



**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**



**Modelo matemático de crecimiento celular que describe la  
dinámica de microorganismos durante la fermentación**

## **TESIS**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

**Maestro en Ingeniería**

**Presenta:**

Ing. Emmanuel Rodríguez Talavera

**Director(a) de tesis:**

Dra. Yolocauhtli Salazar Muñoz

**Codirector(a)**

Dr. Paul Antonio Valle Trujillo

Durango, Dgo. México

diciembre 2021



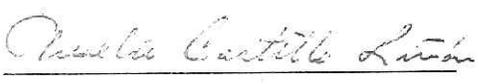


**Modelo matemático de crecimiento celular que describe la dinámica de bacterias acidolácticas en la fermentación de leche fresca**

**Presenta:**

Ing. Emmanuel Rodríguez Talavera

**COMITÉ TUTORIAL**

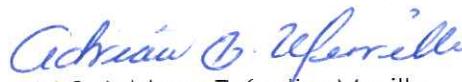
<u>Dra. Yolocuahitli Salazar Muñoz</u> Director(a)	 Firma
<u>Dr. Paul Antonio Valle Trujillo</u> Codirector(a) o asesor(a)	 Firma
<u>Dr. Aurelio Castillo Liñán</u> Asesor(a)	 Firma
<u>Dr. Fernando Blanco Castañeda</u> Asesor(a)	 Firma



M.C. José Antonio Martínez Rivera

**Coordinador(a) del programa del  
posgrado correspondiente**

Durango, Dgo. México



M.C. Adriana Eréndira Murillo

**Jefe(a) de la División de Estudios  
de Posgrado e Investigación**

diciembre 2021





Instituto Tecnológico de Durango  
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Victoria de Durango, Dgo., a **10 / Diciembre / 2021**  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN  
DEPI / C / 355 / 21  
**ASUNTO:** Autorización de Impresión de Tesis de Maestría

**C. EMMANUEL RODRÍGUEZ TALAVERA**  
**No. DE CONTROL G10040780**  
**PRESENTE**

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:

**“Modelo matemático de crecimiento celular que describe la dinámica de microorganismos durante la fermentación”**

Sin otro particular de momento, quedo de Usted.

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

**C. ADRIANA ERÉNDIRA MURILLO**  
**JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE**  
**POSGRADO E INVESTIGACIÓN**



**SEP** INSTITUTO TECNOLÓGICO  
de Durango  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE  
POSGRADO E INVESTIGACIÓN

AEM'ammc.



Fecha de Inicio: 2016-12-21  
Fecha de Última Evaluación: 2018-12-21  
Fecha de Revalidación: 2019-01-28  
Fecha de Terminación: 2021-12-21  
RSOC 957

Av. Felipe Pescador 1830 Ote. Col. Nueva Vizcaya,  
C.P. 34080, Durango, Dgo. Tel. (618) 8-29-09-00  
email: dir\_itdurango@tecnm.mx  
tecnm.mx | itdurango.edu.mx





**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Durango  
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Victoria de Durango, Dgo., a **10 / Diciembre / 2021**  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN  
DEPI / C / 354 / 21  
**ASUNTO:** Autorización de Tema de Tesis de Maestría

**C. EMMANUEL RODRÍGUEZ TALAVERA**  
**No. DE CONTROL G10040780**  
**P R E S E N T E**

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:

**“Modelo matemático de crecimiento celular que describe la dinámica de microorganismos durante la fermentación”**

**CONTENIDO:**

RESUMEN

CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

CAPÍTULO III DESARROLLO Y RESULTADOS

CAPÍTULO IV CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANEXOS

**ATENTAMENTE**

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

*C. Adriana Eréndira Murillo*

**C. ADRIANA ERÉNDIRA MURILLO**  
**JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE**  
**POSGRADO E INVESTIGACIÓN**



**SEP** INSTITUTO TECNOLÓGICO  
de Durango  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE  
POSGRADO E INVESTIGACIÓN

AEM'ammc.



Av. Felipe Pescador 1830 Ote. Col. Nueva Vizcaya,  
C.P. 34080, Durango, Dgo. Tel. (618) 8-29-09-00  
email: dir\_itdurango@tecnm.mx  
tecnm.mx | itdurango.edu.mx



# Agradecimientos

Agradezco a mi directora y co-director de tesis por brindarme las herramientas y el conocimiento necesario para desarrollar mi investigación de la mejor manera. También, al Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico de Durango y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACyT) por el soporte financiero que me han otorgado para poder llevar a cabo mis estudios de posgrado, en forma de una beca, de acuerdo al número 1002304. El soporte financiero fue recibido por el Tecnológico Nacional de México a través de los proyectos titulados:

-“Modelizado de la dinámica de crecimiento de microorganismos durante la fermentación de leche fresca”, clave 10083.21-P

-“Modelizado computacional y experimentos in silico aplicados al análisis y control de sistemas biológicos”, clave 9951.21-P.

Finalmente, agradezco a M.C. Blanca García Caballero por el asesoramiento en los temas de microbiología necesarios para el desarrollo de esta tesis a través del proyecto:

-“Jocoque un producto lácteo fermentado tradicional y sus características microbiológicas, fisicoquímicas y sensoriales” con clave 6075.17-F

# Contenido

Capítulo	Página
<b>Lista de figuras</b>	<b>VIII</b>
<b>Lista de tablas</b>	<b>IX</b>
<b>Resumen</b>	<b>X</b>
<b>Abstract</b>	<b>XI</b>
<b>Lista de símbolos</b>	<b>XII</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1. Antecedentes	2
1.1.1. Estudio del efecto de las variables que intervienen en el proceso de fermentación	3
1.1.2. Modelos estructurados y no estructurados	5
1.1.3. Aplicación de modelos cinéticos en diferentes medios de cultivo.	7
1.2. Planteamiento del problema	9
1.3. Objetivos	9
1.3.1. Objetivo general	9
1.3.2. Objetivos específicos	9
1.4. Hipótesis	10
1.5. Estructura del documento	10
<b>2. Marco teórico</b>	<b>12</b>
2.1. Microorganismos en proceso de fermentación	12
2.1.1. Clasificación de los microorganismos en proceso de fermentación	12
2.1.2. Crecimiento de microorganismos	13
2.1.3. Factores que afectan su crecimiento	15
2.1.4. Aplicación en la industria alimenticia	16
2.2. Sistemas dinámicos	17
2.2.1. Clasificación de los sistemas dinámicos	18
2.2.2. Ecuaciones de estado	18
2.2.3. Positividad en sistemas dinámicos	20
2.2.4. Método de Euler	20
2.2.5. Jacobiano y valores propios	21
2.2.6. Puntos de equilibrios	21
2.2.7. Método de localización de conjuntos compactos invariantes	23
2.2.8. Existencia y Unicidad	24
2.3. Modelado matemático de sistemas biológicos	25
2.3.1. Crecimiento exponencial	25
2.3.2. Decrecimiento exponencial	25
2.3.3. Crecimiento sigmoideal	26
2.3.4. Ley de acción de masas	28
<b>3. Desarrollo y resultados</b>	<b>30</b>
3.1. Generación de funciones matemáticas dependientes del tiempo	30
3.2. Generación del modelo para la variable biomasa	31
3.3. Análisis de modelos cinéticos para biomasa	33
3.4. Validación del modelo cúbico	35
3.5. Formulación del Sistema de EDOS	42
3.6. Positividad del sistema	44

# Contenido (Continuación)

Capítulo	Página
3.7. Dominio de localización . . . . .	45
3.8. Existencia y unicidad . . . . .	46
3.9. Puntos de equilibrio . . . . .	47
3.10. Simulaciones numéricas . . . . .	49
<b>4. Conclusiones</b>	<b>54</b>
<b>Referencias</b>	<b>56</b>
<b>A. Publicaciones y participaciones en congresos</b>	<b>61</b>

# Lista de figuras

Figura	Página
2.1. Curva de crecimiento típica de una población bacteriana [1]. . . . .	14
2.2. Comportamiento de un sistema cuando la condición inicial es un punto de equilibrio. (a) Series de tiempo y (b) Espacio de fase . . . . .	22
2.3. Comportamiento del sistema cuando los puntos de equilibrio son asintóticamente estables. (a) Series de tiempo y (b) Espacio de fase. . . . .	22
2.4. Serie de tiempo para la ecuación de crecimiento exponencial . . . . .	26
2.5. Serie de tiempo para el decrecimiento exponencial . . . . .	27
2.6. Series de tiempo para diferentes funciones de crecimiento sigmoideal . . . . .	29
3.1. Representación gráfica para calcular el parámetro $L$ . . . . .	33
3.2. Predicciones del modelo cúbico $x_B(t)$ comparado con los datos de las funciones temporales $S_i(t)$ . . . . .	38
3.3. Predicciones del modelo de Gompertz $x_G(t)$ comparado con los datos de las funciones temporales $S_i(t)$ . . . . .	39
3.4. Predicciones del modelo de Baranyi $x_B(t)$ comparado con los datos de las funciones temporales $S_i(t)$ . . . . .	40
3.5. Predicciones del modelo de Vázquez-Murado $x_V(t)$ comparado con los datos de las funciones temporales $S_i(t)$ . . . . .	41
3.6. Simulaciones numéricas del sistema (3.20) - (3.22) comparados con los datos de las funciones temporales de la cepa 3 durante el proceso de fermentación. . . . .	51
3.7. Simulaciones numéricas del sistema (3.20) - (3.22) en el intervalo de tiempo . . . . .	52
3.8. Trayectorias del sistema en el plano de fase. . . . .	53

