en un sistema dinámico que permanece invariante en el tiempo, afirma

que cada conjunto compacto invariante ψ de $\dot{x} = f(x)$ está contenido en el dominio de localización $K(h) = \{h_{inf} \leq h(x) \leq h_{sup}\}$.

2.3 Métodos de análisis matemáticos

Los métodos de análisis matemáticos en sistemas biológicos son enfoques que utilizan herramientas y técnicas matemáticas para comprender y modelar procesos biológicos. Estos métodos permiten a los científicos estudiar y analizar fenómenos biológicos desde una perspectiva cuantitativa, lo que puede proporcionar una comprensión más profunda de la dinámica y la complejidad de los sistemas biológicos. Aquí hay algunos métodos comunes de análisis matemáticos aplicados a sistemas biológicos:

Modelado matemático:

- Ecuaciones Diferenciales: Se utilizan para describir cómo cambian las variables biológicas a lo largo del tiempo. Pueden representar procesos como el crecimiento poblacional, la cinética de reacciones químicas en una célula, etc.
- Modelos Estocásticos: Consideran la aleatoriedad en los procesos biológicos, lo que es especialmente útil cuando se trabaja con sistemas donde la variabilidad es significativa.

Análisis de datos:

- Estadística: La estadística es fundamental para analizar datos experimentales y extraer conclusiones significativas. Métodos como la regresión, el análisis de varianza (ANOVA) y las pruebas de hipótesis se utilizan comúnmente.
- Análisis de series temporales: Se emplean para estudiar patrones temporales en datos biológicos, como la expresión génica a lo largo del tiempo.

Análisis de Redes:

- Redes Biológicas: Se utilizan para representar las interacciones entre componentes biológicos, como genes, proteínas y metabolitos. El análisis de

redes puede revelar patrones, hubs y propiedades emergentes en sistemas biológicos complejos.

Optimización:

- Optimización matemática: Puede utilizarse para encontrar las condiciones óptimas para ciertos procesos biológicos, como la maximización de la producción de biomasa en un cultivo celular.

Teoría de Control:

- Control de sistemas biológicos: La teoría de control se utiliza para entender y manipular sistemas biológicos, como el control de la concentración de una sustancia química en una célula.

Simulación Computacional:

- Simulación de sistemas biológicos: Se emplea para modelar el comportamiento de sistemas biológicos complejos y simular su evolución en el tiempo. Esto permite probar hipótesis y predecir el comportamiento del sistema bajo diferentes condiciones.

Biología de Sistemas:

- Enfoque integrado: La biología de sistemas utiliza métodos matemáticos para integrar datos experimentales y modelado teórico en un enfoque holístico para comprender la regulación y la dinámica de sistemas biológicos completos.

Estos métodos matemáticos se aplican de manera interdisciplinaria en la investigación biológica y ayudan a los científicos a obtener una comprensión más profunda y cuantitativa de los procesos biológicos.

2.3.1 Método de Euler

El Método de Euler es un enfoque numérico para aproximar soluciones de ecuaciones diferenciales ordinarias (EDO). Desarrollado por Leonhard Euler en el siglo XVIII, este

método proporciona una manera práctica de abordar ecuaciones diferenciales que no tienen soluciones analíticas directas o cuyas soluciones son difíciles de obtener. La esencia del método de Euler radica en la discretización del dominio de la variable independiente y la aproximación de la derivada mediante diferencias finitas [38][43].

Una ecuación diferencial ordinaria de primer orden en la forma general $\dot{x} = f(x, y)$ donde y es la función desconocida y $f(x, y)$ es una función dada. El método de Euler aproxima la solución $y(x)$ en puntos discretos $x_0, x_1, x_2, \dots, x_n$ mediante la siguiente iteración:

$$y_{n+1} = y_n + h * f(x_n, y_n),$$

donde h es el tamaño del paso, x_n es el valor actual de la variable independiente, y y_n es la aproximación de la solución en ese punto.

2.3.2 Puntos de equilibrio

También conocido como estado estacionario del sistema, ya que la solución de este sistema $\dot{x} = f(x)$ no cambian con respecto al tiempo, matemáticamente hablar de un punto de equilibrio de un sistema dinámico: $x = x^* \in \mathbb{R}^n$, tendrá la característica de acuerdo con sus condiciones iniciales ($x(0) = x^*$) de permanecer invariable ($\phi(t, x) = x^*$) para todo $t \rightarrow \infty$, en un sistema tridimensional un punto de equilibrio es una coordenada (x, y, z) tal que las derivadas de las variables x, y y z con respecto al tiempo son iguales a cero [36] [40] [43] [44].

2.3.3 Estabilidad asintótica

La estabilidad asintótica de un sistema dinámico puede expresarse al utilizar la ecuación candidata de *Lyapunov*, la cual es una herramienta matemática utilizada para analizar qué tan estable es un sistema y cuya definición es:

Si un sistema dinámico está descrito por la ecuación diferencial $\dot{x} = f(x)$, donde x es el vector de estado del sistema y $f(x)$ es una función que describe su evolución respecto al tiempo, se dice que es asintóticamente estable si existe una función continua $V(x)$ llamada función candidata de *Lyapunov*, cumpliendo las siguientes condiciones:

1. $V(x)$ es definida positiva para todos los valores de x , excepto en el punto de equilibrio.
2. $V(x)$ es definida decreciente a lo largo de las trayectorias del sistema, es decir:

$$\dot{V}(x) = \frac{dV(x)}{dt} \text{ es negativa o cero para todo } x \text{ excepto en el punto de equilibrio.}$$

3. Es necesario que $V(x)$ sea definida positiva, $V(x) > 0$ para todo x que sea diferente al punto de equilibrio, y $V(x) = 0$ específicamente para el punto de equilibrio del sistema.

Al cumplirse las condiciones anteriores, el sistema se considera asintóticamente estable, es decir que a medida que tiende el tiempo al infinito, la respuesta del sistema converge hacia un estado de equilibrio estable, independientemente de las condiciones iniciales [36] [45] [46].

2.4 Modelos matemáticos de sistemas biológicos

Hablar acerca de los sistemas biológicos implica adentrarnos en modelos complejos donde interactúan seres vivos. En el contexto de nuestra investigación, nos centramos específicamente en microorganismos, organismos diminutos cuyo ciclo de vida es similar al de cualquier otro ser vivo. Este ciclo puede ser meticulosamente registrado, ya sea desde su inicio hasta su fin, mediante datos experimentales o incluso predicciones, gracias al extenso conocimiento registrado en diversos modelos de la literatura hasta la fecha actual. Estos mecanismos eran totalmente desconocidos por el hombre hasta la década de los 50, fecha en que la biología molecular fue descubierta. Sin embargo, el parteaguas para el estudio de estos sistemas fue la decodificación del genoma humano, aproximadamente en el año 2000. Fue en ese momento cuando empezó a reconocerse este análisis de modelos como sistemas biológicos, marcando un hito significativo en nuestra comprensión de la vida a nivel microscópico [47] [48] [49].

En estos modelos matemáticos, se adopta la lógica de considerar al tiempo como una variable independiente. Esta variable, a su vez, nos proporciona una descripción detallada de la forma en que nuestro sistema evoluciona con los cambios que experimenta.

En relación con los sistemas biológicos, se suelen tener en cuenta cuatro fases principales para analizar el crecimiento microbiano:

- Fase de latencia o lag.
- Fase exponencial
- Fase estacionaria
- Fase de muerte

Para lograr una comprensión más profunda de estas fases, es esencial familiarizarse con el concepto de "crecimiento microbiano". Según la microbiología, este proceso se refiere al aumento en el número de células y generalmente se caracteriza por el tiempo necesario para duplicar la masa celular. Es relevante señalar que el tiempo requerido para duplicar la masa celular puede variar del tiempo necesario para duplicar el número de células. Esto se debe a que la masa celular puede aumentar sin que haya un incremento correspondiente en el número de células. El crecimiento microbiano, siendo una parte esencial de la función microbiana, sigue un patrón similar al de cualquier otro organismo vivo, ya que todos tienen un período de vida finito.

El proceso de crecimiento de una célula individual persiste hasta que llega al punto en el que se divide en dos entidades independientes, ahora identificadas como células hijas.

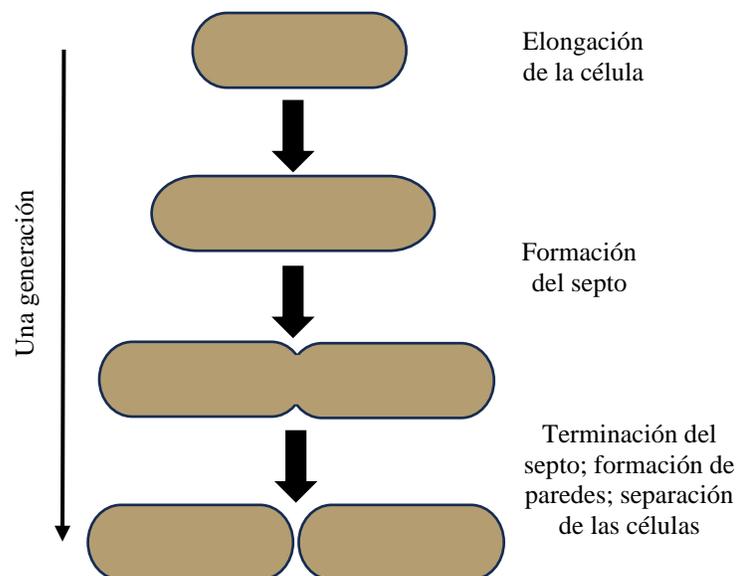


Figura 2 Fisión binaria en un bacilo procariota

Este fenómeno, comúnmente denominado fisión binaria Figura 2, constituye el mecanismo a través del cual se genera una duplicación celular, dando lugar a dos nuevas entidades celulares. Este proceso es esencial para la reproducción celular y la expansión de la población celular en un organismo.

A lo largo del ciclo de crecimiento celular, se experimenta un aumento en todos los elementos que conforman la célula. En consecuencia, cada célula hija resultante de la fisión binaria contiene un cromosoma completo y duplicados suficientes de todas las macromoléculas, monómeros y iones inorgánicos esenciales para su existencia independiente. El período durante el cual se lleva a cabo el proceso de fisión binaria es conocido como el "tiempo de generación", un parámetro que muestra variabilidad dependiendo del microorganismo en cuestión.

Existen diversos factores que influyen en el tiempo de generación, siendo algunos de los más destacados los siguientes:

- ✓ **Temperatura.** – Este factor ambiental juega un papel crucial en el control del crecimiento microbiano. Puede acelerar, disminuir e incluso detener por completo la fase de crecimiento. Los microorganismos se clasifican en tres grupos principales según la temperatura óptima para su desarrollo: mesófilos (8 – 44 °C), termófilos (45 – 80 °C) e hipertermófilos (80 – 115 °C).

- ✓ **pH.** – La expresión de la acidez o alcalinidad de una solución se realiza mediante la medición del pH. Es importante tener en cuenta que el valor neutro de este indicador es 7. Por encima de este punto, se consideran valores alcalinos, mientras que por debajo se catalogan como ácidos. El crecimiento de microorganismos, por su parte, se lleva a cabo en un rango específico, generalmente entre 2 y 3 unidades de pH. No obstante, en el contexto del proceso de fermentación, donde las levaduras desempeñan un papel esencial, se ha observado que estos microorganismos prosperan de manera óptima en un intervalo de pH que oscila entre 4 y 4.5 unidades. Este fenómeno ilustra la adaptabilidad de las levaduras a condiciones específicas de

acidez, resaltando la importancia de comprender las preferencias de pH en el estudio de los procesos biológicos y su aplicabilidad en entornos como la fermentación.

- ✓ **Oxígeno.** – La diversidad de microorganismos abarca un amplio espectro en cuanto a sus requerimientos de oxígeno para su desarrollo. Estos microorganismos se dividen en categorías distintas según su relación con el oxígeno. Por un lado, se encuentran los aerobios, organismos que pueden prosperar en condiciones de oxígeno normales, representando el 21% del contenido de oxígeno en el aire, e incluso en entornos con tensiones de oxígeno elevadas. Por otro lado, se encuentran los anaerobios, microorganismos que no pueden realizar procesos de respiración con oxígeno. Esta clasificación destaca la diversidad adaptativa de los microorganismos a distintas condiciones ambientales, subrayando la importancia de comprender sus necesidades específicas de oxígeno en el contexto de la microbiología y la ecología microbiana.

- ✓ **Nutrientes.** – Los elementos necesarios para favorecer el desarrollo de microorganismos, tanto en entornos naturales como en ambientes controlados como laboratorios, abarcan una serie de requisitos esenciales. Entre estos requisitos se encuentran los macronutrientes, que incluyen carbono (*C*), hidrógeno (*H*), oxígeno (*O*), nitrógeno (*N*), fósforo (*P*), azufre (*S*), hierro (*Fe*), potasio (*K*), calcio (*Ca*), sodio (*Na*), y magnesio (*Mg*). Además, se encuentran los micronutrientes, tales como zinc (*Zn*), cobre (*Cu*), cobalto (*Co*), y manganeso (*Mn*). La atención a estos elementos es fundamental para facilitar un ambiente propicio para el crecimiento y desarrollo de los microorganismos, destacando la importancia de comprender las necesidades nutricionales específicas para optimizar las condiciones de cultivo en diferentes contextos.

2.4.1 Crecimiento exponencial

El término "crecimiento exponencial" se asocia comúnmente con un aumento rápido, pero en la realidad, este proceso comienza de manera gradual antes de acelerar su ritmo (Figura 1). Esta noción se aplica en diversos contextos, como el crecimiento poblacional de cualquier especie, aspectos económicos, entre otros. En el ámbito de la microbiología, el

concepto de crecimiento exponencial se emplea cuando, en un entorno dado, el intervalo de tiempo entre la duplicación de la masa celular por el número de células permanece constante a lo largo del tiempo. Bajo estas condiciones, el microorganismo experimenta un crecimiento que se caracteriza como exponencial. Este tipo de crecimiento se describe de manera específica de acuerdo con las siguientes condiciones:

$$\frac{dx}{dt} = \mu x \quad \text{ó} \quad \frac{dN}{dt} = \mu_n N$$

Donde:

X = masa celular (g)

N = Número de células ($Células/mL$)

T = tiempo (s)

μ = Velocidad específica de crecimiento (h^{-1})

μ_n = Velocidad específica de crecimiento (h^{-1})

2.4.2 Decrecimiento exponencial

El fenómeno de decrecimiento o disminución exponencial presenta similitudes notables con el crecimiento exponencial, aunque se manifiesta de manera inversa. Este concepto se aplica a sistemas en los cuales se observa una reducción no lineal en el objeto de estudio, caracterizado por un comportamiento puramente exponencial. En este contexto, se deduce que cuando la tasa de cambio de una variable x asume un valor negativo, la evolución se describe mediante la ley de decrecimiento exponencial. Matemáticamente, esta ley se expresa mediante la siguiente ecuación diferencial ordinaria de primer orden (2.14):

$$\frac{dx}{dt} = \dot{x} = -kx, \tag{2.14}$$

donde $k > 0$ representa una constante de proporcionalidad. La solución analítica de esta ecuación, considerando la condición inicial $x(0) = x_0$, se manifiesta como $x(t) = x_0 e^{-kt}$, está dada por $x(t) = x_0 e^{-kt}$, su dinámica y límites ($0 < x(t) \leq x_0$ para $t \geq 0$) como se muestra en la Figura 3:

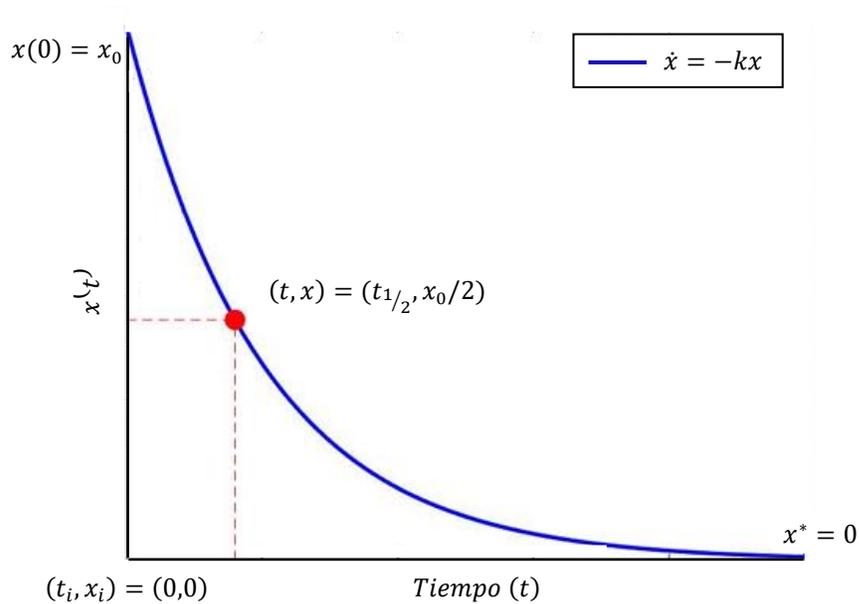


Figura 3 Serie de tiempo para el decaimiento exponencial

2.4.3 Crecimiento sigmoideal

La investigación en torno a este tipo específico de crecimiento ha experimentado un notable incremento, impulsado por su extensa variedad de aplicaciones al analizar la dinámica de la variable de interés en relación con el tiempo. Para este tipo de crecimiento podemos encontrar modelos en la literatura como: logístico, alométrico, Gompertz, etc., los cuales se identifican principalmente por presentar 3 fases curva de crecimiento poblacional, la fase exponencial inicial, fase lineal y la fase de planicie, aunado a esto, otra característica para este tipo de crecimiento es el presentar una asíntota horizontal para cada uno de sus límites: inferior y superior.