# Lista de tablas

Tabla	Página
3.1. Funciones obtenidas para el crecimiento de microorganismos donde $x_i$ indica el número de cepa . . . . .	30
3.2. Ecuaciones obtenidas para la característica química del sustrato . . . . .	31
3.3. Ecuaciones obtenidas para el producto . . . . .	31
3.4. Determinación de los valores de parametros para el modelo (3.14) para las 3 cepas de microorganismos. . . . .	34
3.5. Resultados de $R^2$ y $RSS$ de los modelos para cada cepa. . . . .	36
3.6. Resultados de $AIC$ para cada modelo . . . . .	36
3.7. Valores de los parámetros del sistema de EDOS para la cepa 3 . . . . .	44
3.8. Resultados de $R^2$ para el sistema (3.20) - (3.22) . . . . .	44

# Resumen

Los modelos predictivos son una herramienta para la toma de decisiones sobre el diseño de procesos como la fermentación. En la literatura existen diversos modelos que describen la dinámica de los microorganismos, sin embargo, muchos de estos no describen las 4 fases de crecimiento de los microorganismos en proceso de fermentación. Adicionalmente, para evaluar la calidad de fermentación de un alimento es necesario medir la característica química del sustrato y el producto obtenido de la fermentación, además de la concentración de biomasa. Por lo tanto, el objetivo de esta tesis es formular un modelo matemático compuesto por un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias (EDOs) que describa la dinámica de estas variables en una fermentación por lotes. El modelo se formuló a partir de datos obtenidos al evaluar funciones temporales que describen la dinámica de las variables de interés para 3 cepas en un proceso de fermentación por lotes, los datos fueron evaluados cada 5 horas desde 0 hasta 50 horas. Las ecuaciones de concentración de microorganismos fueron caracterizadas biológicamente con los parámetros: biomasa inicial, biomasa máxima, máxima tasa de crecimiento y tiempo de fase de latencia. De esta manera se obtuvo un modelo primario, el cuál fue comparado con los modelos de Gompertz, Baranyi y Vázquez-Murado, de acuerdo con las pruebas de selección de modelos mediante el Criterio de Información de Akaike (AIC). El modelo propuesto tuvo un mejor ajuste a los datos evaluados de las funciones temporales con un valor de  $R^2$  de 0.992 en promedio para las 3 cepas. Con las funciones temporales y con base en la ley de crecimiento logístico y la ley de acción de masas se construyó el sistema de EDOs que relaciona las variables estudiadas. Dicho sistema se validó por medio del coeficiente de determinación, las soluciones del modelo se ajustaron a los datos experimentales con una  $R^2$  de 0.983 para la biomasa, 0.982 para la característica química del sustrato y 0.996 para el producto. Se aplicó la teoría de positividad de sistemas no lineales y el método de Localización de Conjuntos Compactos Invariantes (LCCI) para analizar la dinámica global del sistema y determinar los límites ínfimos y supremos de cada una de las variables de estado del sistema. Se realizó el análisis de existencia y unicidad, posteriormente se calcularon los puntos de equilibrio del sistema y con el método indirecto de Lyapunov se logró determinar la estabilidad asintótica. Finalmente se realizaron simulaciones numéricas para ilustrar las soluciones del sistema de EDOs comparadas con los datos experimentales y se discutió el comportamiento de las variables. En conclusión, se establece que la estructura y dinámica de las soluciones del sistema de EDOs fueron consistentes con la literatura, ya que el modelo logró describir las 4 fases de crecimiento de la biomasa, la fase exponencial de crecimiento de biomasa coincidió con la disminución de la característica química del sustrato provocada por la producción de acidez.

**Palabras clave:** Bacterias acidolácticas, Fermentación por lotes, Modelo matemático, Ecuaciones Diferenciales Ordinarias, Dominio de localización, Estabilidad asintótica.

# Abstract

Predictive models are a tool for making decisions about the design of processes such as fermentation. In the literature, there are several models that describe the dynamics of microorganisms, however, many of these do not describe the 4 growth phases of microorganisms in batch fermentation. Furthermore, to evaluate the fermentation quality of a product it is necessary to measure the chemical characteristic of the substrate and the obtained product from fermentation, in addition to the biomass. Therefore, the objective of this thesis is to formulate a mathematical model composed of a system of ordinary differential equations (ODEs) that describes dynamics of these variables in batch fermentation. The model was formulated from obtained data by evaluating temporal functions that describe dynamics of the variables of interest for 3 strains in a batch fermentation process, the data were evaluated every 5 hours from 0 to 50 hours. Biomass equations were biologically characterized with the parameters: initial biomass, maximum biomass, maximum growth rate and lag phase time. In this way, a primary model was obtained, which was compared with the Gompertz, Baranyi and Vázquez-Murado models, according to the model selection tests Akaike Information Criterion (AIC). The proposed model had a better fit to the experimental data with an  $R^2$  value of 0.992 on average for the 3 strains. With the temporal functions and based on the logistic growth law and law of action mass, the ODEs system was built that relates the variables studied. This system was validated through the coefficient of determination, the model solutions were adjusted to the experimental data with an  $R^2$  of 0.983 for biomass, 0.982 for chemical characteristic of the substrate and 0.996 for the product. The theory of positivity of non-linear systems and the localization of compact invariant sets (LCIS) method were applied to analyze the global dynamics of the system and determine lower and upper bounds of each of the state variables of the system. The analysis of existence and uniqueness was carried out, later the equilibrium points of the system were calculated and with the indirect method of Lyapunov it was possible to determine the asymptotic stability. Finally, numerical simulations were carried out to illustrate the solutions of the ODE system compared with the experimental data and the behavior of the variables was discussed. In conclusion, it is established that the structure and dynamics of the solutions of the EDOs system were consistent with the literature, since the model was able to describe the 4 phases of biomass growth, the exponential phase of biomass growth coincided with the decrease of the pH caused by the production of acidity.

**Keywords:** Lactic acid bacteria, Batch fermentation, Mathematical model, Ordinary Differential Equations, Localizing domain, Asymptotic stability.

# Lista de símbolos

$R$	Conjunto de todos los números reales
$R^n$	Espacio $n$ -dimensional, $R^n = R \times \cdots \times R$ ( $n$ veces)
$R_{+,0}^n$	Ortante no negativo, subconjunto de números no negativos de $R^n$
$R^{n \times n}$	Indica una matriz cuadrada de $n \times n$ elementos
$R^2$	Coficiente de determinación
$P$	Indica que la dinámica de un sistema se localiza en $R_{+,0}^n$
$\dot{x}$	La primera derivada con respecto al tiempo de $x$ , notación de Newton
$dx/dt$	La primera derivada con respecto al tiempo de $x$ , notación de Leibniz
$f(x), f(t, x)$	Vector de estados que describe el modelo matemático de un sistema dinámico
$\dot{x} = f(t, x)$	Sistema dinámico no lineal, continuo y variante en el tiempo
$\dot{x} = f(x)$	Sistema dinámico no lineal, continuo e invariante en el tiempo
$\dot{x} = Ax + b$	Sistema dinámico lineal, continuo e invariante en el tiempo
$\phi(t, x)$	Indica la solución en el tiempo de $\dot{x}$
$x(t)$	Indica una solución en series de tiempo o la solución analítica de $\dot{x}$
$x(0) = x_0$	Condición inicial
$\phi(t, x_0)$	Solución de $\dot{x}$ con la condición inicial $x_0$
$\phi(\cdot, x)$	Trayectoria en el espacio de fase correspondiente a las soluciones de $\dot{x}$
$\{ \}$	Se escribe para indicar los elementos de un conjunto, $U = \{x \mid x \in R^n \}$
$\emptyset$	Conjunto vacío
$\partial U$	Frontera del conjunto $U$
$\{x_i\}$	Secuencia, el orden de los elementos $x_i$ del conjunto es relevante
$\subset$	Subconjunto
$\cup$	Unión
$\cap$	Intersección
$\in$	Pertenece a
$\forall$	Para todo
$ , :$	Tal que
$\rightarrow$	Tiende a
$\implies$	Implica que
$\iff$	Equivalente a, si y solo si
$\sup$	Valor supremo, la menor de las cotas superiores

$\inf$	Valor ínfimo, la mayor de las cotas inferiores
$f : U \rightarrow R$	La función $f$ mapea el conjunto $U$ al conjunto $R$
$\Gamma$	Indica una trayectoria
$\Gamma_x^+$	Media trayectoria (semi trayectoria) positiva, para $t \geq 0$
$\Gamma_x^-$	Media trayectoria (semi trayectoria) negativa, para $t \leq 0$
$\omega(\Gamma)$	Conjunto $\omega$ -límite
$\alpha(\Gamma)$	Conjunto $\alpha$ -límite
$N(x, \varepsilon)$	Vecindad
$\lim$	Límite
$\det$	Determinante
$:=$	Igual por definición
$\equiv$	Equivalente a
$\exists$	Existe
$T$	Transpuesta de un vector o periodo de una órbita periódica
$\Delta_x$	$\Delta_x = x_{i+1} - x_i$
$\square$	Indica el final de una prueba
$\ x\ $	Norma de $x$
$d(x, y) = \ x - y\ $	Distancia entre los vectores $x$ y $y$
$\frac{\partial f(x)}{\partial x}$	Matriz Jacobiana
$\lambda_i$	Valores propios de la matriz Jacobiana o exponentes de Lyapunov
$\text{Re}$	Parte real de un número complejo
$\text{Re } \lambda_i$	Parte real del valor propio
$C^1$	Indica que una función es de clase continuamente diferenciable
$C^\infty$	Indica que una función es de clase infinitamente diferenciable
$\Psi$	Conjunto compacto invariante
$h(x)$	Notación empleada para escribir una función localizadora
$L_f h(x)$	Derivada de Lie de la función $h(x)$
$S(h)$	Notación empleada para escribir el conjunto $\{x \in R^n \mid L_f h(x) = 0\}$
$x^*$	Punto de equilibrio