2.4.4 Crecimiento logístico

En varias instancias, se ha recurrido a la aplicación de este enfoque de modelado matemático para examinar el crecimiento de diversas variables poblacionales. No obstante, su destacado protagonismo se manifiesta de manera significativa en la investigación de la dinámica de crecimiento tumoral. Este enfoque se convierte en un hito crucial para el diseño de modelos matemáticos del cáncer, presentando un punto de inflexión desde su propuesta inicial en 1923 por parte del fisiólogo y bioquímico Thorburn Robertson. El impacto y relevancia de este método se han extendido más allá de la esfera oncológica, abarcando un espectro diverso de disciplinas que buscan comprender y modelar el desarrollo de diferentes

fenómenos poblacionales a través de una lente matemática y comúnmente se expresa como la ecuación (2.15):

$$\frac{dx}{dt} = kx(1 - x), \quad (2.15)$$

de tal manera que $x(t)$ representa una magnitud o cantidad en función del tiempo t y la k es una constante que representa la tasa de cambio o rapidez con la que la función x cambia con respecto al tiempo t como se muestra en la Figura 4:

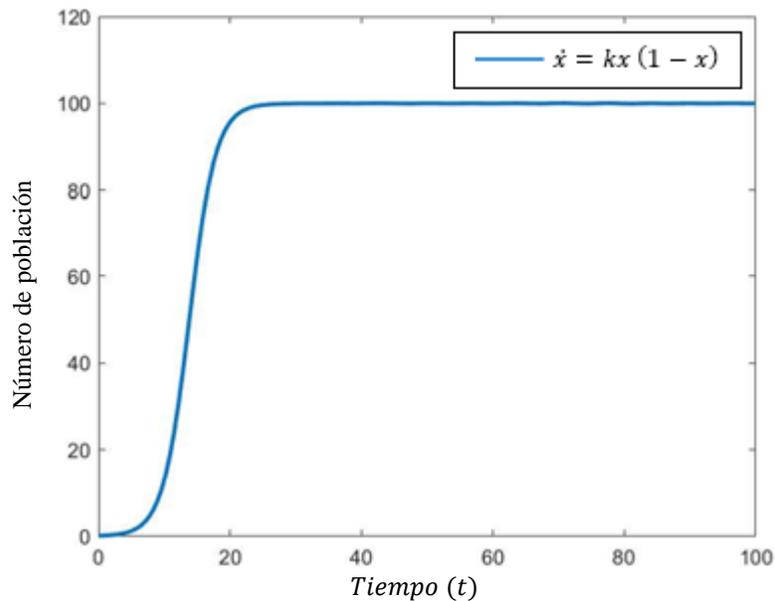


Figura 4 Serie de tiempo para el crecimiento logístico

2.4.5 Crecimiento alométrico

El crecimiento sigmoide basado en principios alométricos implica que diferentes partes de una población celular, como un tumor, crecen a diferentes tasas. En 1960, Ludwig Von Bertalanffy propuso que las tasas de crecimiento y degradación de un tumor son proporcionales a una potencia de su tamaño. Esto se basa en la idea de que cada célula tumoral puede morir, pero solo las células cercanas a la periferia, que tienen acceso a nutrientes, pueden dividirse más rápidamente. Si modelamos la masa tumoral o la población celular como una esfera, obtenemos una ecuación (2.16) diferencial ordinaria de primer orden para describir este crecimiento alométrico:

$$\dot{x} = kx^{2/3} (1 - bx^{1/3}) \quad (2.16)$$

donde el parámetro k representa la tasa de crecimiento intrínseco de la población estudiada y b^{-3} es su capacidad de carga máxima. Para esta ecuación, su solución numérica para el intervalo $t \geq 0$ para la condición inicial $x(0) = x_0$ se encuentra dentro de los límites $x_0 \leq x(t) < b^{-3}$.

2.4.6 Crecimiento Gompertz

Este tipo de crecimiento presenta al igual que los anteriores presenta una curva en forma de S que comienza con un crecimiento exponencial, pasando a una ralentización para finalmente estabilizarse a medida que la población se acerca a su capacidad máxima de carga (Figura 5) siendo un modelo muy útil en la biología para el estudio en cuanto al crecimiento tumoral u otros procesos donde se observa un crecimiento rápido inicial seguido de una desaceleración, su expresión matemática se identifica como el de la ecuación (2.17):

$$\dot{x} = kx(1 - b \ln x), \quad (2.17)$$

donde la letra k representa la tasa de crecimiento intrínseco, x es el tamaño de la población en tiempo t , b es un parámetro que modula la influencia del tamaño de la población sobre su tasa de crecimiento y $\ln x$ es el logaritmo natural del tamaño de la población x .

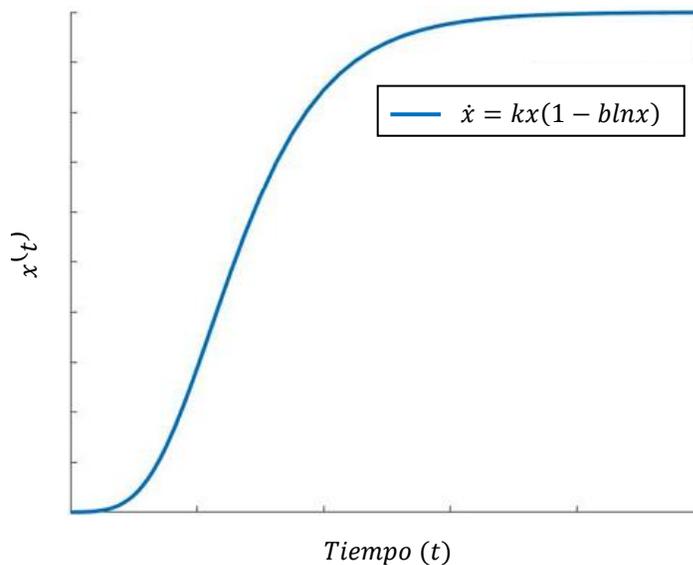


Figura 5 Serie de tiempo para el crecimiento Gompertz

2.5 Ley de acción de masas

La formulación de la ley de acción de masas fue realizada por los químicos noruegos, Cato M. Guldberg (1836-1902) y Peter Waage (1833-1900), en el año 1864. Este principio, considerado fundamental en el ámbito de la química, brinda la capacidad de calcular las concentraciones finales en el estado de equilibrio a partir de las cantidades iniciales, y establece que la rapidez de una reacción está intrínsecamente ligada a la concentración de sus reactivos elevada a la potencia de sus coeficientes estequiométricos. De manera más específica, esta ley posibilita la conexión entre las concentraciones en equilibrio de los reactivos y productos en una reacción química reversible. En términos sencillos, la ley de acción de masas formula la constante de equilibrio, estableciendo así un vínculo crucial entre las condiciones iniciales y finales de una reacción química. Este enunciado representa un pilar esencial para la comprensión y predicción de la dinámica de las reacciones químicas en equilibrio [43] [48].

Un caso ampliamente utilizado para ilustrar la aplicación de esta ley es el modelo de *Lotka – Volterra* (2.18) – (2.19), reconocido también como el sistema presa-depredador. En este modelo, se aborda la interrelación entre la tasa de crecimiento de las presas y los depredadores, estableciendo una relación recíproca entre ambas poblaciones. Este vínculo se expresa a través del término no lineal xy , donde x denota la cantidad de presas y y representa el número de depredadores. Este modelo, al analizar la dinámica de interacción entre las poblaciones de presas y depredadores, ofrece una perspectiva valiosa para comprender los cambios en las tasas de crecimiento y las relaciones ecológicas en un sistema natural. La complejidad inherente a esta ley se revela a través de la descripción pormenorizada de las variables y sus interconexiones, proporcionando así un marco integral para el estudio de sistemas ecológicos y su evolución a lo largo del tiempo. La formulación completa de este modelo se expone de manera detallada a continuación:

$$\frac{dx}{dt} = \dot{x} = \alpha x - \beta xy \quad (2.18)$$

$$\frac{dy}{dt} = \dot{y} = \delta xy - \Upsilon y \quad (2.19)$$

La ecuación (2.18) representa la tasa de cambio de la población de presas, donde el término $\frac{dx}{dt}$ es la tasa de cambio de la población de presas "x" con respecto al tiempo t , α es la tasa de crecimiento intrínseca de las presas, β es la tasa de depredación entre la interacción de la población de presas y depredadores "y". Para la ecuación (2.19) el término $\frac{dy}{dt}$ es la tasa de cambio de la población de depredadores con respecto al tiempo, el término δxy representa el crecimiento de la población de depredadores respecto a su interacción con las presas, mientras que el término $-Yy$ representa la muerte natural o emigración de los depredadores "y". Normalmente la ley de acción de masas se utiliza en modelos biológicos para establecer la interacción entre 2 poblaciones.

2.6 Bioestadística para el ajuste de modelos

La Estadística es una disciplina matemática esencial que abarca la recolección, organización, representación, análisis e interpretación de bases de datos derivados de investigaciones sobre acontecimientos, individuos o grupos de cualquier índole. Su objetivo radica en la deducción de conclusiones precisas o aproximaciones validas en cuanto al comportamiento de las variables estudiadas respecto a eventos que pudieran ocurrir con respecto avanza el tiempo. Por otro lado, la Bioestadística se centra específicamente en la aplicación de métodos estadísticos en la investigación biológica y médica, brindándole al investigador información muy valiosa para que pueda tomar decisiones más precisas sobre el manejo preventivo o la elección del tratamiento más adecuado para el paciente de acuerdo con las predicciones obtenidas [50] [51] [52].

Para el desarrollo de algoritmos que emplean métodos de regresión lineal y no lineal para el ajuste de datos experimentales a través de modelos matemáticos, debemos contemplar ciertos datos estadísticos que nos permitirán verificar la validez del modelo de forma certera, arrojando datos que evidencian que tan bien se realiza el ajuste de los datos aproximados hacia los experimentales, tales como los que se describen en este capítulo.

2.6.1 Grados de libertad

Son un concepto fundamental en diversas áreas del conocimiento, incluyendo la estadística, la física, la ingeniería y la informática. Representan el número de valores

independientes o variables que pueden variar en un sistema, dado ciertas restricciones. Aunque el concepto puede variar ligeramente dependiendo del contexto en el que se aplique, su esencia fundamental permanece constante, en algoritmos de regresión, estos grados se calculan empleando la siguiente expresión matemática detallada en la ecuación (2.20):

$$DOF = \text{cantidad de datos} - \text{cantidad de parametros} \quad (2.20)$$

2.6.2 Nivel de significancia

Comúnmente representado por la letra griega α (alfa), se refiere al rango predefinido utilizado para determinar si los resultados de un análisis estadístico son estadísticamente significativos o si estos ocurrieron por azar. Al realizar pruebas de hipótesis en estadística, evaluamos la existencia de evidencia suficiente para rechazar una hipótesis nula (H_0) en favor de una alternativa (H_a). La hipótesis nula generalmente afirma que no hay diferencia o no hay efecto, mientras que la hipótesis alternativa sugiere lo contrario. El nivel de significación nos ayuda a establecer cuán extremos deben ser nuestros resultados para rechazar la hipótesis nula.

Un nivel de significancia comúnmente utilizado es 0.05, lo que significa que estamos dispuestos a aceptar un 5% de probabilidad de cometer un error tipo I al rechazar la hipótesis nula cuando es verdadera. En otras palabras, si obtenemos un valor de α menor que 0.05, generalmente concluimos que hay suficiente evidencia para rechazar la hipótesis nula. Es importante destacar que el nivel de significación no garantiza la verdad absoluta de nuestros resultados, simplemente nos proporciona un marco para interpretarlos. Además, es crucial considerar otros factores, como el tamaño de la muestra, el diseño del estudio y la relevancia clínica o práctica de los hallazgos.

2.6.3 Distribución t de Student

Es una distribución de probabilidad que se utiliza ampliamente en estadística inferencial, especialmente cuando el tamaño de la muestra es pequeño y/o cuando la desviación estándar de la población es desconocida. Esta distribución se utiliza principalmente en pruebas de hipótesis y en la construcción de intervalos de confianza para estimar parámetros poblacionales, esta herramienta fue desarrollada por

William Sealy Gosset, quien trabajaba para la cervecería Guinness a principios del siglo XX, debido a que se necesitaba una forma de realizar inferencias estadísticas en pequeñas bases de datos, y la distribución t resultó ser la mejor opción. La forma de la distribución t depende del tamaño de la muestra, y tiende a parecerse más a una distribución normal a medida que aumenta el tamaño de la muestra. Cuando el tamaño de la muestra es grande, la distribución t se aproxima a la distribución normal estándar.

2.7 Ajuste de modelos a datos experimentales

En este apartado, se abordan los conceptos básicos de regresión lineal y no lineal empleados para realizar el ajuste u aproximación de modelos matemáticos con datos experimentales. La regresión constituye un método estadístico fundamental para modelar la relación entre variables dependientes e independientes en diversos contextos de divulgación científica y de investigación. Tanto en la regresión lineal como en la no lineal, se pretende calcular los valores de parámetros que minimizan la suma de los cuadrados de las diferencias entre los datos observados y los datos aproximados generados por los modelos (usualmente identificado como método de mínimos cuadrados). Este enfoque de minimización permite identificar los valores óptimos de los parámetros para el modelo propuesto, los cuales son más probablemente correctos en relación con el problema específico en estudio. Este proceso es crucial para obtener modelos precisos que puedan capturar de manera efectiva las relaciones subyacentes entre las variables investigadas [50] [53].

2.7.1 Regresión lineal

La regresión lineal es un método estadístico simple pero poderoso que modela la relación entre una variable dependiente (o respuesta) y una o más variables independientes (o predictoras). El modelo de regresión lineal asume una relación lineal entre las variables, lo que significa que la variable dependiente se estima como una combinación lineal de las variables independientes, ajustada por un término de error. Matemáticamente, el modelo de regresión lineal se expresa como se describe en la siguiente ecuación (2.21):

$$y = \rho x + \beta \tag{2.21}$$

Por lo que: y es la variable dependiente para aproximar, x representa la variable independiente del sistema y ρ y β son los coeficientes del modelo; la pendiente y la intersección con el eje Y .

El objetivo en la regresión lineal es encontrar los valores óptimos de ρ y β que minimizan la suma de los cuadrados de los residuos (mínimos cuadrados), lo que significa ajustar la línea que mejor se ajuste a los datos experimentales.

2.7.2 Regresión no lineal

En contraste con la regresión lineal, la regresión no lineal hace posible la representación de relaciones más complejas entre las variables que intervienen en el sistema, en las cuales la conexión funcional entre la variable dependiente y las variables independientes no poseen necesariamente un patrón lineal. En esta regresión, el modelo puede estar tan sencillo o complejo, partiendo siempre por los modelos clásicos que se encuentran en la literatura y que matemática que se adapte de manera más precisa a los datos observados, incluyendo funciones exponenciales, logarítmicas, polinómicas, sigmoidales, y otras formas funcionales diversas.

La regresión no lineal es un procedimiento que utiliza un método iterativo. En este proceso, se comienza seleccionando una estimación inicial para cada parámetro del modelo. Posteriormente, el algoritmo genera una curva inicial que se espera esté lo más cerca posible a los datos experimentales, cuando la estimación inicial está dentro de una región de convergencia, el método de regresión comienza a ajustar los valores de los parámetros de manera iterativa, moviendo la curva o solución aproximada hacia los datos experimentales. Si en algún momento un cambio en los parámetros no mejora el ajuste de la curva a los datos o no produce cambios significativos, el algoritmo converge y reporta los resultados. En caso de que el resultado de ajuste no brinde una aproximación aceptable, se requiere calibrar las estimaciones iniciales de uno o más parámetros del modelo no lineal e iniciar la simulación.

Un modelo de regresión no lineal, que es invariante en el tiempo y formulado mediante Ecuaciones Diferenciales Ordinarias (*EDO's*) de primer orden, sigue una estructura general como el de las ecuaciones (2.22)-(2.24):

$$\dot{x}_1 = f_1(x_1, x_2, \dots, x_i) \quad (2.22)$$

$$\begin{aligned} \dot{x}_2 &= f_2(x_1, x_2, \dots, x_i) \\ &\vdots \end{aligned} \quad (2.23)$$

$$\dot{x}_i = f_i(x_1, x_2, \dots, x_i), \quad (2.24)$$

con un conjunto de parámetros $\rho_i, i = 1, \dots, m$; que detallan la interacción o interdependencia que tienen las variables del sistema y su valor será ajustado al utilizar el algoritmo de regresión empleando el método de mínimos cuadrados.

3 Metodología

En esta sección, se detallan aspectos cruciales relacionados con el desarrollo experimental, modelado y ajuste de parámetros en el contexto del estudio. En primer lugar, se explora a fondo el origen de los datos experimentales, se analiza minuciosamente la dinámica de crecimiento de las cepas de la levadura empleada, se describen las particularidades del medio de cultivo y se presenta el equipo de laboratorio utilizado para llevar a cabo las mediciones. Este análisis exhaustivo sienta las bases para una comprensión completa de las condiciones experimentales y de las variables involucradas en el proceso de fermentación alcohólica.

La segunda parte de esta sección se centra en la formulación de los modelos matemáticos propuestos: ***Pichia fermentans* (PF)** en el cual se trabajó específicamente con una sola concentración inicial de sustrato (35 g/L) y sus respectivas velocidades de agitación para una sola cepa de levadura: *ITD0165* y el segundo modelo propuesto ***Pichia fermentans 2* (PF2)** con el que se busca explorar la dinámica de crecimiento de la levadura *Pichia fermentans* considerando otras leyes de crecimiento para obtener un modelo más robusto al anterior que se ajuste a nuevas velocidades de agitación tanto de la cepa *ITD0165* como a la cepa *ITD0504* conforme a los datos experimentales proporcionados, además de profundizar su estudio con otras herramientas tales como: positividad, estabilidad asintótica y puntos de equilibrio del sistema.

Para estas dos propuestas se proporciona una exposición detallada de los elementos fundamentales de los modelos, incluyendo sus parámetros, relaciones y valores asociados,

así como las unidades de medición pertinentes. Esta descripción rigurosa es esencial para establecer un marco conceptual sólido y comprensible que permita la interpretación precisa de los sistemas matemáticos propuestos.

En el tercer componente, se aborda con profundidad el proceso de estimación y ajuste de los parámetros para cada modelo. Se destaca el empleo de un algoritmo de regresión no lineal implementado en el software *MATLAB*, aprovechando la versatilidad de la función *lsqcurvefit* [54]. Este algoritmo, respaldado por la robusta plataforma de *MATLAB*, se utiliza en conjunto con los datos experimentales recopilados durante el proceso de fermentación alcohólica. La aplicación de este algoritmo no solo constituye un paso fundamental en la validación del modelo, sino que también proporciona un enfoque cuantitativo para ajustar los parámetros del modelo de manera óptima.

3.1 Datos experimentales

Los registros experimentales que dan cuenta de la cinética de crecimiento de la levadura *Pichia fermentans*, abarcan mediciones en cuatro variables clave: la biomasa [$x(t)$], la concentración de sustrato [$y(t)$], la producción de etanol [$z(t)$] y la velocidad de agitación (r). Estos datos se obtuvieron gracias a la colaboración del Laboratorio de Biotecnología Microbiana de la Unidad de Posgrado e Investigación del Instituto Tecnológico de Durango (*UPIDET*), garantizando así una fuente confiable y especializada.

El medio de fermentación, esencial para las condiciones de crecimiento para ambas cepas: *ITD0165* y *ITD0504*, se basó principalmente en un medio químicamente definido (*MDQ*) enriquecido con glucosa. El proceso de preparación de inóculos, conservación y activación de las cepas se ejecutó meticulosamente utilizando el medio *Yeast Peptone Dextrose (YDP)*. La activación se llevó a cabo en cajas Petri durante 12 h a 28 °C, y para la conservación se empleó el medio *YDP* al 50% de glicerol, almacenado en crioviales a -70 °C, asegurando condiciones óptimas para la viabilidad celular.

En relación con la obtención de inóculos específicos de las cepas, se utilizaron frascos serológicos de 120 ml con un volumen de trabajo de 70 ml de *MDQ*, inoculados con una concentración de 1×10^8 células/ml viables de *Pichia fermentans*. Subsecuentemente, se

llevaron a cabo ensayos en matraces de 250 ml, con un volumen de trabajo de 200 ml de MDQ y una concentración de 1×10^8 células/ml viables de *Pichia fermentans*. La cuantificación precisa de las células de levadura se llevó a cabo mediante un conteo en una cámara Neubauer, generando pellets con una concentración de 1×10^6 células/ml.

Como parte integral de la evaluación del crecimiento celular en gramos por litro, se construyó una curva de peso seco de la levadura *Pichia fermentans*. Las muestras obtenidas durante el proceso de fermentación se sometieron a análisis espectrofotométrico mediante un equipo HACH DR 6000, utilizando una longitud de onda única de 600 nm para evaluar la densidad óptica. La fase de fermentación se replicó por duplicado, manteniendo concentraciones de sustrato de: 35 g/L para velocidades de agitación de 100, 125 y 150 rpm y 60 g/L de sustrato inicial para agitaciones de 117, 125 y 142 rpm para cada una de las cepas estudiadas [55].

En relación con la determinación de las concentraciones de glucosa [$y(t)$] y etanol [$z(t)$], se llevó a cabo un análisis detallado mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) utilizando el equipo de la marca Agilent Technologies 1200 series [56]. La metodología empleada para la separación de los compuestos producidos se basó en el uso de una columna Carboximix H-NP10, con parámetros operativos específicos. Se estableció un flujo de 0.6 ml/min y un volumen de inyección de 1 μ l para garantizar condiciones óptimas de separación.

Como fase móvil, se optó por una solución de ácido sulfúrico al 5 mM, cuya concentración se determinó mediante una interpolación precisa del área bajo la curva del pico correspondiente en la curva patrón de dicho compuesto. Este enfoque garantizó una calibración precisa y confiable del sistema, asegurando resultados cuantitativos precisos.

Las mediciones se llevaron a cabo en intervalos de tiempo específicos, iniciando cada 3 h entre las 0 y las 24 h, y posteriormente, se ampliaron los intervalos a cada 6 h hasta completar un periodo de observación total de 42 horas para la concentración de sustrato más baja y hasta las 72 h para el sustrato inicial de 60 g/L.

3.2 Modelos mecanicistas

Se proponen dos modelos mecanicistas centrados en la levadura *Pichia fermentans* con el objetivo de brindar una descripción integral y detallada de la dinámica involucrada en la fermentación alcohólica. Este enfoque también busca abordar de manera específica el impacto que ejerce la variación en la velocidad de agitación en dicho proceso. La fermentación alcohólica, al ser un proceso bioquímico anaeróbico, se caracteriza por llevarse a cabo en la ausencia de oxígeno. Durante este fenómeno, los azúcares presentes en el sustrato son descompuestos gracias a la acción de microorganismos conocidos como levaduras, que constituyen la biomasa $[x(t)]$ fundamental del sistema.

A medida que estas levaduras metabolizan los azúcares, se generan una variedad de productos primarios: el alcohol etílico, que es parte medular de esta investigación y el dióxido de carbono, y secundarios: como el glicerol, conocido por su contribución a la textura y suavidad, los ésteres, ácidos orgánicos y acetaldehído, cuya presencia de ellos, influye significativamente en aspectos esenciales como el aroma, sabor y estabilidad del producto final [57].

3.2.1 Modelo mecanicista *Pichia fermentans* (PF)

La estructura del primer modelo *Pichia fermentans* (PF) se basa en un sistema compuesto por tres ecuaciones diferenciales ordinarias de primer orden (3.1) – (3.3). Estas ecuaciones ofrecen una representación matemática detallada de las complejas interacciones y procesos que tienen lugar durante la fermentación alcohólica exclusivamente para la cepa ITD0165 observada en la concentración inicial de sustrato de 35 g/L. La capacidad inherente de estas ecuaciones para capturar las dinámicas de la levadura *Pichia fermentans* permite no solo emular sino también prever con precisión el comportamiento de la levadura en diversas condiciones de fermentación.

$$\dot{x} = \rho_1 x - \rho_2 xz \quad (3.1)$$

$$\dot{y} = -\rho_3 xy - \rho_4 y \quad (3.2)$$

$$\dot{z} = \rho_5 xy + \rho_6 zy(1 - \rho_7 z) \quad (3.3)$$

Donde

$x(t)$: es la levadura (biomasa)

$y(t)$: es el sustrato (glucosa)

$z(t)$: es el producto (etanol)

$\rho_1 - \rho_7$: son los parámetros del modelo **PF** (ver Tabla 1)

Cada una de las variables de estado, representadas por $[x(t), y(t), z(t)]$, se encuentran expresada en términos de concentración, específicamente en gramos por litro (g/l), mientras que la escala temporal del sistema se mide en horas (h). Siguiendo las conclusiones derivadas de las investigaciones de Leenher y Aeyels [58], se establece que todas las soluciones del sistema, considerando condiciones iniciales no negativas (es decir, $x(0), y(0), z(0) \geq 0$), se sitúan en el octante no negativo, tal como se define en la ecuación (3.4). Esta definición garantiza que las variables de estado permanezcan en un contexto positivo y no atraviesen regiones no físicas, proporcionando así un marco coherente para la interpretación y análisis de las soluciones del sistema en estudio.

$$R_{+,0}^3 = \{x(t), y(t), z(t) \geq 0\} \quad (3.4)$$

Considerando el comportamiento biológico de las variables fundamentales del modelo: biomasa, sustrato y el etanol, se asume que la presencia de valores negativos en las soluciones carece de viabilidad, ya que estos datos contradicen los principios fundamentales de los procesos biológicos que estas variables representan. Además, se reconoce que estas variables no pueden experimentar un crecimiento exponencial indefinido, ya que existe un reconocimiento claro de los límites biológicos que imponen restricciones a su expansión. En la sección siguiente, se profundizará la discusión de estos límites biológicos, aportando un análisis más detallado sobre cómo influyen en la dinámica de las variables y contribuyen al realismo biológico del modelo propuesto (**PF**).

La determinación de la relación entre la concentración inicial del sustrato (y_0) y las variaciones en la velocidad de agitación (r) se llevó a cabo utilizando el software *Eureqa* [59], ya que es una herramienta avanzada basada en inteligencia artificial y algoritmos genéticos, especializado en el descubrimiento de ecuaciones y patrones en datos complejos, con lo que se definió la ecuación (3.5) para el parámetro ρ_1 .

$$\rho_1 = 0.0107 r - 0.5457 - 1.4787^{-5} r y_0 - 4.0181^{-5} r^2 \quad (3.5)$$

Mediante esta ecuación, se formaliza la conexión que existe entre la variación en la agitación (r), la concentración del sustrato [$y(t)$], y el crecimiento de la biomasa [$x(t)$]. Esta relación proporciona una comprensión esencial de cómo la velocidad de agitación y la concentración del sustrato influyen en el proceso de crecimiento de la biomasa en el contexto del modelo *Pichia fermentans* (PF), descrito por las ecuaciones (3.1) – (3.3). La Tabla 1 detalla exhaustivamente tanto los parámetros clave como las variables involucradas en el sistema, arrojando las interacciones y dinámicas fundamentales que rigen la fermentación alcohólica en estudio. Este enfoque integral no solo establece la base para la interpretación precisa de los resultados del modelo, sino que también permite una consideración detallada de cómo las variaciones en los parámetros afectan la evolución del sistema en su conjunto.

Tabla 1 Descripción y unidades para las variables y parámetros del modelo PF

VARIABLES Y PARÁMETROS	DESCRIPCIÓN	UNIDADES
$x(t)$	Concentración de biomasa	g/L
$y(t)$	Concentración de glucosa	g/L
$z(t)$	Concentración de etanol	g/L
ρ_1	Tasa máxima de crecimiento de la biomasa	h^{-1}
ρ_2	Tasa de inhibición del crecimiento de la biomasa debido a la acumulación de etanol	$\frac{L}{g \times h}$
ρ_3	Tasa de consumo de sustrato	$\frac{L}{g \times h}$
ρ_4	Tasa de descomposición espontánea de sustrato	h^{-1}
ρ_5	Tasa de producción de etanol asociada al crecimiento de biomasa por el consumo de sustrato	$\frac{L}{g \times h}$
ρ_6	Tasa máxima de producción de etanol	h^{-1}
ρ_7	Inverso del máximo producción de etanol	h^{-1}

El modelo matemático **PF** describe la relación dinámica entre la concentración de biomasa [$x(t)$], el consumo de sustrato [$y(t)$], y la producción de etanol [$z(t)$] en función del tiempo. La ecuación (3.1) detalla la dinámica de la biomasa, incorporando dos parámetros

esenciales, ρ_1 y ρ_2 . El parámetro ρ_1 representa el límite máximo de crecimiento de la biomasa, influenciado por la agitación y la concentración inicial del sustrato. En contraste, el parámetro ρ_2 adopta un signo negativo al reflejar la muerte biológica de la biomasa, resultado de la generación del metabolito primario (etanol), cuyo impacto tóxico está descrito mediante la ley de acción de masas [60]. La ecuación (3.2) aborda la dinámica del sustrato mediante un modelo de decrecimiento exponencial. El parámetro ρ_3 caracteriza el comportamiento de sistemas biológicos al considerar el consumo de sustrato por parte de la biomasa para su crecimiento. Por su parte, el parámetro ρ_4 describe la degradación del sustrato, indicando que la disponibilidad de este disminuye al agotarse durante el proceso de fermentación por lotes [61]. Esta formulación destaca la relación crucial entre el sustrato y la biomasa, revelando cómo la biomasa impacta directamente en la disponibilidad de sustrato y, por ende, en su propia evolución.

En cuanto a la ecuación (3.3), que modela la dinámica del producto (etanol), el término ρ_5 señala la producción de etanol que es ocasionado cuando la biomasa comienza a consumir el sustrato existente para su crecimiento. Los parámetros ρ_6 y ρ_7 se basan en la ecuación de crecimiento logístico [62]. El parámetro ρ_6 muestra el crecimiento exponencial inicial, donde la producción de etanol crece proporcionalmente al tamaño actual. Mientras tanto, ρ_7 expresa el límite para la tasa de crecimiento conforme el producto final se acerca a su capacidad máxima. Este enfoque matemático revela la complejidad intrínseca de la producción de etanol, incorporando consideraciones logísticas que reflejan la naturaleza limitada de los recursos y la capacidad del sistema.

3.2.2 Modelo mecanicista *Pichia fermentans 2 (PF2)*

Para la segunda propuesta, el modelo *Pichia fermentans 2 (PF2)* (3.6) – (3.8) surgió derivado de encontrar un modelo más robusto que sea capaz de predecir la dinámica microbiana de ambas cepas de la levadura: *ITD0165* y *ITD0504*, con sus respectivas variaciones de concentración inicial de sustrato 35 g/L a 100, 125 y 150 rpm y 60 g/L a 117, 125 y 142 rpm. Este modelo presenta también una ecuación diferencial por cada variable a estudiar: biomasa $[x(t)]$, sustrato $[y(t)]$ y producto $[z(t)]$, como se muestra enseguida:

$$\dot{x} = \frac{\rho_8 y}{\rho_9 + y} - \rho_{10} x, \quad (3.6)$$

$$\dot{y} = -\rho_{11} x y - \rho_{12} y, \quad (3.7)$$

$$\dot{z} = \rho_{13} x y - \rho_{14} z, \quad (3.8)$$

donde

$x(t)$: es la levadura (biomasa)

$y(t)$: es el sustrato (glucosa)

$z(t)$: es el producto (etanol)

$\rho_8 - \rho_{14}$: son los parámetros del modelo (ver Tabla 2)

Siguiendo la misma dinámica que la primera propuesta de modelo, cada una de las variables de esta segunda opción: $[x(t), y(t), z(t)]$, están expresadas en términos de concentración de g/L y analizadas respecto al tiempo en horas (h). Las soluciones del sistema también se encuentran en el octante no negativo, con condiciones iniciales no negativas ($x(0), y(0), z(0) \geq 0$), como se define en la ecuación (3.4), para continuar considerando las cinéticas biológicas de las variables, es decir, que en todo momento se obtengan valores positivos o iguales a cero.