# Capítulo 1

## Introducción

Los microorganismos en proceso de fermentación son un grupo de células microbianas que producen ácido láctico o alcohol en el proceso de fermentación de alimentos y que se utilizan para la elaboración de productos como la mantequilla, queso, yogurt, crema, cerveza, vino, pan, carnes frías, pescado, cereales, entre otros, esto debido al efecto que tienen en la conservación de estos productos y además contribuyen notablemente en características sensoriales como el olor, sabor, textura y aumentan su calidad nutritiva. La mayoría de los probióticos pertenecen a los microorganismos en proceso de fermentación y son usados por la industria alimentaria en la elaboración de productos fermentados y como complementos alimenticios con la finalidad de promover la salud. También en el área pecuaria son utilizados para mejorar la producción animal. En la industria, las fermentaciones se llevan a cabo en cultivos por lotes, por lo tanto, los microorganismos no pueden crecer de forma indefinida debido al agotamiento de los nutrientes en el medio. Para su multiplicación requieren de azúcares como glucosa y lactosa, aminoácidos, vitaminas y otros factores de crecimiento. Durante el crecimiento de los microorganismos se genera el producto principal de la fermentación, representado por el ácido láctico, lo que causa que la composición química del medio cambie, disminución del pH, la acidificación del medio provoca la inhibición de microorganismos, este es el principal fundamento de la conservación de este tipo de productos. De acuerdo con la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), Durango ocupa el tercer puesto en producción de lácteos en México, después Jalisco y Coahuila. El 2020 se tuvo una producción de 966 millones 040 mil litros lo que representó el 10.6% de la producción total del país. Por lo tanto, el interés de este estudio es desarrollar un modelo que sirva como herramienta para la producción de leches fermentadas y sea de ayuda principalmente para:

- Asegurar la calidad y seguridad alimentaria
- Tomar decisiones sobre el diseño y la composición de nuevos productos (nuevas formulaciones de alimentos)
- Estimar la vida útil de los alimentos, en coherencia con la legislación aplicable y, por lo tanto, poder predecir y actuar sobre el deterioro de los alimentos.

En el estado, las pequeñas empresas productoras de derivados lácteos no cuentan con un proceso

de elaboración estandarizado (con la adición de microorganismos específicos), para productos lácteos fermentados, por lo que las características del producto final, no permanecen constantes entre un lote de producción y otro. Según la Norma Oficial de Productos y Servicios [2], la cantidad de biomasa, pH (característica química del sustrato) y el producto se evalúan como parámetros para determinar la calidad de fermentación de un producto. Entre los medios para el crecimiento y producción de microorganismos se encuentran la leche, las masas de cereales, los vegetales y la carne. La acción conservadora de los microorganismos en proceso de fermentación es debido a la inhibición de un gran número de microorganismos patógenos y dañinos por varios productos finales de la fermentación [3].

Diversos modelos matemáticos han sido desarrollados con el objeto de predecir el comportamiento de las poblaciones de microorganismos cuando crecen en condiciones controladas, esto es posible incluso tomando en cuenta variaciones en factores de crecimiento extrínsecos como la temperatura y en otros intrínsecos como la concentración de sal, actividad de agua. El modelado de la dinámica celular de microorganismos se considera una herramienta importante para cuantificar y predecir el comportamiento microbiano sobre la influencia de los diferentes factores ambientales, como, por ejemplo, la temperatura, pH, o la composición de la atmósfera que no siempre se mantiene constante durante el almacenamiento de los alimentos. Debido a esto, en los últimos años, la microbiología predictiva está orientada para la predicción con modelos dinámicos, es decir, modelos que permitan predecir la seguridad y calidad de los alimentos sobre condiciones que varían con el tiempo, principalmente condiciones no isotérmicas [4]. Los modelos matemáticos ayudan a predecir la seguridad y la calidad de los alimentos en condiciones que cambian con el tiempo. Se han desarrollado varios modelos matemáticos para describir la dinámica de estos microorganismos. Por lo general, los modelos cinéticos aplicados en microbiología se clasifican en modelos primarios y modelos secundarios. Un modelo primario describe la relación entre la cantidad de población microbiana y el tiempo, mientras que los modelos secundarios describen la relación entre los parámetros del modelo primario y las condiciones del medio ambiente.

## 1.1. Antecedentes

En esta sección se muestran los artículos publicados más relevantes que permitirán obtener las bases necesarias para formular y analizar el modelo matemático.

Se analizan con base a 3 grupos principales: 1) se presentan trabajos que se centraron en el estudio del efecto de las variables que intervienen en el proceso de fermentación, como pH, temperatura, Cloruro de Sodio (NaCl), etc. 2) se muestran trabajos enfocados en el modelado de modelos matemáticos estructurados, aquellos que toman en cuenta el estado físico-químico de los microorganismos como una variable, y no estructurados, que solo consideran la biomasa por su concentración. 3) Se presentan algunos

estudios donde se aplican los principales modelos (Gompertz, Baranyi-Roberts y Vázquez-Murado, etc.) para determinar su ajuste en diferentes microorganismos en proceso de fermentación y medios de cultivo.

### 1.1.1. Estudio del efecto de las variables que intervienen en el proceso de fermentación

Título del artículo	Resumen
Influencia del pH y la concentración inicial de lactato en el crecimiento de <i>Lactobacilos plantarum</i> [5].	El rendimiento de la fermentación de <i>L. plantarum</i> se midió a un pH controlado entre 4.0 y 8.0 y concentraciones iniciales de lactato de 0-90 g/l. Las condiciones óptimas de crecimiento a pH 6.0 sin adición de lactato dieron una tasa de crecimiento de $0.57 \text{ h}^{-1}$ y 20 g de biomasa/mol ATP formado ( $Y_{ATP}$ ). Las variaciones de pH dieron como resultado una disminución en la tasa de crecimiento, pero el efecto sobre $Y_{ATP}$ fue insignificante. La adición de lactato al medio a las 0h dio como resultado una disminución lineal en la tasa de crecimiento del cultivo, y todas las actividades metabólicas se inhibieron por completo a 110 g/l.
Un estudio cinético de la fermentación del ácido láctico. Proceso por lotes a pH controlado [6].	Se estudió la cinética de la fermentación de glucosa a través de la producción de ácido láctico a seis niveles de pH constantes entre 4.5 y 6.0, midiendo las tasas instantáneas de crecimiento bacteriano y de formación de ácido láctico a lo largo de cada fermentación. Se encontró que la tasa instantánea de formación de ácido láctico debe estar relacionada con la tasa instantánea de crecimiento bacteriano y con la densidad bacteriana, a lo largo de una fermentación a un pH dado.
Modelando el crecimiento de bacterias ácido lácticas (BAL) a diferentes temperaturas [7].	El objetivo de este estudio fue modelar el crecimiento de <i>L. plantarum</i> , <i>W. viridescens</i> , <i>L. sakei</i> bajo diferentes condiciones isotérmicas de cultivo a temperaturas de 4, 8, 12, 16, 20 y 30°C. Se utilizaron los modelos de Gompertz y Baranyi Roberts para determinar la dinámica de las BAL en función del tiempo y se establecieron modelos secundarios para describir el efecto de la temperatura en el crecimiento de dichas bacterias. El crecimiento de las BAL fue influenciado fuertemente por la temperatura de cultivo y los nuevos modelos obtenidos permiten predecir el crecimiento de esas bacterias en un rango de temperatura de 4 a 30°C.