Tabla 2 Descripción y unidades para las variables y parámetros del modelo PF2

VARIABLES Y PARÁMETROS	DESCRIPCIÓN	UNIDADES
$x(t)$	Concentración de biomasa	g/L
$y(t)$	Concentración de glucosa	g/L
$z(t)$	Concentración de etanol	g/L
ρ_8	Tasa máxima de crecimiento de la biomasa	h^{-1}
ρ_9	Tasa de afinidad con el sustrato	g/L
ρ_{10}	Tasa de mortalidad de la biomasa	h^{-1}
ρ_{11}	Tasa de consumo de sustrato por la biomasa	$\frac{L}{g \times h}$
ρ_{12}	Tasa de descomposición espontánea de sustrato	h^{-1}
ρ_{13}	Tasa de producción de etanol asociada al crecimiento de biomasa por el consumo de sustrato	$\frac{L}{g \times h}$
ρ_{14}	Tasa de degradación de etanol	h^{-1}

En este modelo mecanicista, la ecuación (3.6) describe la dinámica sobre la biomasa $[x(t)]$ donde el primer término emplea la ecuación de crecimiento microbiano clásica de Monod, siendo el ρ_8 la tasa máxima de crecimiento de la biomasa comúnmente conocida como μ_{max} , el ρ_9 representa la afinidad o eficiencia con la que el microorganismo puede consumir el sustrato que se encuentra en el medio para su crecimiento y reproducción, ρ_{10} es la tasa de muerte natural de la biomasa, por llegar a su última fase de crecimiento microbiano en la que los nutrientes del medio están agotados. En la ecuación (3.7) formula la dinámica de la glucosa $[y(t)]$ mediante una función decrecimiento exponencial teniendo sus dos términos signo negativos debido a que, al estar trabajando en una fermentación por lote, el proceso no tiene abastecimiento de sustrato en ningún otro momento después de su valor inicial, el parámetro ρ_{11} representa el consumo de sustrato por la biomasa para su crecimiento y reproducción, el término ρ_{12} describe la descomposición espontánea del sustrato.

La dinámica del etanol $[z(t)]$ descrita en la ecuación (3.8) está compuesta por los términos ρ_{13} y ρ_{14} en el que el primero de ellos, describe la tasa de producción de etanol asociada con el crecimiento de la biomasa por el consumo de sustrato, ya que, de acuerdo con las fases de crecimiento microbiano, en su fase de crecimiento exponencial es donde se producen los metabolitos primarios siendo uno de ellos nuestra variable de estudio: etanol, el segundo término representa la tasa de degradación del etanol.

3.3 Estimación de parámetros de los modelos mecanicistas

En este apartado es relevante señalar que los datos experimentales fueron promediados, considerando la presencia de dos muestras por unidad de tiempo de cada dato, suavizados y normalizados para que las distintas escalas entre la magnitud de las variables no ocasionen valores incorrectos al utilizar la función *lsqcurvefit*, se expone en detalle la metodología empleada para llevar a cabo la estimación de los valores numéricos asociados a los parámetros de los sistemas: *PF* (3.1) – (3.3) y *PF2* (3.6) – (3.8).

El proceso se inicia con una exhaustiva revisión de la literatura científica, focalizándose en la búsqueda de información experimental pertinente acerca de la vida media del sustrato empleado en el contexto de la fermentación alcohólica. A partir de esta investigación, se descubre que la vida media ($t_{1/2}$) de dicho sustrato es de 96 años según los hallazgos documentados [61]. Este valor resulta fundamental, ya que, al considerar una cinética de primer orden, se puede derivar una expresión precisa para la tasa de descomposición, representada por los parámetros ρ_4 y ρ_{12} en la ecuación (3.9).

La obtención de esta constante constituye un paso crucial en la parametrización del modelo PF, ya que proporciona una medida significativa de la velocidad con la cual el sustrato se degrada durante el proceso de fermentación alcohólica mostrándose a continuación:

$$\rho_{4,12} = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} = 824.2332 \times 10^{-9} h^{-1} \quad (3.9)$$

Para establecer los valores específicos que tomaran los parámetros ρ_i , donde $i = 2, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 13$ y 14 , se implementó el método de Euler, ya que es eficaz para la solución numérica de ecuaciones diferenciales ordinarias aproximando el comportamiento dinámico del modelo propuesto hacia los datos experimentales [63]. Este método se aplica a las ecuaciones (3.1) – (3.3) y (3.6) – (3.8), dando como resultado un sistema interrelacionado de ecuaciones diferenciales discretas expresadas en el sistema de ecuaciones (3.10) – (3.12) para el modelo **PF**:

$$x_{i+1} = x_i + (\rho_1 x_i - \rho_2 x_i z_i) \Delta_t \quad (3.10)$$

$$y_{i+1} = y_i + (-\rho_3 x_i y_i - \rho_4 y_i) \Delta_t \quad (3.11)$$

$$z_{i+1} = z_i + (\rho_5 x_i y_i + \rho_6 z_i y_i (1 - \rho_7 z_i)) \Delta_t \quad (3.12)$$

y las ecuaciones (3.13) – (3.15) para el modelo **PF2**:

$$x_{i+1} = x_i + \left(\frac{\rho_8 y_i}{\rho_9 + y_i} - \rho_{10} x_i \right) \Delta_t \quad (3.13)$$

$$y_{i+1} = y_i + (-\rho_{11} x_i y_i - \rho_{12} y_i) \Delta_t \quad (3.14)$$

$$z_{i+1} = z_i + (\rho_{13} x_i y_i - \rho_{14} z_i) \Delta_t \quad (3.15)$$

donde $\Delta_t = 1 \times 10^{-3}$.

Con estos nuevos sistemas de ecuaciones, se diseñó un algoritmo en *MATLAB* basándose en los resultados obtenidos, con el propósito de llevar a cabo el ajuste de los parámetros mediante una regresión no lineal utilizando la función *lsqcurvefit* y los datos experimentales. Inicialmente, se establecieron valores iniciales para cada parámetro ρ_i en 1×10^{-2} a excepción de $\rho_{4,12}$ que es un valor constante, ver *ec.* (3.9). En el proceso de optimización de las funciones, se consideraron las siguientes condiciones específicas: *max function evaluations* = 500, *max iterations* = 500, *function tolerance* = 1×10^{-12} y *step tolerance* = 1×10^{-12} .

Además, se implementó la ecuación (3.16) para la estimación del coeficiente de determinación para ambos modelos, comúnmente referido como R^2 . Este parámetro proporciona una medida cuantitativa de la calidad del ajuste del modelo propuesto a los datos experimentales. La interpretación del resultado final se expresa en valores que varían entre 0 y 1 [64]. Un valor más cercano a la unidad, indica un ajuste más preciso y adecuado del modelo, mientras que valores más bajos sugieren una menor capacidad del modelo para explicar la variabilidad de los datos.

$$R^2 = 1 - \frac{SSR}{SST} \quad (3.16)$$

Donde *SSR* (suma de cuadrados de la regresión) se calcula como la suma de los cuadrados de las diferencias entre los valores predichos por el modelo y la media de la variable dependiente. Por otro lado, la *SST* (suma de cuadrados totales) se obtiene al sumar los cuadrados de las diferencias entre los valores reales de la variable dependiente y su media.

4 Resultados

En esta sección, se presentan los resultados relativos a la estimación de los parámetros y la experimentación *in silico*, con el propósito de analizar la predicción de las soluciones de los modelos **PF**(3.1) – (3.3) y **PF2** (3.6) – (3.8) a los datos experimentales. La comparación entre los datos experimentales y los estimados en las simulaciones numéricas posibilita la validación de los modelos propuestos, ofreciendo una evaluación precisa y confiable de su capacidad para representar el comportamiento del sistema durante el proceso de fermentación alcohólica.

Este análisis no solo respalda la adecuación del modelo propuesto a los datos experimentales, sino que también proporciona una comprensión más profunda de las dinámicas que ocurren en la fermentación alcohólica estudiada. Esta sección no solo cumple con la tarea de validar el modelo propuesto, sino que también enriquece la interpretación de los resultados al destacar la coherencia y utilidad del enfoque adoptado en la representación del fenómeno estudiado.

4.1 Modelo *Pichia fermentans* (PF)

Para esta propuesta de modelo mecanicista se utilizó la base de datos experimentales de la fermentación alcohólica usando la levadura *Pichia fermentans* empleando la cepa *ITD0165* con una sola concentración inicial de sustrato: 35 g/L, para cada una de las velocidades de agitación: 100, 125 y 150 rpm.

Las simulaciones numéricas desempeñan un papel fundamental en la representación visual de resultados cualitativos. En la Tabla 3, se muestran los resultados derivados de la regresión no lineal al ajustar el modelo mecanicista *PF* descrito en las ecuaciones (3.1) – (3.3), a los datos experimentales de la fermentación alcohólica. De acuerdo con las conclusiones obtenidas, se puede apreciar que, al aumentar la velocidad de agitación, los parámetros ρ_i ($i = 1$ a 7), a excepción de ρ_4 , experimentan variaciones de acuerdo con la dinámica de crecimiento de los microorganismos.

Es notable que, al incrementar la velocidad de agitación, el parámetro ρ_1 revela un aumento en la tasa de crecimiento, alcanzando hasta $0.1652h^{-1}$ cuando la velocidad de

agitación pasa de 100 a 125 rpm. En relación con la inhibición del crecimiento de la biomasa, atribuida a la acumulación de etanol producido e identificada por el parámetro ρ_2 , se destaca que el valor más elevado se registra a 125 rpm, alcanzando los $0.1854h^{-1}$. Este hallazgo acentúa la influencia significativa de la velocidad de agitación en la respuesta dinámica del sistema biológico estudiado.

Tabla 3 Valores estimados de los parámetros mediante el algoritmo

Parámetros	100 rpm	125 rpm	150 rpm
ρ_1	0.1234	0.1652	0.1567
ρ_2	0.1013	0.1854	0.1590
ρ_3	0.1300	0.1058	0.0985
ρ_5	0.0105	0.0187	0.0224
ρ_6	0.3110	0.2783	0.2705
ρ_7	0.7999	0.9111	0.9696

En la Figura 6 – Figura 8 se observan los resultados generados en la experimentación *in silico* donde se empleo la cepa ITD0165 para cada una de las diferentes velocidades de agitación empleada. Cada figura consta de 3 gráficos distintos, uno para cada una de las variables de estudio: biomasa $[x(t)]$, glucosa $[y(t)]$ y etanol $[z(t)]$. Estos gráficos son cruciales para comprender la cinética de estas variables a lo largo del tiempo (t) y como el modelo propuesto *PF* predice el comportamiento de cada una de las variables en función de la velocidad de agitación. La representación gráfica de los datos observables y los estimados es fundamental para evaluar la precisión del modelo de una manera visual. Los datos experimentales están identificados por el marcador "x", mientras que la línea continua de color rojo representa la predicción del algoritmo.

En cuanto a los ejes de cada gráfico, en el eje x se encuentran las unidades de tiempo expresadas en horas (t), permitiendo observar la evolución temporal de cada variable estudiada; en el eje y se representan los valores normalizados de cada variable.

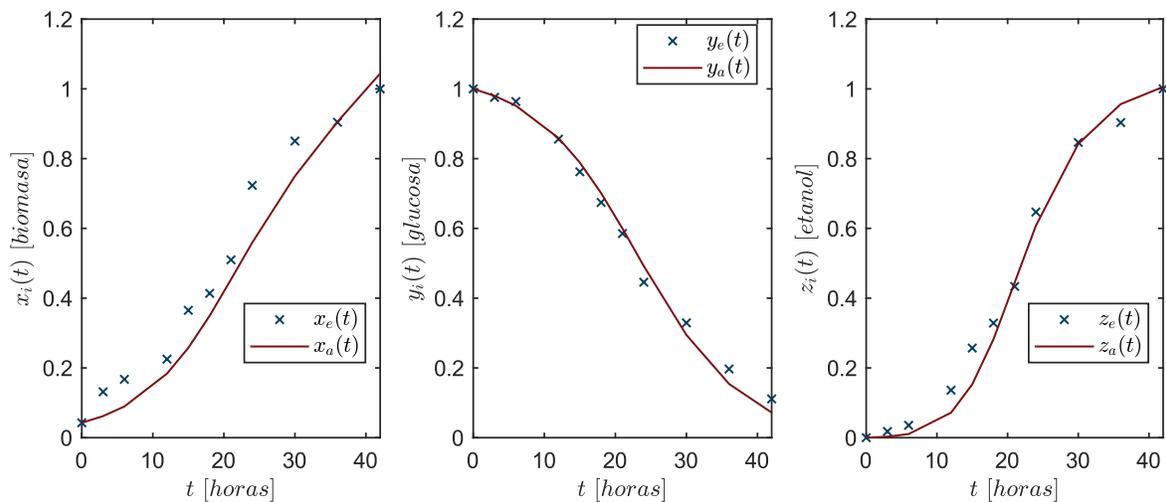


Figura 6 Datos experimentales vs datos estimados a una agitación de 100 rpm

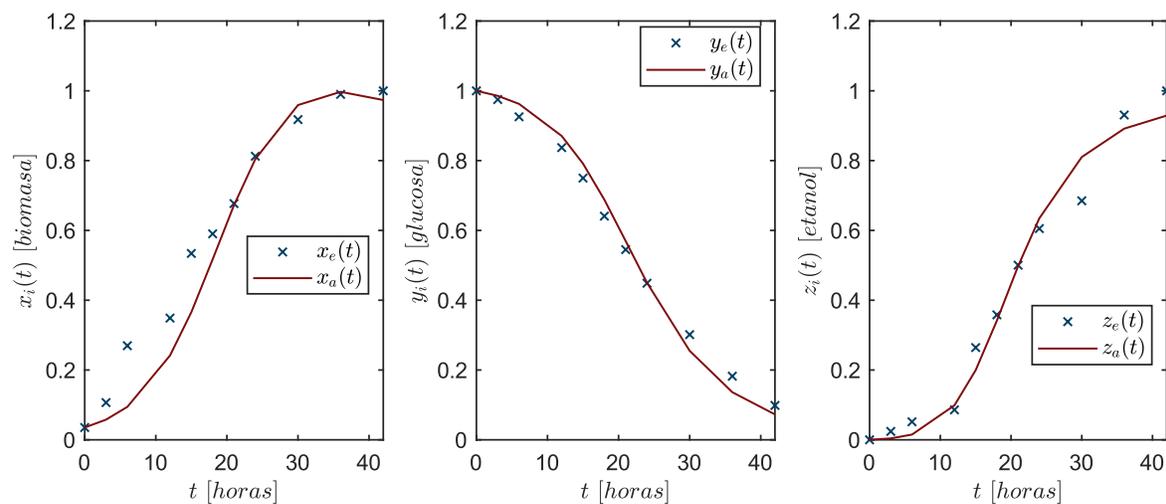


Figura 7 Datos experimentales vs datos estimados a una agitación de 125 rpm

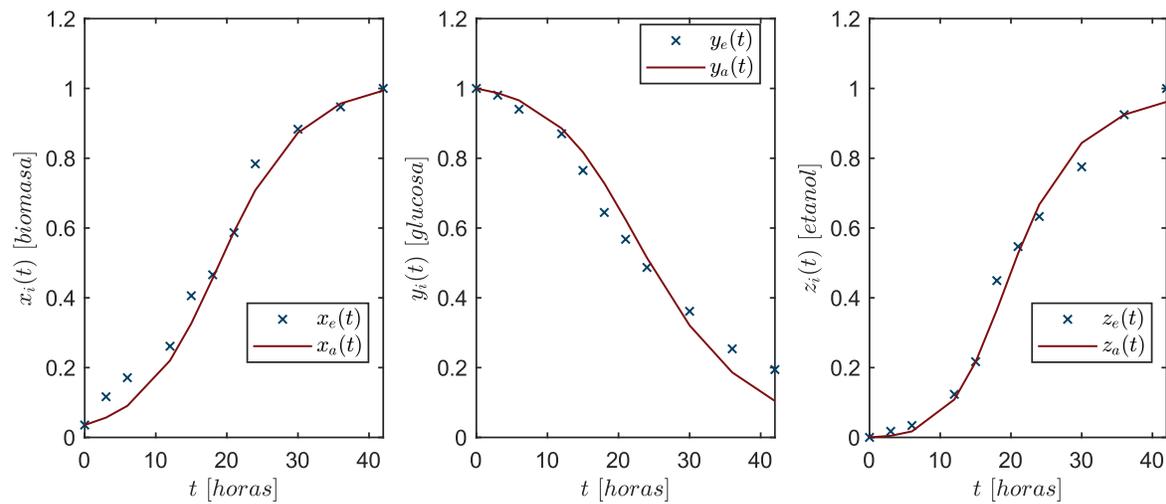


Figura 8 Datos experimentales vs datos estimados a una agitación de 150 rpm

La validación del modelo *PF* fue realizada con la implementación del coeficiente de determinación, identificado como R^2 , el cual proporciona un valor que permite evaluar de manera cuantitativa la capacidad del modelo *PF* (3.1) – (3.3) para ajustarse a los datos experimentales. En la Tabla 4, podemos observar los valores obtenidos de R^2 , calculados a partir de la comparación entre los datos aproximados generados por el modelo *PF* y los datos experimentales recopilados durante el proceso de fermentación alcohólica. Dentro de dicha tabla, se detalla el coeficiente de determinación del modelo para cada variable; biomasa, sustrato y etanol, en relación con la velocidad de agitación.

Se destaca que para la biomasa [$x(t)$], se obtiene un valor superior al 0.93, para el sustrato [$y(t)$] se logra un R^2 que supera el 0.96, y para el etanol [$z(t)$] se registra un coeficiente de determinación que excede el 0.97. Estos hallazgos evidencian la capacidad y precisión del modelo *PF* al predecir las variables cruciales en el contexto de la fermentación alcohólica, mostrando una adaptación sustancial a los datos experimentales recopilados. Este análisis cuantitativo respalda la validez y la confiabilidad del modelo *PF* en el contexto específico de la investigación sobre la velocidad de agitación y su influencia en las variables biomasa, sustrato y etanol.

Tabla 4 Coeficiente de determinación R^2 para cada una de las variables del sistema *PF*

Velocidad de agitación (rpm)	Biomasa [$x(t)$]	Sustrato [$y(t)$]	Etanol [$z(t)$]
100	0.9383	0.9916	0.9839
125	0.9323	0.9882	0.9775
150	0.9802	0.9663	0.9889

4.2 Modelo *Pichia fermentans* 2 (*PF2*)

Luego de los resultados obtenidos del modelo *PF*, se necesitaba evaluar su capacidad de ajuste para una base de datos más robusta. Sin embargo, el modelo no logro aproximar de manera óptima todos los datos, por lo que se optó por profundizar la investigación y describir un nuevo modelo matemático que fuera capaz de predecir la dinámica de esta nueva base de datos considerando otras leyes de crecimiento descritas en la literatura.

En esta sección se presentan los resultados relacionados con la estimación de los parámetros y la experimentación *in silico*, del modelo mecanicista ***Pichia fermentans 2 (PF2)***(3.6) – (3.8). Con este modelo se obtuvo un ajuste más robusto que la propuesta anterior ***PF***. Ya que se trabajó con dos concentraciones de sustrato inicial y seis velocidades de agitación. Esto permitió realizar un comparativo entre los datos observados y los datos estimados por el algoritmo. A este modelo se le realizaron las pruebas de sistemas dinámicos tales como positividad del sistema, puntos de equilibrio y estabilidad asintótica para validar la capacidad de predicción del modelo propuesto.

En la Tabla 5 y Tabla 6 se muestran los resultados cualitativos logrados para cada uno de los parámetros del modelo ***PF2*** obtenidos al ajustar las ecuaciones (3.6) – (3.8). Se puede apreciar que para la velocidad de agitación de 125 *rpm* existe una mayor tasa de crecimiento de la biomasa ρ_8 , para ambas cepas a la concentración inicial de 35 *g/L*, con un valor de $0.034666h^{-1}$ y $0.035669h^{-1}$ respectivamente.

Los valores de la afinidad de la biomasa con el sustrato, ρ_9 , no presentan una relación lineal con respecto al cambio de velocidad de agitación. En cuanto a los parámetros ρ_{10} y ρ_{14} , se muestra un valor constante el cual se obtuvo luego de realizar diversos cambios en los valores iniciales ($1 \times 10^{-2} - 1 \times 10^5$) del experimento y este parámetro no presentaba cambios sustanciales respecto a ese valor sobre la muerte biológica de la levadura con una tasa de $0.00207 h^{-1}$ y una degradación del etanol de $0.009341h^{-1}$ respectivamente.

Para los parámetros ρ_{11} y ρ_{12} presentes en la ecuación de la dinámica del sustrato, se contemplan con signo negativo por el hecho de que representan un consumo del sustrato el cual no se incrementa en todo el proceso por el tipo de fermentación realizada. El valor constante del ρ_{12} es descrito en la ecuación (3.9). El parámetro ρ_{11} representa una tasa de consumo de sustrato por la biomasa para su crecimiento, para ambas cepas *ITD0164* y *ITD0504*, cuyo mayor consumo fue a 100 *rpm* para el sustrato inicial de 35 *g/L*; en cambio, para el análisis de la dinámica para la concentración inicial de 60 *g/L*, para la primera cepa, el valor mayor de $0.048105 h^{-1}$ se logró a una agitación de 125 *rpm* y para la segunda cepa se obtuvo $0.042324 h^{-1}$ a la velocidad de agitación de 142 *rpm*

Tabla 5 Valores estimados de los parámetros mediante el algoritmo para la Cepa ITD0165

Concentración inicial de sustrato	35 g/L			60 g/L		
	100 rpm	125 rpm	150 rpm	117 rpm	125 rpm	142 rpm
ρ_8	0.024126	0.034666	0.031271	0.012988	0.0093011	0.022618
ρ_9	0.50048	0.51998	0.51451	0.28633	0.17642	0.30368
ρ_{10}	0.00207	0.00207	0.00207	0.00207	0.00207	0.00207
ρ_{11}	0.13341	0.10316	0.10508	0.035843	0.048105	0.02752
ρ_{12}	824.233x10 ⁻⁹					
ρ_{13}	0.3025	0.23044	0.24264	0.079651	0.10163	0.063842
ρ_{14}	0.009341	0.009341	0.009341	0.009341	0.009341	0.009341

Tabla 6 Valores estimados de los parámetros mediante el algoritmo para la Cepa ITD0504

Concentración inicial de sustrato	35 g/L			60 g/L		
	100 rpm	125 rpm	150 rpm	117 rpm	125 rpm	142 rpm
ρ_8	0.025141	0.035669	0.032079	0.013238	0.022614	0.0094874
ρ_9	0.5028	0.52646	0.51169	0.27772	0.29977	0.16454
ρ_{10}	0.00207	0.00207	0.00207	0.00207	0.00207	0.00207
ρ_{11}	0.1221	0.097003	0.096629	0.031375	0.02493	0.042324
ρ_{12}	824.233x10 ⁻⁹					
ρ_{13}	0.29508	0.22631	0.22788	0.073811	0.060706	0.096615
ρ_{14}	0.009341	0.009341	0.009341	0.009341	0.009341	0.009341

En las siguientes Figura 9-Figura 12 se ilustran los resultados obtenidos en la experimentación *in silico* para las dos cepas: ITD0165 e ITD0504, donde en cada una de ellas, los datos observables se representan con el marcador x , y los datos aproximados generados por el algoritmo del sistema PF2 (3.6) – (3.8) son identificados por la línea continua color rojo. Cada una de las figuras cuenta con 3 filas, en cada fila se encuentra la estimación correspondiente para cada una de las variables estudiadas: biomasa [$x(t)$], glucosa [$y(t)$] y etanol [$z(t)$] de acuerdo con la velocidad de agitación con la que se realizó el experimento, en el eje de las x se tiene las unidades de tiempo en horas (t) y en el eje de las y y están los valores normalizados de cada variable.

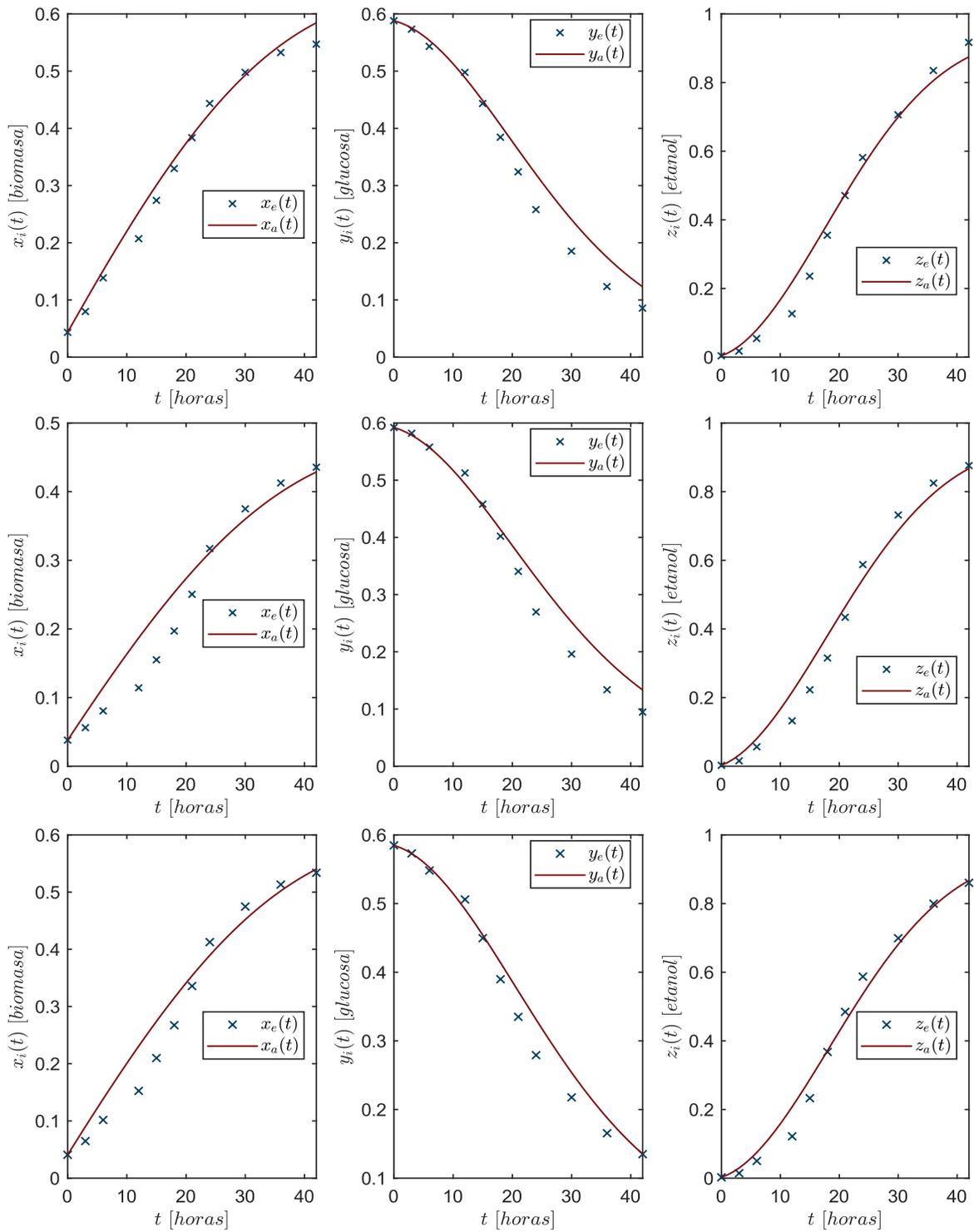


Figura 9 Datos experimentales de la *Cepa ITD0165* vs datos estimados con sustrato inicial de **35 g/L** para las agitaciones de 100 rpm fila 1, 125 rpm fila 2 y 150 rpm fila 3

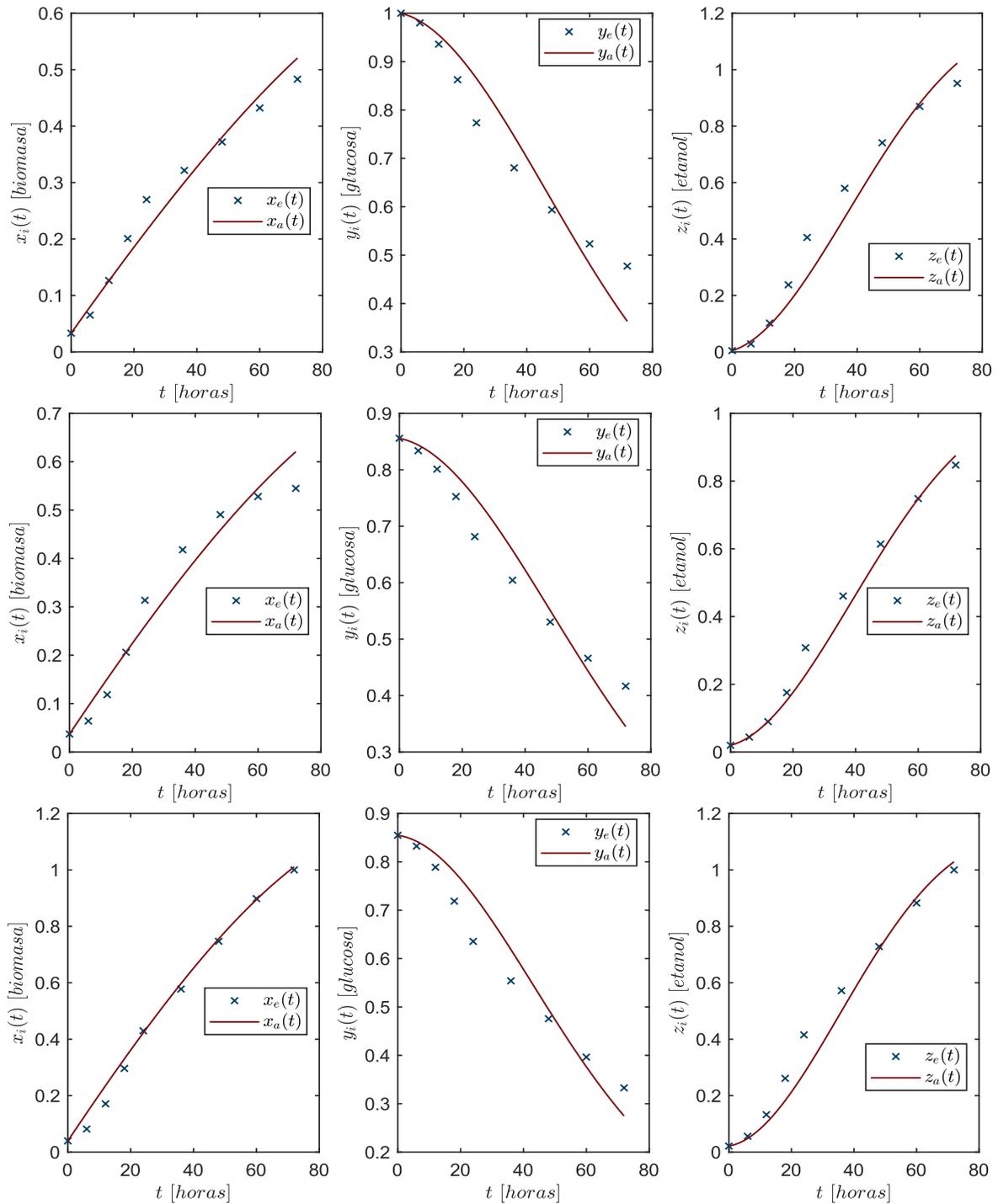


Figura 10 Datos experimentales de la **Cepa ITD0165** vs datos estimados con sustrato inicial de **60 g/L** para las agitaciones de 117 rpm fila 1, 125 rpm fila 2 y 142 rpm fila 3