Título del artículo	Resumen
<p>Modelando los efectos combinados de temperatura, pH, y concentraciones de cloruro de sodio y lactato de sodio en la tasa de crecimiento de <i>Lactobacilos plantarum</i> ATCC 8014 [8].</p>	<p>Se construyó un modelo de respuesta de la tasa de crecimiento de <i>L. plantarum</i> como una función de temperatura (4, 7, 10, 13 y 16°C), pH (5.5, 6.0, 6.5, 7.0 y 7.5) y concentraciones de cloruro de sodio (NaCl) (0, 1.5, 3.0, 4.5 y 6.0%) y de lactato de sodio (0, 1, 2, 3 y 4%). Se aplicó un modelo lineal trifásico para describir el crecimiento de los microorganismos, expresado como log<sub>10</sub> UFC/ml frente al tiempo. El modelo desarrollado podría ser útil para diseñar alimentos con <i>L. plantarum</i> ATCC 8014 agregado como probiótico.</p>
<p>Modelado de la tasa de crecimiento específico de <i>Lactobacilos plantarum</i> en extracto de pepino [9].</p>	<p>El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de las variables clave involucradas en la fermentación del pepino y desarrollar modelos para predecir el crecimiento de <i>Lactobacilos plantarum</i> en fermentaciones de cultivo puro y mixto a 30°C. Las cuatro variables independientes estudiadas fueron las concentraciones de ácido acético, ácido láctico, H<sup>+</sup> y NaCl. Las condiciones limitantes para el crecimiento fueron pH 3.37, ácido láctico no disociado 69 mM, ácido acético no disociado 150 mM y NaCl al 11.8%. Una ecuación predictiva para la tasa de crecimiento específica fue desarrollada, probada y mostrada para predecir el crecimiento de <i>L. plantarum</i> en procesos discontinuos razonablemente bien. El modelo puede usarse para predecir el crecimiento de <i>L. plantarum</i> en la fermentación de pepinos. También puede ser útil para predecir el crecimiento en otros medios con exceso de azúcar.</p>
<p>Modelado de crecimiento y producción de bacteriocina por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> E131 [10].</p>	<p>Se estudió el efecto del pH y la temperatura sobre el crecimiento y la producción de bacteriocina, utilizando caldo MRS como medio de crecimiento en un fermentador. Se desarrolló un modelo empírico para describir el crecimiento y la producción de bacteriocina en diferentes condiciones de pH y temperatura. El modelo fue capaz de describir el crecimiento y la producción de bacteriocina y podría usarse para predecir los parámetros cinéticos del crecimiento y la producción de bacteriocina dentro del rango de pH y temperatura examinado. El valor de pH al que se observó el mejor crecimiento celular (6.5) no coincidió con el valor al que se alcanzó la actividad máxima de bacteriocina (5.5). Por otra parte, la actividad máxima de bacteriocina se alcanzó a una temperatura (25°C) cercana a la temperatura óptima para el crecimiento celular (25-30°C).</p>

### 1.1.2. Modelos estructurados y no estructurados

Título del artículo	Resumen
<p>Cinética y modelización de producción de ácido láctico por <i>Lactobacilos plantarum</i> [11].</p>	<p>Se desarrolló un modelo no estructurado para describir el crecimiento de bacterias, la utilización del sustrato y la producción de ácido láctico por <i>L. plantarum</i> en jugo de pepino. También se desarrolló una ecuación que relaciona la tasa de mortalidad específica y la concentración de NaCl. Hasta el 51 % del ácido láctico se produjo después de que el crecimiento cesó cuando el NaCl no estaba presente en el medio. Se usaron simulaciones matemáticas para predecir la influencia de las variaciones en la tasa de mortalidad, la concentración de <math>H^+</math> cuando cesó el crecimiento y la capacidad de amortiguación del jugo en el proceso general de fermentación.</p>
<p>Una ecuación diferencial no autónoma para modelar el crecimiento bacteriano [12].</p>	<p>Se aplicó una ecuación diferencial no autónoma para describir la dinámica de los cultivos bacterianos en crecimiento. El modelo describió la fase de retraso como un período de ajuste y para el parámetro de retraso se introdujo una nueva definición. Sobre la base de más de 500 curvas de crecimiento, sus propiedades estadísticas se compararon con el enfoque de Gompertz comúnmente utilizado en microbiología de alimentos. Este enfoque matemáticamente formalizado supuso que un entorno dado determina la tasa de crecimiento potencial del cultivo. Siendo ésta más alta que la tasa de crecimiento cuando el tiempo está cerca de la inoculación.</p>
<p>Un enfoque dinámico para predecir el crecimiento bacteriano en los alimentos [13].</p>	<p>Se propuso un modelo de crecimiento para el cual su estado fisiológico de las células está representado por una sola variable. La duración del retraso está determinada por el valor de esa variable en la inoculación y por el entorno posterior a la inoculación. Se muestra que, con células con el mismo historial de pre-inoculación, el producto del parámetro de retraso y la tasa de crecimiento específica máxima es una simple transformación del estado fisiológico inicial. El modelo puede describir el crecimiento bacteriano en un entorno donde los factores, como la temperatura y el pH cambian con el tiempo.</p>

Título del artículo	Resumen
<p>Modelado predictivo del crecimiento superficial de bacterias ácido lácticas en carne empacada al vacío [14].</p>	<p>Se construyó un modelo dinámico para el crecimiento de bacterias ácido lácticas en carne empacada al vacío. El modelo consiste en un modelo de fermentación y un modelo que describe el cambio de pH en la capa superficial líquida. Esto corresponde a dos ecuaciones diferenciales y dos ecuaciones algebraicas, respectivamente. Algunos aspectos generales de la carne empacada en vacío, tales como la típica curva de crecimiento logarítmica-lineal, se pueden predecir basándose en este modelo. Simulaciones mostraron que las propiedades de la capa superficial líquida tienen un efecto pronunciado en la fase de retraso.</p>
<p>Modelo matemático no estructurado para la producción de biomasa, ácido láctico y bacteriocina por bacterias de ácido láctico en la fermentación de alimentos [15].</p>	<p>Se propuso un modelo para describir la cinética de fermentación del crecimiento, las bacteriocinas y la producción de ácido láctico por <i>Lactococcus lactis</i> y <i>Pediococcus acidilactici</i> en un sistema por lotes. Las ecuaciones utilizadas fueron: la logística reparametrizada para el crecimiento, el modelo de Luedeking-Piret para la producción de bacteriocina, el modelo de energía de mantenimiento para el consumo de glucosa; y la ecuación de equilibrio homofermentativo para la formación de ácido láctico. En todos los cultivos, los modelos matemáticos, consistentes y robustos, se ajustan perfectamente a los perfiles cinéticos experimentales. Además, los parámetros cinéticos correspondientes fueron significativos, tanto biológica como estadísticamente.</p>
<p>Un modelo para la inhibición inducida por ácido láctico de <i>Yersinia enterocolitica</i> en mono y cocultivo con <i>Lactobacilos sakei</i> [16].</p>	<p>Se consideró una interacción de múltiples especies, un organismo patógeno en presencia de un antagonista microbiano, donde la última especie inhibe el crecimiento del patógeno a través de la producción de ácido láctico. Las curvas de crecimiento de <i>Yersinia enterocolitica</i> en mono y cocultivo con <i>Lactobacilos sakei</i> se generaron por duplicado en un medio modificado de infusión cerebrocorazón. Se desarrolló un modelo estructurado nuevo, en el que se observó el efecto de inhibición experimental, es decir, una inducción de la fase estacionaria en la curva de crecimiento del patógeno está explícitamente relacionada con la curva de producción de ácido láctico.</p>
<p>Modelado de los efectos combinados de un modelo alimentario estructurado y el ácido láctico en el crecimiento de <i>Listeria innocua</i> y <i>Lactococcus lactis</i> en mono y cocultivo [17].</p>	<p>Se propuso un modelo predictivo estructurado desarrollado en un sistema líquido para cuantificar los efectos de la estructura de la gelatina en el crecimiento de <i>Listeria innocua</i> y <i>Lactococcus lactis</i> (tanto en mono y cocultivo, produciendo ácido láctico). Estas ecuaciones se incorporan para describir el efecto combinado de la concentración de gelatina, el ácido láctico y el pH sobre el crecimiento de cualquiera de los microorganismos. El modelo de crecimiento desarrollado fue capaz de predecir con precisión el efecto de interacción de las bacterias estudiadas que ocurre en el cocultivo.</p>

### 1.1.3. Aplicación de modelos cinéticos en diferentes medios de cultivo.

Título del artículo	Resumen
<p>Descripción matemática del crecimiento de <i>Lactobacilos sake</i> y <i>Lactobacilos pentosus</i> en las condiciones que prevalecen en las salchichas fermentadas [18].</p>	<p>Se determinó el crecimiento de <i>Lactobacilos sake</i> y <i>Lactobacilos pentosus</i> en un modelo que simula las condiciones de fermentación de salchichas. Se generaron curvas de crecimiento para cada cultivo experimental utilizando la ecuación de Gompertz modificada. Las variaciones de concentraciones de glucosa, peptona, manganeso y nitrito de sodio tuvieron un menor efecto en el crecimiento, mientras que la temperatura y la concentración de NaCl tuvieron un efecto mayor. Las variables medidas se usaron para un modelo matemático que describe la respuesta de crecimiento de <i>L. sake</i> y <i>L. pentosus</i> lo suficientemente bien como para estimar el comportamiento de las cepas investigadas.</p>
<p>Aplicación de un modelo matemático para describir el comportamiento de <i>Lactobacilos spp</i> durante la maduración de chorizo español fermentado seco [19].</p>	<p>Se estudió la evolución de <i>Lactobacilos spp</i> durante el proceso de curado de chorizo fermentado seco bajo condiciones climáticas naturales y en una cámara de secado controlada, con temperatura y humedad relativa reguladas. Se aplicó un modelo matemático basado en una ecuación de Gompertz modificada para comprender el desarrollo de los microorganismos. Esta función permitió distinguir entre las cuatro fases que caracterizan el comportamiento de estos microorganismos durante el curado del chorizo. En cada caso, los <i>Lactobacilos spp</i> mostraron una intensa proliferación durante los primeros 3 días de secado.</p>
<p>Modelos cinéticos aplicados al crecimiento de <i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> en leche [4].</p>	<p>Se utilizaron modelos cinéticos con el objeto de describir el crecimiento de este microorganismo en leche en polvo reconstituida, con los cuales es posible predecir su dinámica dentro del rango de temperatura entre 9 y 39°C. Se utilizó la ecuación de Gompertz para modelar cada una de las curvas de crecimiento obtenidas experimentalmente. Como resultado de este proceso, se obtuvieron los parámetros necesarios para calcular la fase de adaptación, tasa de crecimiento exponencial y el tiempo de generación.</p>
<p>Evaluación de la fermentabilidad de las fracciones de avena obtenidas por desgranado con bacterias ácido lácticas [20].</p>	<p>Se investigó la cinética de tres bacterias ácido lácticas para la fermentación de cuatro fracciones de avena (A, B, C y D). El objetivo principal fue estudiar la idoneidad de estas fracciones como medio de fermentación para el crecimiento y la producción metabólica de bacterias. Para describir y comparar la cinética de las bacterias ácido lácticas en la fracción de avena, se utilizó el modelo matemático no estructurado Vázquez-Murado. En el medio de la fracción B (fracción rica en <math>\beta</math>-glucano) todas las cepas alcanzaron las poblaciones de células más altas, tasas de crecimiento máximas y producciones máximas de ácido láctico.</p>