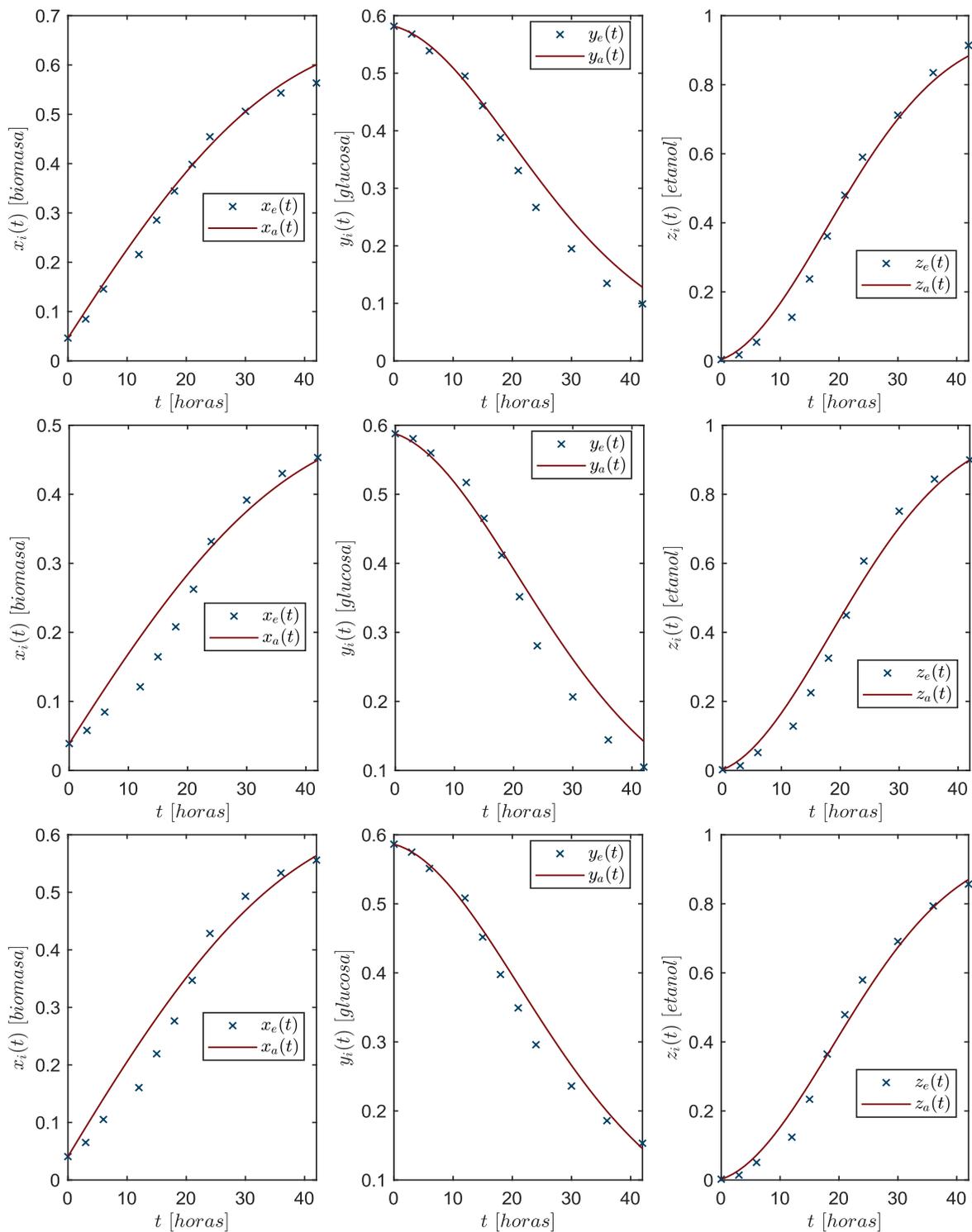


Figura 11 Datos experimentales de la **Cepa ITD0504** vs datos estimados con sustrato inicial de **35 g/L** para las agitaciones de 100 rpm fila 1, 125 rpm fila 2 y 150 rpm fila 3

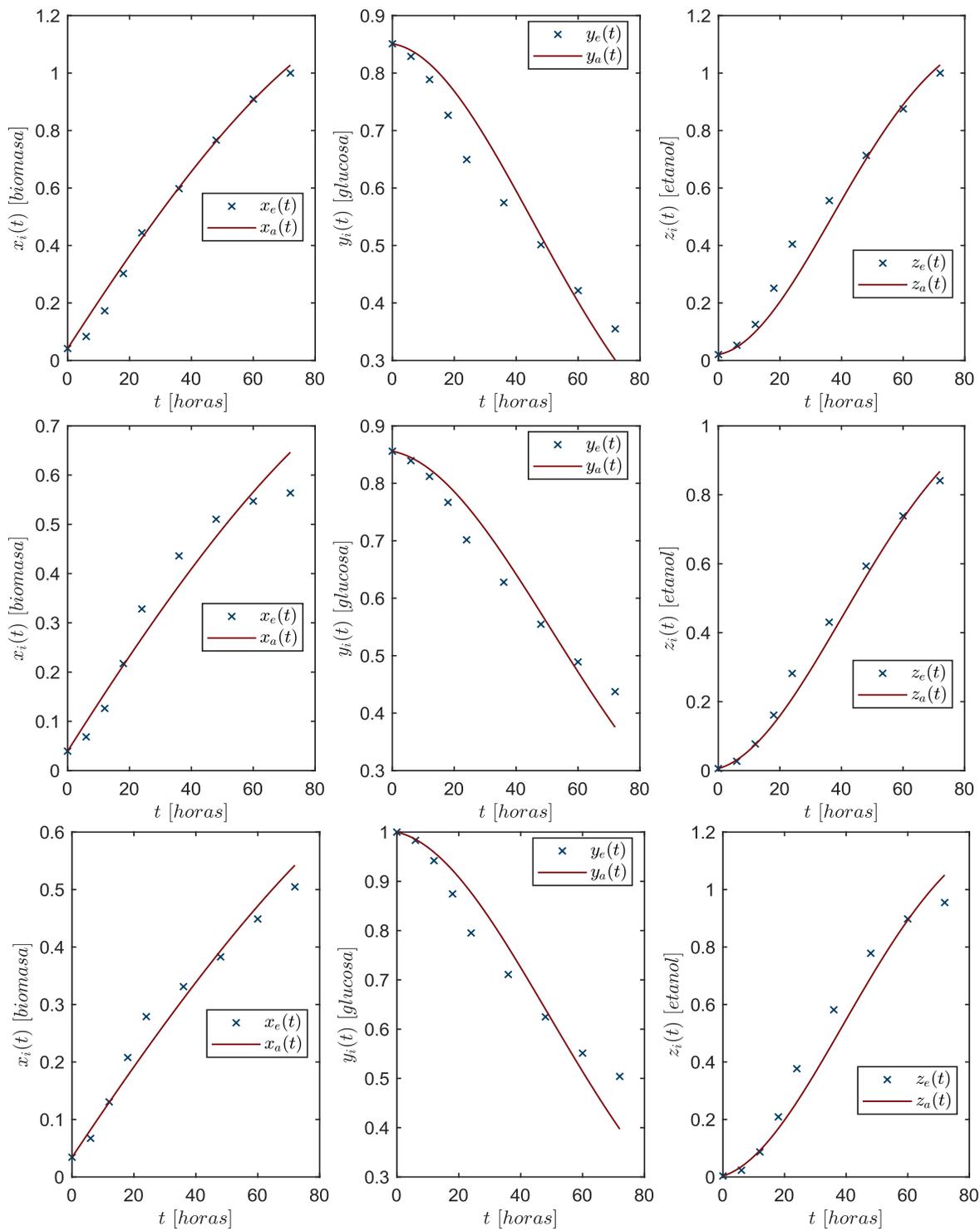


Figura 12 Datos experimentales de la **Cepa ITD0504** vs datos estimados con sustrato inicial de **60 g/L** para las agitaciones de 117 rpm fila 1, 125 rpm fila 2 y 142 rpm fila 3

4.2.1 Coeficiente de determinación R^2

En esta sección se muestra una medida cuantitativa de la capacidad de ajuste que tiene el modelo mecanicista *Pichia fermentans 2 (PF2)* (3.6) – (3.8) a través del coeficiente de determinación (R^2) para cada una de las variables biomasa [$x(t)$], glucosa [$y(t)$] y etanol [$z(t)$] para las cepas *ITD0165* (Tabla 7) y la *ITD0504* (Tabla 8) de la levadura *Pichia fermentans*. Donde se puede observar valores que oscilan entre 0.90236 a 0.99091, lo cual confirma un buen ajuste de los datos aproximados por parte del modelo mecanicista propuesto para los datos experimentales.

Tabla 7 Coeficiente de determinación R^2 para cada una de las variables del sistema para la Cepa *ITD0165*

Concentración inicial de sustrato	35 g/L			60 g/L		
	100 rpm	125 rpm	150 rpm	117 rpm	125 rpm	142 rpm
Velocidad de agitación	100 rpm	125 rpm	150 rpm	117 rpm	125 rpm	142 rpm
Biomasa [$x(t)$]	0.92548	0.98341	0.95201	0.95477	0.96846	0.99091
Sustrato [$y(t)$]	0.96244	0.96039	0.97538	0.92615	0.90236	0.92493
Etanol [$z(t)$]	0.97836	0.98386	0.98549	0.98481	0.96016	0.96933

Tabla 8 Coeficiente de determinación R^2 para cada una de las variables del sistema para la Cepa *ITD0504*

Concentración inicial de sustrato	35 g/L			60 g/L		
	100 rpm	125 rpm	150 rpm	117 rpm	125 rpm	142 rpm
Velocidad de agitación	100 rpm	125 rpm	150 rpm	117 rpm	125 rpm	142 rpm
Biomasa [$x(t)$]	0.93322	0.98562	0.95644	0.95032	0.99064	0.96888
Sustrato [$y(t)$]	0.96344	0.96705	0.97844	0.94242	0.92823	0.91023
Etanol [$z(t)$]	0.97916	0.98504	0.98729	0.98747	0.96986	0.96243

4.2.2 Caracterización del sistema **PF2**

Para la caracterización del modelo **PF2** (3.6) – (3.8) se realizaron los cálculos:

4.2.2.1 Positividad del sistema

Se realiza la evaluación de las variables de cada ecuación del modelo respecto de $x = 0$, $y = 0$ y $z = 0$, obteniendo los siguientes resultados:

$$\begin{aligned}\dot{x} &= \frac{\rho_8 y}{\rho_9 + y} - \rho_{10}(0) = \frac{\rho_8 y}{\rho_9 + y} \\ \dot{y} &= -\rho_{11}x(0) - \rho_{12}(0) = \mathbf{0} \\ \dot{z} &= \rho_{13}xy - \rho_{14}(0) = \rho_{13}xy,\end{aligned}$$

con los cuales se define que, para las condiciones iniciales no negativas, las soluciones $[x(t), y(t), z(t)]$ serán positivamente invariantes $[t \geq 0]$ en el octante $R_{+,0}^3$.

4.2.2.2 Dominio de localización

Se implementó el método de Localización de Conjuntos Compactos Invariantes (*LCCI*) para analizar el comportamiento global del sistema y calcular los límites de un dominio acotado, para el mismo octante $R_{+,0}^3$.

En primer lugar, para encontrar el límite superior de la concentración de glucosa $[y(t)]$, la ecuación (3.7) se integra de la siguiente manera:

$$\begin{aligned}\frac{dy}{dt} &= -\rho_{11}xy - \rho_{12}y \\ \frac{dy}{dt} &= -y(\rho_{12} + x\rho_{11}) \\ \int \frac{dy}{dt} &= - \int_0^t (\rho_{12} + x\rho_{11}) dt \\ \ln y + C &= - \int_0^t (\rho_{12} + x\rho_{11}) dt \\ y(t) &= y(0) \exp \left[- \int_0^t (f(x) dt) \right]\end{aligned}$$

Todas las soluciones con valores iniciales no negativos estarán acotadas de la siguiente manera:

$$K_y = \{0 \geq y(t) \leq y_{sup} = y(0)\}.$$

Para encontrar el valor supremo de la biomasa $[x(t)]$ se utiliza el método de localización de conjuntos compactos invariantes, en el cual se propone la función localizadora de la siguiente forma: $h_1 = x + \alpha y$; $\alpha > 0$ para después calcular su derivada de Lie:

$$L_f h_1 = \dot{x} + \alpha \dot{y},$$

sustituimos los valores de las derivadas

$$L_f h_1 = \frac{\rho_8 y}{\rho_9 + y} - \rho_{10} x + \alpha (-\rho_{11} x y - \rho_{12} y),$$

simplificamos desarrollando el paréntesis

$$L_f h_1 = \frac{\rho_8 y}{\rho_9 + y} - \rho_{10} x - \alpha \rho_{11} x y - \alpha \rho_{12} y,$$

ordenamos algebraicamente

$$L_f h_1 = -\rho_{10} x - \alpha \rho_{11} x y + \frac{\rho_8 y}{\rho_9 + y} - \alpha \rho_{12} y,$$

factorizamos los términos de y

$$L_f h_1 = -\rho_{10} x - \alpha \rho_{11} x y + y \frac{\rho_8 - y \alpha \rho_{12} - \alpha \rho_9 \rho_{12}}{\rho_9 + y}$$

$$L_f h_1 = -\rho_{10} x - \alpha \rho_{11} x y - y \frac{y \alpha \rho_{12} + \alpha \rho_9 \rho_{12} - \rho_8}{\rho_9 + y},$$

el conjunto $S(h_1) = \{L_f h_1 = 0\}$ es:

$$S(h_1) = \left\{ -\rho_{10} x - \alpha \rho_{11} x y - y \frac{y \alpha \rho_{12} + \alpha \rho_9 \rho_{12} - \rho_8}{\rho_9 + y} = 0 \right\},$$

despejamos la x del primer termino

$$S(h_1) = \left\{ x = -\alpha \frac{\rho_{11}}{\rho_{10}} xy - \frac{y}{\rho_{10}} \frac{y\alpha\rho_{12} + \alpha\rho_9\rho_{12} - \rho_8}{\rho_9 + y} \right\}.$$

De la función localizadora propuesta anteriormente se despeja la variable x , quedando de la siguiente manera: $x = h_1 - \alpha y$, por lo tanto, el conjunto $S(h_1)$ se puede reescribir:

$$S(h_1) = \left\{ h_1 - \alpha y = -\alpha \frac{\rho_{11}}{\rho_{10}} xy - \frac{y}{\rho_{10}} \frac{y\alpha\rho_{12} + \alpha\rho_9\rho_{12} - \rho_8}{\rho_9 + y} \right\},$$

despejamos el termino h_1

$$S(h_1) = \left\{ h_1 = \alpha y - \alpha \frac{\rho_{11}}{\rho_{10}} xy - \frac{y}{\rho_{10}} \frac{y\alpha\rho_{12} + \alpha\rho_9\rho_{12} - \rho_8}{\rho_9 + y} \right\},$$

indicamos el segundo y tercer termino como una función

$$S(h_1) = \{h_1 = \alpha y - f(x, y)\},$$

$$\therefore f(x, y) = \alpha \frac{\rho_{11}}{\rho_{10}} xy - \frac{y}{\rho_{10}} \frac{y\alpha\rho_{12} + \alpha\rho_9\rho_{12} - \rho_8}{\rho_9 + y}.$$

Se define la siguiente condición (3.17) para que el valor de $f(x, y) > 0$

$$\alpha\rho_9\rho_{12} - \rho_8 > 0$$

$$\alpha > \frac{\rho_8}{\rho_9\rho_{12}} \tag{3.17}$$

Para después aplicar el teorema iterativo para encontrar la cota suprema para la función localizadora

$$S(h_1) \cap K_y \subset \{h_1 \leq \alpha y_{sup}\},$$

entonces

$$K(h_1) = \{x(t) + \alpha y(t) \leq x_{sup} = \alpha y_{sup}\},$$

de lo anterior, el límite supremo para la biomasa $[x(t)]$ se puede escribir en términos de los parámetros y la concentración del sustrato inicial $[y(t)]$:

$$K_x = \{0 \leq x(t) \leq x_{sup} = \alpha y_{sup}\}.$$

Para encontrar el valor supremo del etanol $[z(t)]$ se realiza el mismo método de localización de conjuntos compactos invariantes, proponiendo la siguiente función localizadora $h_1 = z + \delta y$; $\delta > 0$ para luego calcular su derivada de Lie

$$L_f h_1 = \dot{z} + \delta \dot{y},$$

Como primer paso, se sustituye el valor de cada derivada

$$L_f h_1 = \rho_{13}xy - \rho_{14}z + \delta(-\rho_{11}xy - \rho_{12}y),$$

eliminamos el signo de agrupación

$$L_f h_1 = \rho_{13}xy - \rho_{14}z - \delta\rho_{11}xy - \delta\rho_{12}y,$$

ordenamos algebraicamente

$$L_f h_1 = \rho_{13}xy - \delta\rho_{11}xy - \rho_{14}z - \delta\rho_{12}y,$$

factorizamos el termino xy

$$L_f h_1 = (\rho_{13} - \delta\rho_{11})xy - \rho_{14}z - \delta\rho_{12}y,$$

reordenamos la ecuación

$$L_f h_1 = -\rho_{14}z - xy(\delta\rho_{11} - \rho_{13}) - \delta\rho_{12}y,$$

el conjunto $S(h_1) = \{L_f h_1 = 0\}$ es:

$$S(h_1)\{-\rho_{14}z - xy(\delta\rho_{11} - \rho_{13}) - \delta\rho_{12}y = 0\},$$

despejamos el termino z

$$S(h_1)\{-xy(\delta\rho_{11} - \rho_{13}) - \delta\rho_{12}y = \rho_{14}z\},$$

$$S(h_1)\left\{z = -\frac{xy(\delta\rho_{11} - \rho_{13})}{\rho_{14}} - \frac{\delta\rho_{12}y}{\rho_{14}}\right\}.$$

De la función localizadora propuesta anteriormente se despeja la variable x , quedando de la siguiente manera: $z = h_1 - \delta y$, por lo tanto, el conjunto $S(h_1)$ se puede reescribir:

$$S(h_1)\left\{h_1 - \delta y = -\frac{xy(\delta\rho_{11} - \rho_{13})}{\rho_{14}} - \frac{\delta\rho_{12}y}{\rho_{14}}\right\},$$

despejamos el termino h_1

$$S(h_1)\left\{h_1 = \delta y - \frac{xy(\delta\rho_{11} - \rho_{13})}{\rho_{14}} - \frac{\delta\rho_{12}y}{\rho_{14}}\right\},$$

indicamos el segundo y tercer termino como una función

$$S(h_1)\{h_1 = \delta y - f(x, y)\},$$

$$\therefore f(x, y) = \frac{xy(\delta\rho_{11} - \rho_{13})}{\rho_{14}} - \frac{\delta\rho_{12}y}{\rho_{14}},$$

se define la siguiente condición (3.18) para que el valor de $f(x, y) > 0$

$$\delta\rho_{11} - \rho_{13} > 0,$$

$$\delta > \frac{\rho_{13}}{\rho_{11}}. \tag{3.18}$$

Después aplicamos el teorema iterativo para encontrar la cota suprema para la función localizadora

$$S(h_1) \cap K_z \subset \{h_1 \leq \alpha z_{sup}\},$$

entonces

$$K(h_1) = \{z(t) + \delta z(t) \leq z_{sup} = \delta z_{sup}\}.$$

Por lo que el límite supremo para el etanol $[z(t)]$ se puede escribir en términos de los parámetros y la concentración de la glucosa inicial $[y(t)]$, como:

$$K_z = \{0 \leq z(t) \leq z_{sup} = \delta y_{sup}\}.$$

4.2.2.3 Puntos de equilibrio

Se utilizaron métodos computacionales con los que se pudieron obtener 2 puntos de equilibrio; (3.19) y (3.20) descritos a continuación:

$$x_0^* = 0, y_0^* = 0, z_0^* = 0 \quad (3.19)$$

$$x_1^* = -\frac{\rho_{12}}{\rho_{11}}, y_1^* = -\frac{\rho_9 \rho_{10} \rho_{12}}{\rho_8 \rho_{11} + \rho_{10} \rho_{12}}, z_1^* = \frac{\rho_9 \rho_{10} \rho_{12}^9 \rho_{13}}{\rho_8 \rho_{14} \rho_{11}^9 + \rho_{10} \rho_{11} \rho_{12} \rho_{14}} \quad (3.20)$$

De acuerdo con la propia dinámica biológica de las variables, el sistema tiene un único punto de equilibrio biológicamente factible, que es el primero de ellos, debido a que, en el segundo punto de equilibrio calculado, al tener signos negativos como lo es en las variables x_1^* y y_1^* representaría el hecho de poder tener menos g/L de biomasa o menos g/L de sustrato inicial siendo algo prácticamente imposible de que suceda en la vida real, por lo que se omite este resultado.

4.2.2.4 Estabilidad asintótica

Para calcular la estabilidad asintótica se implementa la función candidata de *Lyapunov* descrita como $V = x + y + z$ para luego obtener la derivada de cada uno de los términos que intervienen, quedando como $\dot{V} = \dot{x} + \dot{y} + \dot{z}$, donde se realiza la sustitución de cada derivada de las variables generando la ecuación (3.21):

$$\dot{V} = \frac{\rho_8 y}{\rho_9 + y} - \rho_{10} x - \rho_{11} x y - \rho_{12} y + \rho_{13} x y - \rho_{14} z, \quad (3.21)$$

realizamos una agrupación de términos semejantes

$$\dot{V} = \left(\frac{\rho_8}{\rho_9 + y} - \rho_{12} \right) y - (\rho_{11} - \rho_{13}) x y - \rho_{10} x - \rho_{14} z,$$

factorizamos el termino de las y

$$\dot{V} = -\left(\frac{y\rho_{12} - \rho_8 + \rho_9\rho_{12}}{\rho_9 + y}\right)y - (\rho_{11} - \rho_{13})xy - \rho_{10}x - \rho_{14}z,$$

para garantizar que nuestra pendiente de la línea recta sea positiva, debemos agregar una constante (β) en ambos términos ρ_{11} y ρ_{12} que dependen de y en la ecuación (3.7):

$$\dot{V} = \dot{x} + \beta\dot{y} + \dot{z},$$

Se calcula la derivada de la función candidata de *Lyapunov*:

$$\dot{V} = \frac{\rho_8 y}{\rho_9 + y} - \rho_{10}x - \beta\rho_{11}xy - \beta\rho_{12}y + \rho_{13}xy - \rho_{14}z,$$

se realiza la agrupación y factorización de términos

$$\dot{V} = -\left(\frac{\beta\rho_{12}y + \beta\rho_9\rho_{12} - \rho_8}{y + \rho_9}\right)y - (\beta\rho_{11} - \rho_{13})xy - \rho_{10}x - \rho_{14}z,$$

con este resultado, obtenemos las dos condiciones para que nuestra constante haga que la función siempre sea positiva

$$\beta\rho_9\rho_{12} - \rho_8 > 0$$

$$\beta\rho_{11} - \rho_{13} > 0$$

$$\beta > \frac{\rho_8}{\rho_9\rho_{12}}$$

$$\beta > \frac{\rho_{13}}{\rho_{11}}$$

$$\beta > \max\left\{\frac{\rho_8}{\rho_9\rho_{12}}, \frac{\rho_{13}}{\rho_{11}}\right\} \quad (3.22)$$

Si se cumplen las condiciones descritas en la ecuación (3.22), el modelo **PF2** (3.6) – (3.8) es asintóticamente estable y todas las trayectorias se dirigirán hacia el punto de equilibrio (3.19).

5 Conclusiones

El modelo mecanicista **PF** establece una conexión biológica que abarca las relaciones entre las variables de biomasa [$x(t)$], glucosa [$y(t)$], etanol [$z(t)$] y el impacto ocasionado por la velocidad de agitación (r) en el procedimiento de fermentación alcohólica por lotes. En la obtención de datos experimentales, se recurrió a la cepa *ITD0165* de la levadura *Pichia fermentans* con una concentración de 35 g/l de sustrato, variando las velocidades de agitación entre 100, 125 y 150 rpm. A partir de estos datos, se diseñó un modelo de ecuaciones diferenciales ordinarias de primer orden. Esta estructura facilita la estimación de datos aproximados a medida que avanza el tiempo en la fermentación alcohólica. El modelo permitió realizar predicciones detalladas sobre la dinámica del proceso para cada una de las variables, cuya validez fue confirmada al obtener un coeficiente de determinación superior al 0.9 en todas ellas.

El impacto de la velocidad de agitación al utilizar la levadura *Pichia fermentans* desempeña un papel esencial en este proceso de fermentación alcohólica, ya que impulsa de manera significativa la distribución eficiente de los nutrientes. La Tabla 3 revela que el parámetro de la tasa máxima de crecimiento de la biomasa ρ_1 registró su punto más alto a una velocidad intermedia de 125 rpm. Por consiguiente, el incremento en la concentración de biomasa conduce a una producción acelerada de etanol, indicada por el aumento en el parámetro ρ_5 . El parámetro ρ_2 alcanza su valor máximo a 125 rpm, indicando la tasa de inhibición del crecimiento de la biomasa debido a la acumulación de etanol en el proceso de fermentación. En el caso de la agitación a 100 rpm, se evidencia que la tasa de producción de etanol (ρ_5) es la menor, al igual que el inverso de la máxima producción de etanol (ρ_7).

El nuevo modelo mecanicista ***Pichia fermentans 2 (PF2)*** (3.6) – (3.8) establece una conexión biológica que abarca las relaciones entre las variables de biomasa [$x(t)$], glucosa [$y(t)$] y etanol [$z(t)$] en el procedimiento de fermentación alcohólica por lotes para las cepas *ITD0165* y la *ITD0504* de la levadura *Pichia fermentans*.

Ambas cepas fueron tratadas de manera independiente a una concentración inicial de sustrato de 35 g/L, variando las velocidades de agitación entre 100, 125 y 150 rpm, y para una concentración inicial de sustrato de 60 g/L a velocidades de agitación de

117, 125 y 142 *rpm*, con estos datos, se diseñó un nuevo sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias de primer orden, el cual permitió realizar predicciones detalladas sobre la dinámica del proceso para cada una de las variables. La validez de los resultados generados se confirmó al obtener un coeficiente de determinación mayor a 0.9 (*ver* Tabla 7 y Tabla 8) en cada uno de los casos evaluados, por lo que se concluye que el modelo describe con precisión y fiabilidad cada una de las aproximaciones generadas para la nueva base de datos.

El modelo **PF2** se apega al sentido biológico de las variables, confirmado en el apartado de positividad, siendo capaz de describir las 4 fases de crecimiento microbiano (latencia, crecimiento exponencial, estado estacionario y muerte), para las condiciones iniciales no negativas, las soluciones del sistema $[x(t), y(t), z(t)]$ serán positivamente invariantes $[t \geq 0]$ en el octante $R_{+,0}^3$, ya que biológicamente estas variables no pueden tomar valores negativos ni tampoco pueden desarrollar su crecimiento de manera infinita, por lo que deben tener límites en sus dinámicas, los cuales fueron calculados al emplear el método de localización de conjuntos invariantes compactos.

6 Bibliografía

- [1] Salas Jesús and Hernández Laura, “Mezcal cupreata, fuente de admiración,” *revistaciencia*, vol. 66, no. 3, May 2015.
- [2] Consejo Regulador del Mezcal, “México producción de mezcal 2014-2021,” 2022.
- [3] N. Şanlıer, B. B. Gökçen, and A. C. Sezgin, “Health benefits of fermented foods,” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 59, no. 3. Taylor and Francis Inc., pp. 506–527, Feb. 04, 2019. doi: 10.1080/10408398.2017.1383355.
- [4] K. G. Troitzsch, M. Mohring, and U. Lotzmann, *Proceedings : 26th European Conference on Modelling and Simulation*.
- [5] A. Parkash, “Modeling of Ethanol Production from Molasses: A Review,” *Industrial Chemistry*, vol. 01, no. 02, 2015, doi: 10.4172/2469-9764.1000108.
- [6] C. Liao, S. O. Seo, and T. Lu, “System-level modeling of acetone-butanol-ethanol fermentation,” *FEMS Microbiology Letters*, vol. 363, no. 9. Oxford University Press, Apr. 03, 2016. doi: 10.1093/femsle/fnw074.
- [7] D. Mazaheri and S. A. Shojaosadati, “Mathematical Models for Microbial Kinetics in Solid-State Fermentation: A Review,” 2013.
- [8] F. W. Bai, W. A. Anderson, and M. Moo-Young, “Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks,” *Biotechnol Adv*, vol. 26, no. 1, pp. 89–105, 2008, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.09.002>.
- [9] R. Yu and J. Nielsen, “Big data in yeast systems biology,” *FEMS Yeast Research*, vol. 19, no. 7. Oxford University Press, Nov. 01, 2019. doi: 10.1093/femsyr/foz070.
- [10] I. Soifer, L. Robert, and A. Amir, “Single-cell analysis of growth in budding yeast and bacteria reveals a common size regulation strategy,” *Current Biology*, vol. 26, no. 3, pp. 356–361, Feb. 2016, doi: 10.1016/j.cub.2015.11.067.

- [11] G. H. Fleet, "Wine yeasts for the future," in *FEMS Yeast Research*, Nov. 2008, pp. 979–995. doi: 10.1111/j.1567-1364.2008.00427.x.
- [12] A. D. Rodman and D. I. Gerogiorgis, "Multi-objective process optimisation of beer fermentation via dynamic simulation," *Food and Bioprocesses Processing*, vol. 100, pp. 255–274, Oct. 2016, doi: 10.1016/j.fbp.2016.04.002.
- [13] S. Gabardo, G. F. Pereira, R. Rech, and M. A. Z. Ayub, "The modeling of ethanol production by *Kluyveromyces marxianus* using whey as substrate in continuous A-Stat bioreactors," *J Ind Microbiol Biotechnol*, vol. 42, no. 9, pp. 1243–1253, Sep. 2015, doi: 10.1007/s10295-015-1661-2.
- [14] D. S. Torres-Velázquez *et al.*, "Bacterial population monitoring during alcoholic fermentation of mezcal in Durango by DGGE," *International Journal of Agriculture and Natural Resources*, vol. 49, no. 2, pp. 112–122, May 2022, doi: 10.7764/ijanr.v49i2.2367.
- [15] G. Soboci and P. Glavici, "Optimization of ethanol fermentation process design." [Online]. Available: www.elsevier.com/locate/apthermeng
- [16] J. Baranyi, T. A. Roberts, and P. McClure, "A non-autonomous differential equation to model bacterial growth," *Food Microbiol*, vol. 10, no. 1, pp. 43–59, 1993, doi: <https://doi.org/10.1006/fmic.1993.1005>.
- [17] J. Baranyi and T. A. Roberts, "A dynamic approach to predicting bacterial growth in food," *Int J Food Microbiol*, vol. 23, no. 3–4, pp. 277–294, 1994, doi: [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90157-0](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90157-0).
- [18] R. L. Buchanan, R. C. Whiting, and W. C. Damert, "When is simple good enough: a comparison of the Gompertz, Baranyi, and three-phase linear models for fitting bacterial growth curves," *Food Microbiol*, vol. 14, pp. 313–326, 1997, doi: <https://doi.org/10.1006/fmic.1997.0125>.

- [19] M. H. Zwietering, I. Jongenburger, F. M. Rombouts, Van ' K., and T. Riet, "Modeling of the Bacterial Growth Curve," *Appl Environ Microbiol*, pp. 1875–1881, 1990, doi: <https://doi.org/10.1128/aem.56.6.1875-1881.1990>.
- [20] J. Ricardo, B. Moreida, R. Alonso, and S. Casas, "Analysis of mathematical models for the behavior of two microorganisms in a fermentation process," *Revista MICA*, vol. 3.
- [21] Garduño-García A, L. -Cruz, and Martínez-Romero S, "Simulación del proceso de fermentación de cerveza artesanal Fermentation Process Simulation of Homebrewing Beer," *Ingeniería, investigación y tecnología*, vol. 15, no. 2, pp. 221–232, 2014.
- [22] Y. Salazar, P. A. Valle, E. Rodríguez, N. O. Soto-Cruz, J. B. Páez-Lerma, and F. J. Reyes-Sánchez, "Mechanistic Modelling of Biomass Growth, Glucose Consumption and Ethanol Production by *Kluyveromyces marxianus* in Batch Fermentation," *Entropy*, vol. 25, no. 3, p. 497, Mar. 2023, doi: 10.3390/e25030497.
- [23] A. Herrera, "S R N M A en Twitter: 'Se firmó el Convenio de Plantaciones de Agave 2022, de manera conjunta con el titular de la @SRNYMA @herreraduenweg y con el presidente del Clúster del Mezcal de Durango representada por @MakySolisN y su Directora Olivia Fernández. <https://t.co/ciB8Qn5FOo> / Twitter," S R N M A en Twitter. Accessed: Nov. 10, 2022. [Online]. Available: <https://twitter.com/SRNYMA/status/1539733568531927040?s=20&t=su5aEQC2PBmLqSd5S6ARrA>
- [24] A. C. Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal, "INFORME ESTADÍSTICO 2022," 2022.
- [25] L. A. Ordaz, M. Madrid, F. Rodríguez, and A. Bailón, "Revista Ciencia Administrativa," Durango, pp. 12–21, 2019.
- [26] P. Romano, G. Braschi, G. Siesto, F. Patrignani, and R. Lanciotti, "Role of Yeasts on the Sensory Component of Wines," *Foods*, vol. 11, no. 13. MDPI, Jul. 01, 2022. doi: 10.3390/foods11131921.