Título del artículo	Resumen
Análisis e implementación práctica de un modelo para crecimiento combinado y producción de metabolitos de bacterias ácido lácticas [21].	Se investigó el modelo de Nicolai que describe el crecimiento de células y la producción de ácido láctico. Con este modelo la transición de la fase de crecimiento exponencial se obtuvo a través del incremento de concentraciones de ácido láctico no disociado y una disminución del pH en el ambiente. Para describir la variación en el tiempo del ácido láctico y el pH, se propuso un nuevo método de cálculo del cual, en conjunto con el modelo de Nicolai, se obtuvo una descripción precisa de los valores medidos de concentración celular, concentración total de ácido láctico y pH aplicado a un conjunto de datos experimentales de <i>Lactococcus lactis</i> SL05 cultivado en un medio rico.
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 [22].	Se desarrolló un modelo lineal trifásico para determinar qué tan bien se podrían describir las curvas de crecimiento utilizando un modelo más simple. Se realizó una comparación con los modelos de Baranyi y Gompertz, utilizando datos de crecimiento establecidos para <i>Escherichia coli</i> 0157: H7. Las curvas de crecimiento predichas por los tres modelos mostraron un buen acuerdo. El modelo lineal era más robusto que los demás, especialmente cuando los datos experimentales eran mínimos. Se propuso que el comportamiento de transición de las bacterias al final de la fase de retraso puede explicarse en función de la variabilidad biológica
Aplicación de modelos cinéticos no estructurados en el modelado de la fermentación láctica de subproductos de pesca [23].	Se evaluaron cinco modelos en su capacidad de predecir la cinética de producción de ácido en la fermentación láctica de sub productos de pesca. Los modelos no estructurados evaluados fueron: Gompertz, Baranyi-Roberts, Özilgen, Peleg y Vasquez-Murado. Los modelos que presentaron menores valores de error cuadrático medio, ausencia de diferencias significativas entre sí ( $p < 0,05$ ) y los mejores índices de sesgo y precisión fueron el modelo empírico de Gompertz y el modelo de Baranyi-Roberts. Los modelos de Peleg y de Vasquez-Murado no lograron dar un ajuste adecuado para el tipo de fermentación láctica analizada.
Modelado de la curva de crecimiento bacteriano [24].	Se compararon las funciones logísticas, de Gompertz, Richards, Schnute y Stannard para describir una curva de crecimiento bacteriano. Se compararon estadísticamente utilizando el modelo de Schnute, se utilizó la prueba t para calcular los intervalos de confianza para los parámetros de crecimiento. Se realizó la prueba F, donde la falta de ajuste de los modelos se compara con el error de medición. Todas las funciones sigmoidales se modificaron para que contuvieran parámetros biológicamente relevantes. Los modelos de Richards, Schnute y Stannard parecían ser básicamente la misma ecuación. En los casos probados, la ecuación de Gompertz modificada fue estadísticamente suficiente para describir los datos de crecimiento de <i>Lactobacillus plantarum</i> .

## 1.2. Planteamiento del problema

Al realizar la búsqueda de antecedentes se encontraron algunos modelos matemáticos que describen el crecimiento de los microorganismos en proceso de fermentación, cada modelo aplicado a la fermentación de un tipo específico de alimento como carne y vegetales, pero que al ser implementados en otro proceso presentaron fallas de ajuste en su respuesta debido a las diferentes condiciones de los medios de cultivo y a que varios modelos sólo consideran como variable principal la concentración de biomasa y no otros parámetros que también influyen. Algunos de los modelos más citados en la literatura como el de Gompertz, Baranyi y Vázquez-Murado sólo describen 3 fases de crecimiento y no toman en cuenta la fase de muerte, por lo que se presentan fallas al momento de ajustarlos con datos observados. La consideración de esta última fase es importante para poder estimar la vida útil de un producto, por este motivo se requiere tomarla en cuenta a la hora de realizar un modelo. Debido a que, para determinar la calidad de un alimento fermentado, éste debe cumplir con ciertas cantidades de biomasa, pH y producción de acidez, surge el interés de estudiar la dinámica de estas variables durante el proceso de fermentación. Por lo tanto, es necesario desarrollar un nuevo modelo enfocado en la fermentación que describa la dinámica del crecimiento de cepas como una función del medio y la temperatura de cultivo, del pH y la producción de acidez.

## 1.3. Objetivos

### 1.3.1. Objetivo general

Establecer una metodología para la formulación de un modelo matemático que describa la dinámica entre la biomasa, la composición química del sustrato y el producto obtenido por 3 cepas en la elaboración de productos fermentados.

### 1.3.2. Objetivos específicos

1. Formular, con base en modelos de la literatura, ecuaciones en función del tiempo que describan la evolución de los microorganismos en proceso de fermentación, el producto y la característica química del sustrato en una fermentación por lotes.
2. Utilizar las funciones para diseñar el modelo matemático de tres EDOs de primer orden que permita relacionar la interacción entre las tres variables.
3. Realizar un análisis estadístico para validar las soluciones del modelo matemático con respecto a las funciones temporales propuestas.

4. Aplicar teorías relacionadas a los sistemas dinámicos para caracterizar la dinámica local y global del modelo matemático formulado.
5. Determinar la aplicabilidad del modelo formulado para predecir la concentración de cada una de las variables bajo condiciones específicas en el medio de cultivo.

## 1.4. Hipótesis

Con base en los datos obtenidos en las funciones temporales de las 3 cepas se podrán formular modelos matemáticos que permitan estimar la concentración final de los microorganismos en proceso de fermentación, el producto y la característica química del sustrato en la producción de leche fermentada cuando se consideran condiciones particulares de temperatura y la concentración inicial de la biomasa en el medio de cultivo.

## 1.5. Estructura del documento

El contenido del presente documento ha sido estructurado con el formato de una comunicación científica. El contenido de cada uno de los capítulos es la siguiente:

El capítulo 2, Marco Teórico.

Describe los conceptos básicos para la comprensión de temas de microbiología y de modelado matemático, en cuestiones tales como la definición de los microorganismos en proceso de fermentación, su clasificación, fases de crecimiento, factores de crecimiento y aplicaciones en la industria alimenticia. También se muestran las teorías de los sistemas dinámicos para la caracterización del modelo como lo son la teoría de positividad, el método de localización de conjuntos compactos invariantes, puntos de equilibrio, etc. Así como los modelos matemáticos más utilizados para el modelado de sistemas biológicos como el crecimiento y decrecimiento exponencial, el crecimiento sigmoideal y la ley de acción de masas.

En el capítulo 3, Metodología y Resultados.

Se desarrolla la metodología y se muestran los resultados obtenidos, desde el análisis de la formulación de un modelo que describe la dinámica de las variables estudiadas en función del tiempo, de las cuales, las funciones de biomasa fueron caracterizadas con los parámetros de biomasa inicial, biomasa máxima, máxima tasa de crecimiento y tiempo de fase de latencia, obteniendo así un modelo primario que fue comparado con los modelos de Gompertz, Baranyi y Vázquez-Murado mediante la prueba de AIC. A partir de las funciones temporales se construyó el sistema de EDOs, la aplicación del método de dominio de localización para determinar sus límites ínfimos y supremos y la determinación de su estabilidad asintótica.

En el Capítulo 4. Conclusiones

Finalmente, en este capítulo se citan las conclusiones, donde se establece el grado en que se cumplieron los objetivos y se discute si el comportamiento del modelo es consistente con la literatura, se comenta la importancia de realizar el análisis de la dinámica local del sistema y se proponen los trabajos futuros.