- [27] A. Méndez-Zamora *et al.*, “The non-Saccharomyces yeast *Pichia kluyveri* for the production of aromatic volatile compounds in alcoholic fermentation,” *FEMS Yeast Res*, vol. 20, no. 8, Dec. 2020, doi: 10.1093/femsyr/foaa067.
- [28] S. E. Katz, *The art of fermentation: an in-depth exploration of essential concepts and processes from around the world*. Chelsea green publishing, 2012.
- [29] Y. Himeoka and K. Kaneko, “Theory for transitions between exponential and stationary phases: Universal laws for lag time,” *Physical Review X*, vol. 7, no. 2. American Physical Society, Jun. 27, 2017. doi: 10.1103/PhysRevX.7.021049.
- [30] R. M. Maier and I. L. Pepper, “Bacterial Growth,” in *Environmental Microbiology: Third Edition*, Elsevier Inc., 2015, pp. 37–56. doi: 10.1016/B978-0-12-394626-3.00003-X.
- [31] N. and C. M. and M. J. Aros, “Fermentación por lotes: modelado: seguimiento y control,” *Ingeniare. Revista chilena de ingeniería*, vol. 19, no. 2, pp. 210–218, 2011, doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-33052011000200006>.
- [32] Colección de estudios sectoriales y regionales, “Conociendo la industria del Tequila y Mezcal,” Jun. 2019. Accessed: Nov. 09, 2022. [Online]. Available: www.inegi.org.mx
- [33] “Manual para la estandarización de los procesos de producción del mezcal guerrerense,” *Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C.*, 2015.
- [34] Financiera Rural, “Monografía del Mezcal Aspectos Generales,” 2011.
- [35] L. Perko, *Differential equations and dynamical systems*, 3rd ed., vol. 7. New York, New York, USA: Springer Science & Business Media, 2013.
- [36] H. K. Khalil, *Control of nonlinear systems*. Prentice Hall, New York, NY, 2002.
- [37] M. W. and S. S. and D. R. L. Hirsch, *Differential equations, dynamical systems, and an introduction to chaos*, vol. 60. Academic press, 2004.
- [38] D. G. Zill, *Advanced engineering mathematics*. Jones & Bartlett Learning, 2020.

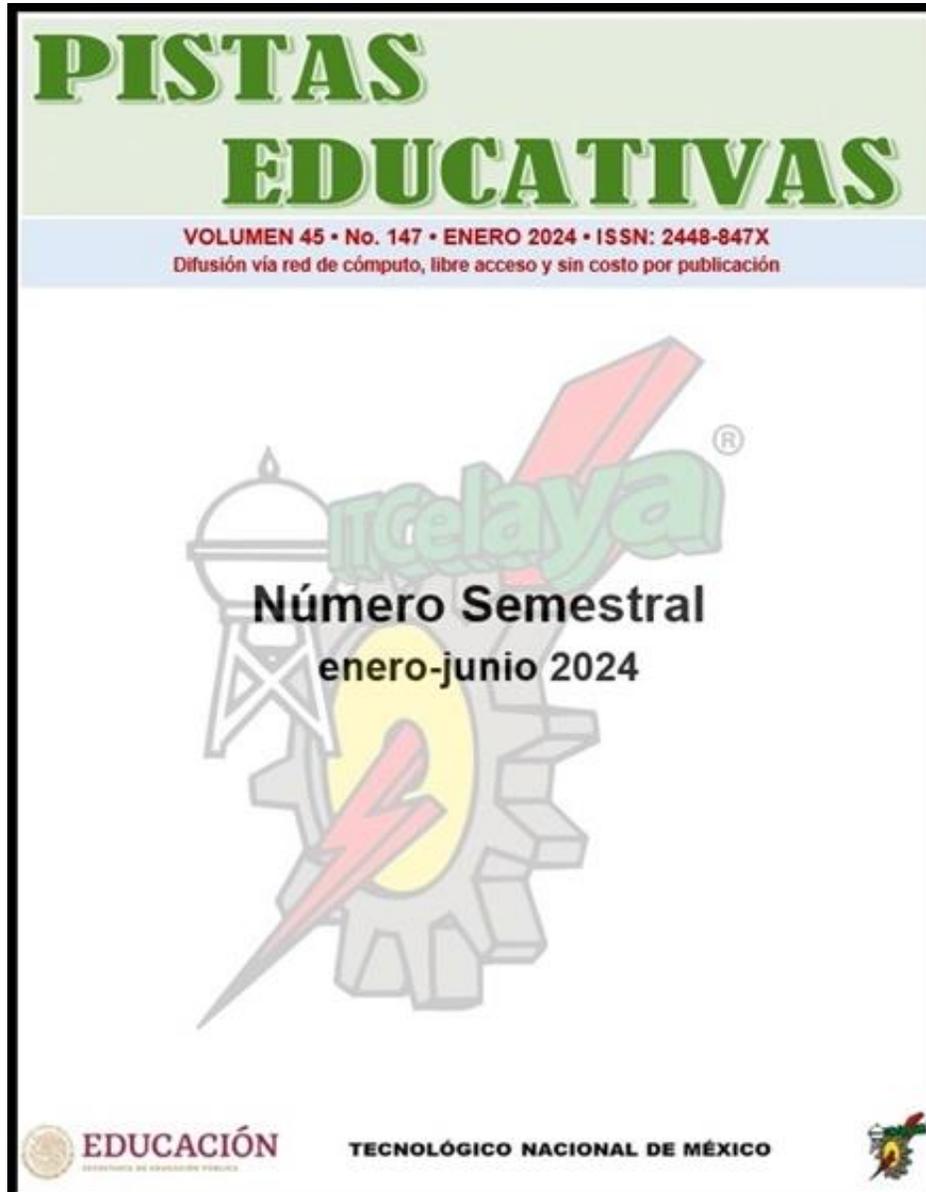
- [39] P. and A. D. De Leenheer, "Stability properties of equilibria of classes of cooperative systems," *IEEE Trans Automat Contr*, vol. 46, no. 12, pp. 1996--2001, 2001.
- [40] L. and R. S. Farina, *Positive Linear Systems: Theory and Applications*, vol. 50. Hoboken, New Jersey, USA: John Wiley & Sons, 2011.
- [41] A. Krishchenko, "Localization of Invariant Compact Sets of Dynamical Systems.," *Differential Equations*, vol. 41, pp. 1669--1676, 2005.
- [42] A. P. and S. K. E. Krishchenko, "Localization of compact invariant sets of the Lorenz system," *Phys Lett A*, vol. 353, no. 5, pp. 383--388, 2006.
- [43] A. and S. J. and G. Y. Garfinkel, *Modeling life: the mathematics of biological systems*. Springer, 2017.
- [44] J. J. and M. M. and A. E. Rico, "Dynamic harmonic evolution using the extended harmonic domain," *IEEE*, vol. 18, pp. 587--594, 2003.
- [45] A. M. Lyapunov, "The general problem of the stability of motion," *Int J Control*, vol. 55, no. N. 3, pp. 531--534, 1992.
- [46] H. H. H. and S. H. L. W. Hahn, *Theory and application of Liapunov's direct method*. Mineola, New York, USA: Dover Publications, Inc., 2019.
- [47] M. Mandigan, J. Martinko, K. Bender, D. Buckley, and D. Stahl, *Biology of microorganisms*, 14th ed. Boston, 2015.
- [48] N. F. and B. N. Britton, *Essential mathematical biology*, vol. 453. Springer, 2003.
- [49] N. Boccarda, "Modeling complex systems Springer Science & Business Media; 2010," *Citado na*, p. 18, 2010.
- [50] H. Motulsky, *Intuitive biostatistics: A nonmathematical guide to statistical thinking*. Oxford, New York, USA: Oxford University Press, 2014.
- [51] A. Koutsoyiannis, "Theory of econometrics: an introductory exposition of econometric methods," *No Title*, 1977.

- [52] D. C. Montgomery and G. C. Runger, *Applied statistics and probability for engineers*. Wiley, 2003.
- [53] H. and C. A. Motulsky, *Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression: a practical guide to curve fitting*, 4th ed. Oxford, New York, USA: Oxford University Press, 2004.
- [54] MathWorks. (n.d), "Sistemas Dinámicos." Accessed: Jun. 21, 2023. [Online]. Available: <https://www.mathworks.com/discovery/dynamic-systems.html>
- [55] A. Paredes-Ortíz *et al.*, "Isoamyl acetate production during continuous culture of *Pichia fermentans*," *Revista Mexicana de Ingeniera Quimica*, vol. 21, no. 1, Jan. 2022, doi: 10.24275/rmiq/Bio2654.
- [56] C. P. Pássaro Carvalho *et al.*, "Guía sobre principios básicos de cromatografía y sus aplicaciones," 2016.
- [57] A. Mas *et al.*, "Bioactive compounds derived from the yeast metabolism of aromatic amino acids during alcoholic fermentation," *BioMed Research International*, vol. 2014. Hindawi Publishing Corporation, 2014. doi: 10.1155/2014/898045.
- [58] P. De Leenheer and D. Aeyels, "Theory of the control of structures by low-authority con-trollers," 2001.
- [59] Eureqa, "Ecuaciones Diferenciales." Accessed: Jun. 21, 2023. [Online]. Available: <https://www.nutonian.com/>
- [60] T. C. Chou, "The mass-action law based algorithms for quantitative econo-green bio-research," *Integrative Biology*, vol. 3, no. 5. pp. 548–559, May 2011. doi: 10.1039/c0ib00130a.
- [61] R. Wolfenden and Y. Yuan, "Rates of spontaneous cleavage of glucose, fructose, sucrose, and trehalose in water, and the catalytic proficiencies of invertase and trehalas," *J Am Chem Soc*, vol. 130, no. 24, pp. 7548–7549, Jun. 2008, doi: 10.1021/ja802206s.

- [62] P. Wang, X. Zheng, J. Li, and B. Zhu, "Prediction of epidemic trends in COVID-19 with logistic model and machine learning technics," *Chaos Solitons Fractals*, vol. 139, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.chaos.2020.110058.
- [63] R. L. Burden, J. D. Faires, and A. M. Burden, *Numerical analysis*. Cengage learning, 2015.
- [64] R. P. Palma, "Análisis crítico del coeficiente de determinación (R²), como indicador de la calidad de modelos lineales y no lineales," *Matemática*, vol. 20, no. 2, 2022.

7 Apéndice A

Publicaciones y participaciones en congresos



API MANAGEMENT QUALITY AND ISO/IEC SQUARE: A PRACTITIONERS' PERSPECTIVE (CALIDAD EN ADMINISTRACIÓN DE APIS Y EL ESTÁNDAR ISO/IEC SQUARE: UNA PERSPECTIVA DE LA INDUSTRIA) Eder Dos Santos, Sandra Casas	PDF
OPTIMIZACIÓN DE SISTEMAS TRANSACCIONALES EN LOGÍSTICA CON ENFOQUE EN HEJUNKA PARA BALANCEO DE PRODUCCIÓN (OPTIMIZATION OF TRANSACTIONAL SYSTEMS IN LOGISTICS WITH A FOCUS ON HEJUNKA FOR PRODUCTION BALANCE) Barush Rolando Esqueda Hernández, Vicente Figueroa Fernández, Salvador Hernández González, José Alfredo Jiménez García	PDF
ANÁLISIS Y SIMULACIÓN DE UN SISTEMA FOTOVOLTAICO INTERCONECTADO A UNA RED DISTRIBUIDA EN BAJA TENSIÓN (ANALISIS AND SIMULATION OF A PHOTOVOLTAIC SYSTEM FOR A LOW VOLTAGE DISTRIBUTED NETWORK) Sergio David Franco de Santiago, José Luis Díaz Bernabé	PDF
ANÁLISIS DEL EFECTO DE AGITACIÓN EN UNA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA POR PICHIA FERMENTANS MEDIANTE MODELIZADO MECANICISTA (STIR EFFECT ANALYSIS IN AN ALCOHOLIC FERMENTATION BY PICHIA FERMENTANS THROUGH MECHANISTIC MODELLING) Iván Alonso García Alcantar, Yolocuahtli Salazar Muñoz, Paul Antonio Valle Trujillo, Nicolás Oscar Soto Cruz, Jesús Bernardo Páez Lerma	PDF
POSICIÓN DE ARTICULACIONES DURANTE LA MARCHA UTILIZANDO KINECT V2 Y LABVIEW (JOINT'S POSITIONS DURING THE GAIT ANALYSIS WITH KINECT V2 AND LABVIEW) Jesús Alfonso García Canteros, Esther Lugo González, José Anibal Arias Aguilar	PDF
HERRAMIENTAS GRÁFICAS PARA VISUALIZAR FACTORES DE DISPERSIÓN. (GRAPHIC TOOLS TO VISUALIZE DISPERSION FACTORS) Cleidy García Rodríguez, Manuel Darío Hernández Ripalda, Armando Javier Ríos Lira, Salvador Hernández González	PDF
CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE PERTURBACIONES DE CALIDAD DE POTENCIA ELÉCTRICA USANDO PYTHON (CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF POWER QUALITY DISTURBANCES USING PYTHON) Carlos Alberto Gómez Tapias, Andryu Alejandro Cuevas Murcia, Herbert Enrique Rojas Cubides	PDF

EL TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
A TRAVÉS DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE DURANGO
OTORGA LA PRESENTE

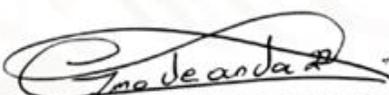
CONSTANCIA

A

IVÁN ALONSO GARCÍA ALCANTAR

Por su destacada participación en el
Simposio 2024 de la Maestría en Ingeniería
"Tecnología, Innovación y Emprendimiento en Ingeniería"
desarrollado del 27 al 28 de Mayo de 2024.

Victoria de Durango, Dgo., a 28 de Mayo de 2024



GUILLERMO DE ANDA RODRÍGUEZ
DIRECTOR DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE DURANGO



EL TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
A TRAVÉS DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE DURANGO
OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA

A

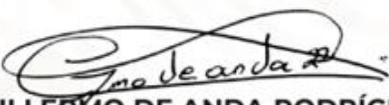
**IVÁN ALONSO GARCÍA ALCANTAR, DRA. YOLOCUAUHTLI
SALAZAR MUÑOZ, PAUL A. VALLE TRUJILLO, EMMANUEL
RODRÍGUEZ TALAVERA, AURELIO CASTILLO LIÑÁN**

por su destacada participación con la presentación del cartel:

**"DESARROLLO DE UN MODELO NO LINEAL PARA LA
LEVADURA PICHIA FERMENTANS EN UN PROCESO
DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA TIPO BATCH."**

en el Simposio 2024 de la Maestría en Ingeniería

Victoria de Durango, Dgo., a 28 de Mayo de 2024.



GUILLERMO DE ANDA RODRÍGUEZ
DIRECTOR DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE DURANGO



**LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD AZCAPOTZALCO A TRAVÉS DE LA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA**

OTORGA LA CONSTANCIA DE PARTICIPACIÓN A:

Iván Alonso García Alcantar / Yolocuauhtli Salazar Muñoz

Paul Antonio Valle Trujillo / Nicolás Oscar Soto Cruz

Jesús Bernardo Páez Lerma

Por la presentación del artículo titulado:

**"Análisis del efecto de agitación en una fermentación alcohólica por *Pichia fermentans* mediante
modelizado mecanicista"**

Durante la "XIX Semana Nacional de Ingeniería Electrónica" y "IV Semana Iberoamericana
de Ingeniería Electrónica" celebrada del 11 al 13 de Octubre del 2023 en la Ciudad de
México


Dra. Teresa Merchand Hernández
Directora de la División de CBI
Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Azcapotzalco


Dr. Miguel Magos Rivera
Presidente del Comité Organizador
SENIE 2023


Dr. Ernesto Rodrigo Vázquez Cerón
Jefe del Departamento de Electrónica
Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Azcapotzalco