# Capítulo 2

## Marco teórico

### 2.1. Microorganismos en proceso de fermentación

Los microorganismos en proceso de fermentación se refieren a un conjunto de microorganismos que comparten ciertas características morfológicas, fisiológicas y metabólicas. Tienen la particularidad de producir principalmente ácido láctico a partir de varios carbohidratos mediante un proceso conocido como fermentación microbiana. Normalmente se encuentran en diversos medios como la leche, el suero y los encurtidos [3], [25]. El destacado químico y microbiólogo danés Orla-Jensen (1919) afirmó que “Los verdaderos microorganismos utilizables en procesos de fermentación forman un gran grupo de cocos y bacilos Gram positivos inmóviles, sin esporas, que en la fermentación del azúcar forman principalmente ácido láctico” [26]. “El primer cultivo puro de estos microorganismos se obtuvo en 1873; sin embargo, los microorganismos productores de leche y ácido láctico fueron consideradas como los mismos microorganismos hasta principios del siglo XX” [27]. En la actualidad estos microorganismos tienen una función primordial en la industria alimentaria, ya que se utilizan para acidificar y preservar alimentos. Además, contribuyen en gran medida en la textura, sabor olor y desarrollo de aromas en alimentos fermentados [28], [29].

#### 2.1.1. Clasificación de los microorganismos en proceso de fermentación

Los microorganismos en proceso de fermentación pertenecen al phylum Firmicutes que comprenden alrededor de 20 géneros, entre los que se encuentran: *Aerococcus*, *Alloinococcus*, *Carnobacterium*, *Dolosigranunlum*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Streptococcus*, *Vagococcus* y *Weisella*. Los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Streptococcus* son considerados los miembros más representativos [25].

La morfología, el modo de fermentación de la glucosa, la temperatura óptima de crecimiento, la tolerancia ácida o alcalina, la capacidad para crecer a altas concentraciones de sal y la producción de gases son las principales características tomadas en cuenta para la clasificación de los microorganismos en proceso de fermentación .

En relación a la fermentación de la lactosa, se tienen dos grupos de microorganismos en proceso de fermentación, los homofermentativos y las heterofermentativos:

- Los homofermentativos producen ácido láctico como principal metabolito durante la fermentación. *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Vagococcus* y algunos *Lactobacillus* son ejemplos de BAL que pertenecen a este grupo.
- Los heterofermentativos, además de ácido láctico, generan otros productos como ácido acético, etanol, CO<sub>2</sub>. *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weisella*, *Carnobacterium*, *Lactosphaera* y algunos *Lactobacillus* se encuentran dentro de esta clasificación [3].

De acuerdo a su temperatura óptima de crecimiento, los microorganismos en proceso de fermentación se dividen en:

- mesófilos, las cuales crecen idealmente a una temperatura de incubación de 20 a 35°C; y
- termófilos, con una temperatura óptima está entre los 45° y 60°C [29].

En función del nivel de pH que provoca su desarrollo óptimo, los microorganismos en proceso de fermentación se clasifican como ácidos tolerantes, lo que significa que pueden soportar una gran escala de pH, desde valores tan bajos como 3.2 hasta valores cercanos a 9.6 [3].

### 2.1.2. Crecimiento de microorganismos

“En microbiología, se define el crecimiento como el aumento en el número de células. Las células microbianas tienen un período de vida limitado, y una especie se mantiene solo a resultas del crecimiento continuado de su población”. La fisión binaria es el proceso en el que un bacilo bacteriano, en un cultivo en crecimiento, se alarga hasta el doble de su extensión inicial y posteriormente se divide en 2 células hijas. El tiempo que tardó este proceso es conocido como tiempo de generación. Este tiempo es variable para cada especie de microorganismo y se da en función de los nutrientes en el medio de cultivo, de la temperatura del entorno entre otros factores. Al transcurrir el tiempo de generación, el número de células y la masa se duplican. En un intervalo constante de tiempo, el número de células se duplica. A este modelo de crecimiento celular se le llama crecimiento exponencial. Al inicio del crecimiento exponencial, la duplicación de células es considerablemente lento; pero a medida que avanza el tiempo, la velocidad incrementa [1].

## Fases de crecimiento exponencial

En la industria, la mayor parte de las fermentaciones se efectúan en un cultivo por lote, discontinuo o en batch; es decir, sólo se añade al fermentador un medio de cultivo con los nutrientes necesarios y se incuba para el crecimiento del microorganismo y la producción del metabolito primario. Durante la incubación no se agrega nada, a excepción de oxígeno (aire). De esta forma, los microorganismos no pueden crecer de forma exponencialmente por tiempo indefinido, ya que el microorganismo agota los nutrientes al desarrollarse, cambia la característica química del sustrato (pH) y se acumulan compuestos tóxicos. La curva característica de un crecimiento de microorganismos (Figura 2.1) se compone de las siguientes fases:

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

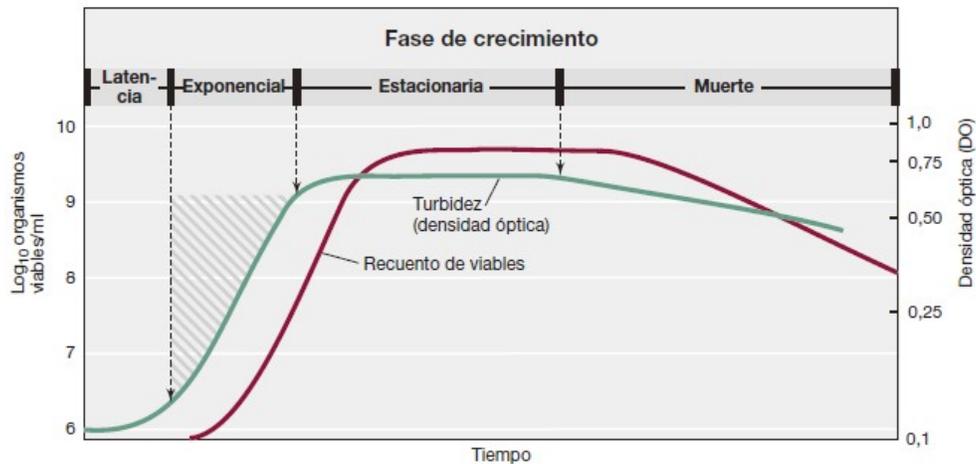


Figura 2.1: Curva de crecimiento típica de una población bacteriana [1].

**Fase de latencia o lag.** La fase de latencia o lag se presenta por el reposo que necesitan las células para sintetizar las enzimas requeridas para la actividad metabólica, se dice que está en la etapa de adaptación al medio. El tiempo de adaptación puede ser corto o largo dependiendo de la naturaleza del medio y las condiciones de crecimiento. El número de células no incrementa significativamente en esta fase, aumenta la masa celular, pero no el número de células.

**Fase exponencial.** En la fase exponencial el número de células se duplica en intervalos constantes de tiempo que pueden ser cortos o largos dependiendo de los recursos que hay en el medio, la temperatura y características particulares de cada microorganismo, además de otros factores. En este estado las células se encuentran en su mejor estado de salud. Sin embargo, el crecimiento exponencial no se mantiene de manera continua en una fermentación por lotes debido a que se consumen los nutrientes, cambia la composición química del medio y se producen desechos de los microorganismos. Por este motivo la población celular entra en estado estacionario.

**Fase estacionaria.** En esta fase no se produce un incremento o reducción de células, por lo tanto, la velocidad de crecimiento es igual a 0. Sin embargo, a pesar de esto, el metabolismo puede continuar, pero a una velocidad limitada.

**Fase de muerte.** Tarde o temprano la población entra en una fase de muerte, esto se debe a que se terminan las reservas de energía en las células. Al igual que la fase de crecimiento, esta es representada por una función exponencial, pero ésta es más lenta y en un cultivo podrían existir células viables después de meses o años [1].

Durante la reproducción de los microorganismos en proceso de fermentación se presenta la producción del metabolito que las caracteriza a todas ellas, el ácido láctico, la acumulación de este producto y otros ácidos orgánicos producidos provocan que el pH del medio se reduzca y esto hace que las condiciones se vuelvan más selectivas para los microorganismos en proceso de fermentación y al final el microorganismo más tolerante al ácido prevalecerá. Este es el principal fundamento para la inhibición de microorganismos patógenos. El número total de células en una fermentación suelen representarse en una escala logarítmica y normalmente, al final de este proceso se pueden alcanzar valores de  $10^8$  a  $10^9$  UFC/ml (Unidades formadoras de células por mililitro) [25], [28].

### 2.1.3. Factores que afectan su crecimiento

El estado físico y químico del ambiente tiene un gran impacto en estos microorganismos. Los factores principales que afecta el crecimiento son la temperatura, el pH, la disponibilidad de agua, el oxígeno y los nutrientes.

#### Temperatura

El factor ambiental que predomina de forma más contundente en el crecimiento y conservación de los microorganismos en proceso de fermentación es la temperatura. Cada microorganismo en proceso de fermentación tiene una temperatura mínima por debajo de la cual se inhibe el crecimiento, una

temperatura óptima donde el crecimiento es el más rápido y una temperatura máxima por encima de la cual es imposible su desarrollo. A estas temperaturas se les conoce como temperaturas cardinales [1]. La mayoría de estos microorganismos tienen su crecimiento óptimo a una temperatura de 30°C y se inhibe a temperaturas mayores de 45°C. Sin embargo, en otras, su desarrollo óptimo ocurre a una temperatura mayor de 60°C [30].

## pH

La acidez o alcalinidad del medio es otro factor importante para el desarrollo de los microorganismos en proceso de fermentación. Valores de pH menores de 7, indican un medio ácido; mientras que valores más altos de 7 indican medios alcalinos o básicos; la neutralidad corresponde al pH 7. Cada microorganismo puede crecer en un intervalo entre 2 y 3 unidades de pH. La mayoría de los microorganismos en proceso de fermentación crece a pH entre 4 y 4.5 [3].

## Disponibilidad del agua

La disponibilidad de agua también es un elemento significativo para el crecimiento de estos microorganismos. Su desarrollo es dependiente de la humedad del ambiente y de la concentración de solutos (sales, azúcares u otras sustancias) disueltas en el agua presente [1].

## Nutrientes

En lo que respecta a los nutrientes, los microorganismos en proceso de fermentación son muy exigentes y necesitan un conjunto de factores de crecimiento entre los cuales se encuentran azúcares como glucosa y lactosa, además de aminoácidos y vitaminas. Por lo tanto, sólo pueden crecer en medios que suministren dichos nutrientes [26].

### 2.1.4. Aplicación en la industria alimenticia

Los microorganismos en proceso de fermentación tienen una función fundamental en la industria alimenticia. Gracias a sus propiedades metabólicas contribuyen notablemente en características sensoriales como el sabor, olor, textura. Además, cuentan con propiedades terapéuticas y aportan valor nutricional de productos alimentarios. También, pueden usarse como probióticos que proporcionan diversos beneficios. Sus principales funciones son la formación de sabor ácido, inhibición de organismos patógenos, gelificación de la leche, reducción del contenido de lactosa, entre otras [28].

Estos microorganismos se emplean para la elaboración de productos lácteos fermentados, como leche acidificada, yogurt, mantequilla, crema y queso; así como fermentación de carne, vegetales, levaduras,

ensilados, encurtidos, embutidos, productos horneados, cereales, cervezas y vinos [3]. “Un alimento se fermenta si ha estado sujeto a la acción de microorganismos o enzimas de modo que los cambios bioquímicos deseables causen una modificación significativa del alimento”. Los microorganismos en proceso de fermentación contribuyen a la conservación de los alimentos debido a que al producir su metabolito característico provocan un cambio en la composición química del medio. Esto causa que muchos microorganismos patógenos, causantes de la putrefacción de los alimentos, no se encuentren en un medio con su pH ideal y, por lo tanto, se inhibe su crecimiento [26].

Los microorganismos en proceso de fermentación también son fuentes de azúcares bajos en calorías, etanol, compuestos aromáticos, bacteriocinas, exopolisacáridos y varias vitaminas [27]. “La viabilidad de los microorganismos probióticos en el producto final hasta el momento del consumo es su parámetro cualitativo más importante. Los valores de  $10^6$  y  $10^7$ -  $10^8$  UFC/ml han sido aceptados como los niveles mínimos y satisfactorios” [31].

Por su composición y propiedades, la leche es un medio característico que cuenta con los nutrientes y energía necesarios para el crecimiento de estos microorganismos. Por este motivo la elaboración de leche fermentada es una de las principales aplicaciones de estos microorganismos en la industria. La fermentación tiene un impacto en varias características de la leche como lo son la densidad de la leche, la acidez titulable y el pH [30].

## 2.2. Sistemas dinámicos

Los sistemas dinámicos son modelos matemáticos que describen el comportamiento de variables a través del tiempo, se clasifican en lineales o no lineales y en continuos o discretos. Los modelos de estos sistemas se componen de un conjunto de variables que dependen de parámetros y cambian acorde a leyes establecidas, el conocimiento del estado actual de estas variables permite determinar su estado futuro. Estas variables se pueden representar en forma de expresiones algebraicas, ecuaciones de diferencias, ecuaciones diferenciales ordinarias o ecuaciones diferenciales parciales.

Para conocer su evolución en el tiempo a partir de un punto inicial se requiere integrar el sistema mediante iteraciones en pequeños intervalos de tiempo para obtener una serie de puntos llamada solución, si se ilustra con respecto al tiempo; o trayectoria, si se ilustra en un plano n-dimensional. Normalmente, las soluciones se obtienen a través de métodos numéricos mediante software de simulación que permiten ilustrar la dinámica y evolución en el tiempo de los modelos matemáticos que describen un sistema [32].

A continuación, se presentan los principales temas de sistemas dinámicos estudiados para la realización de esta tesis, tales como: su clasificación, la definición de ecuaciones de estado, la positividad de sistemas dinámicos, el método de Euler para la solución de sistemas no lineales, la matriz jacobiana y valores

propios, puntos de equilibrio, el método de localización de conjuntos compactos invariantes para encontrar los límites del sistema, existencia y unicidad, y estabilidad asintótica local. Así como las ecuaciones matemáticas más utilizadas para modelar el crecimiento de poblaciones en sistemas biológicos.

### 2.2.1. Clasificación de los sistemas dinámicos

#### Sistemas lineales y no lineales

Los sistemas lineales son aquellos que cumplen con el principio de superposición y homogeneidad. Es decir, un sistema es lineal si y solo si se cumplen las siguientes igualdades

$$H(u_1(t) + u_2(t)) = y_1(t) + y_2(t) \text{ y } H(\alpha u_1(t)) = \alpha y_1(t)$$

Donde

$u_1(t)$  y  $u_2(t)$  son las entradas del sistema  $H$ .

$y_1(t)$  e  $y_2(t)$  son las salidas del sistema  $H$ .

Los sistemas lineales son más fáciles de analizar, se utilizan técnicas como la transformada de Laplace, el principio de superposición, la transformada de Fourier para determinar sus soluciones.

Cuando un sistema no cumple con las propiedades de superposición y homogeneidad se considera no lineal. Por lo que su análisis resulta ser más complejo y por lo general no es posible calcular soluciones analíticas exactas y deben aproximarse mediante métodos computacionales [33].

#### Sistemas continuos y discretos

En un sistema continuo las variables de interés asumen algún valor en cada instante de tiempo, se representan mediante ecuaciones diferenciales que pueden ser ecuaciones diferenciales ordinarias (EDOs),  $dx/dt$ , o ecuaciones diferenciales en derivadas parciales (EDPs),  $\partial f(x)/\partial x$ . Mientras que en sistemas discretos los valores de las variables cambian tan sólo en ciertos instantes, estos se describen con ecuaciones de diferencias (EDs),  $x_{k+1} = f(x_k)$  [34].

El estudio de esta tesis se centra en el modelado de sistemas biológicos por medio de modelos no lineales y continuos.

### 2.2.2. Ecuaciones de estado

La estructura de un sistema dinámico no lineal y continuo está compuesta por un conjunto finito de Ecuaciones Diferenciales Ordinarias (EDOs) de primer orden [32], [33], [34], de la forma que se describe

a continuación.

$$\begin{aligned}\dot{x}_1 &= f_1(t, x_1, x_2, \dots, x_n) \\ \dot{x}_2 &= f_2(t, x_1, x_2, \dots, x_n) \\ &\vdots \\ \dot{x}_n &= f_n(t, x_1, x_2, \dots, x_n)\end{aligned}$$

donde  $\dot{x}_i; i = 1, \dots, n$ , es la derivada de  $x_i$  con respecto al tiempo  $t$ , es decir

$$\dot{x}_1 = \frac{dx_1}{dt},$$

las variables  $x_1, \dots, x_n$  se denominan variables de estado y representan la memoria que el sistema tiene de su estado anterior y las funciones  $f_1, \dots, f_n$  explican la relación de las variables de estado con el problema que se analiza.

Los sistemas dinámicos continuos  $n$ -dimensionales suelen representarse por la ecuación de estado,  $\dot{x} = f(t, x)$ . Las ecuaciones de estado pueden escribirse de forma más compacta usando la notación de forma de vector 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  $\dot{x} = f(t, x)$  representa un sistema no autónomo, ya que depende continuamente del tiempo, es decir, variante en el tiempo. Por el contrario, si el lado derecho de la ecuación depende solo de  $x$  y no de  $t$ , se denomina autónomo o invariante en el tiempo y se expresa de la siguiente manera

$$\dot{x} = f(x)$$

$\phi(t, x)$  simboliza la solución de un sistema invariante en el tiempo y describe la trayectoria de los puntos de  $x$  a través del tiempo ( $t$ ), por lo tanto, la función

$$f(x) = \left. \frac{d}{dt} \phi(t, x) \right|_{t=0}$$

define un campo vectorial de clase  $C^1$  en un espacio  $R^n$  para cada condición inicial  $x_0 \in R^n$  y  $\phi(t, x_0)$  es la solución al problema del valor inicial  $\dot{x} = f(x)$  con  $x(0) = x_0$

La función  $\phi(\cdot, x_0) : R \rightarrow R^n$  define la denominada trayectoria en el espacio de fase que pasa a través del punto  $x_0$ . El espacio de fase es un plano  $n$ -dimensional en el que sus ejes corresponden a cualquier combinación de las variables de estado del sistema dinámico estudiado, el espacio de fase bidimensional se denomina como plano de fase, cuando se ilustra una solución  $\phi(t, x)$  mediante series de tiempo se denotan los ejes  $x$  y  $y$ , respectivamente, como  $t$  y  $x(t)$  [32], [35].

### 2.2.3. Positividad en sistemas dinámicos

La positividad de un sistema dinámico se establece si las trayectorias de sus soluciones, una vez que iniciaron en el primer ortante, permanecen en  $R_{+,0}^n$  en cualquier tiempo futuro ante cualquier condición inicial en el ortante no negativo  $R_{+,0}^n$  [36].

De acuerdo con Leenheer y Aeyels [37], el siguiente lema proporciona una condición necesaria para determinar la positividad de un sistema dinámico no lineal e invariante en el tiempo de la forma  $\dot{x} = f(x)$ :

**Lema: Positividad en sistemas no lineales.** El sistema dinámico no lineal e invariante en el tiempo  $\dot{x} = f(x)$  es positivo si y solo si la siguiente condición se satisface

$$P\forall x \in \partial R_{+,0}^n | x = 0 \Rightarrow f(x) \geq 0.$$

Esto quiere decir que si se evalúa la variable de estado  $x$  en  $x = 0$ , el resultado será una función no negativa. Esta es una propiedad importante para un sistema biológico ya que implica que estos, al describir poblaciones de seres vivos, no pueden tomar valores negativos.

### 2.2.4. Método de Euler

El método de Euler es un método de integración numérica que se emplea para estimar la solución  $\phi(t, x)$  de un sistema dinámico no lineal  $\dot{x} = f(x)$  de forma iterativa a partir de una condición inicial  $x(0) = x_0$ . La aproximación del estado futuro se calcula con base en su valor actual en intervalos equidistantes en el tiempo [35], [38].

La solución de un sistema dinámico compuesto por la ecuación  $\dot{x} = f(x)$  se aproxima considerando lo siguiente

$$\dot{x} = \frac{dx}{dt} = f(x) \approx \frac{\Delta x}{\Delta t},$$

$\Delta t$  está definido por intervalos regulares, de esta manera se obtiene lo siguiente

$$\frac{\Delta x}{\Delta t} = \frac{x_{i+1} - x_i}{\Delta t} \approx f(x),$$

el primer valor de la solución es la condición inicial, en la primera iteración  $x_i = x_0$ , por lo tanto, el siguiente valor de la solución que se desea aproximar está dado por

$$x_{i+1} \approx x_i + f(x)\Delta t.$$

El método de Euler es una ecuación de diferencias finitas que se resuelve de manera iterativa en intervalos definidos por  $\Delta t$  en un dominio del tiempo dado por  $t \in [t_0, t_f]$ , donde  $t_0 = 0$  es el tiempo inicial y  $t_f$  es el tiempo final al cual se desea aproximar la solución  $\phi(t, x)$ ,  $\Delta t$  debe ser lo más pequeño posible para obtener el menor error en la solución.

### 2.2.5. Jacobiano y valores propios

La matriz jacobiana de un sistema definido por la ecuación de estado  $\dot{x} = f(x)$ , es un arreglo de  $n \times n$  formado por las derivadas parciales de primer orden del sistema como se muestra a continuación. Una de sus aplicaciones es la posibilidad de aproximar linealmente a la función en un punto.

$$\frac{\partial f(x)}{\partial x} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1(x)}{\partial x_1} & \frac{\partial f_1(x)}{\partial x_2} & \dots & \frac{\partial f_1(x)}{\partial x_n} \\ \frac{\partial f_2(x)}{\partial x_1} & \frac{\partial f_2(x)}{\partial x_2} & \dots & \frac{\partial f_2(x)}{\partial x_n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_n(x)}{\partial x_1} & \frac{\partial f_n(x)}{\partial x_2} & \dots & \frac{\partial f_n(x)}{\partial x_n} \end{bmatrix}$$

Los valores propios de esta matriz,  $\lambda_i, i = 1, \dots, n$ , son los valores que satisfacen la expresión

$$\det(A - \lambda I) = 0$$

donde  $\lambda \in R^{n \times n}$  es una matriz diagonal e  $I \in R^{n \times n}$  es la matriz identidad. Si todos los valores propios de una matriz son negativos, entonces se denomina matriz Hurwitz o matriz estable [32].

### 2.2.6. Puntos de equilibrios

Hay puntos en el espacio de fase donde la solución del sistema  $\dot{x} = f(x)$  no cambia. Un punto de equilibrio es aquel punto,  $x = x^* \in R^n$ , que tiene la característica que, si este punto es la condición inicial del sistema ( $x(0) = x^*$ ), su solución permanecerá constante ( $\phi(t, x) = x^*$ ) para todo valor de tiempo  $t$  [32], [35].

Los puntos de equilibrio de un sistema dinámico no lineal definido por las ecuaciones de estado,  $\dot{x} = f(x)$ , son las raíces reales de la siguiente expresión:

$$\dot{x} = f(x) = 0.$$

En la Figura 2.2, se muestra el comportamiento en el plano temporal (Figura 2.2 a) y en el espacio de fase (Figura 2.2 b) de un sistema cuando la condición inicial de un sistema compuesto por las variables  $x(t)$  y  $y(t)$  es un punto de equilibrio. La solución del sistema permanece constante en los puntos de equilibrio.

Los valores propios del sistema influyen en la forma que las trayectorias de la solución  $\phi(\cdot, x)$  interactúan con el punto de equilibrio  $x^*$ . Cuando los puntos de equilibrio son asintóticamente estables, la solución del sistema se aproximará al punto de equilibrio ( $\phi(\cdot, x) \rightarrow x^*$ ) para  $t \rightarrow \infty$  cuando la condición inicial no sea igual a este valor ( $x(0) \neq x^*$ ), tal como se observa en la Figura 2.3.

De acuerdo con el método indirecto Lyapunov, se dice que un punto de equilibrio es estable si todas las soluciones con condiciones iniciales cercanas se mantienen en una vecindad pequeña alrededor de él,

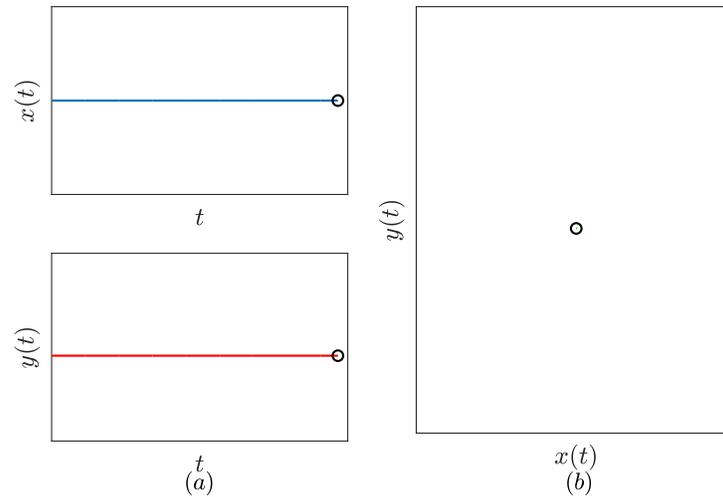


Figura 2.2: Comportamiento de un sistema cuando la condición inicial es un punto de equilibrio. (a) Series de tiempo y (b) Espacio de fase

de lo contrario es inestable. Adicionalmente, se dice que un punto de equilibrio es asintóticamente estable si todas las soluciones con condiciones iniciales cercanas no solo se mantienen cerca, sino que también tienden hacia él cuando el tiempo avanza al infinito [33].

**Teorema. Estabilidad en sistemas lineales.** El punto de equilibrio  $x = x^*$  de  $\dot{x} = Ax$  es global asintóticamente estable si y solo si  $A$  es una matriz Hurwitz, es decir, todos los valores propios de  $A$  satisfacen  $\text{Re } \lambda_i < 0$  [39].

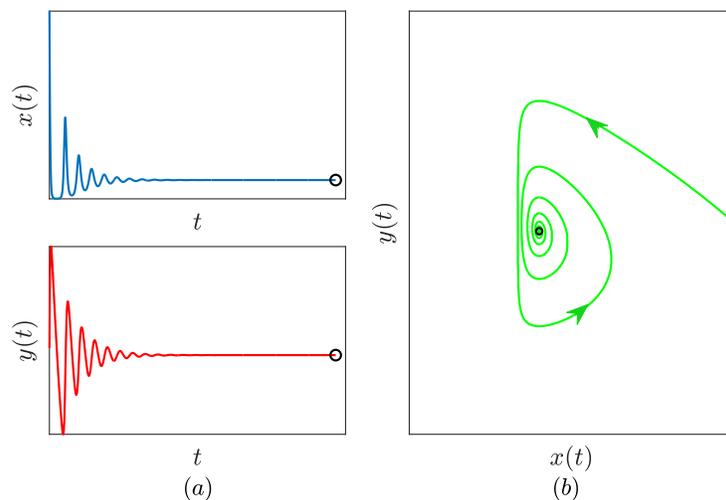


Figura 2.3: Comportamiento del sistema cuando los puntos de equilibrio son asintóticamente estables. (a) Series de tiempo y (b) Espacio de fase.

### 2.2.7. Método de localización de conjuntos compactos invariantes

El método de Localización de Conjuntos Compactos Invariantes (LCCI) propuesto por Alexander Petrovich Krishchenko [40], [41], [42], es aplicado para estudiar el comportamiento a corto y largo plazo de sistemas dinámicos compuestos por EDOs de primer orden. Su objetivo es determinar el dominio de localización, el cuál es una región acotada en el espacio de fase dentro de la cual se localizan todos los conjuntos compactos invariantes que se pueden presentar en un sistema dinámico. Estos conjuntos pueden ser: puntos de equilibrio, órbitas periódicas, órbitas homocíclicas y heterocíclicas, ciclos límites y atractores caóticos. El método de LCCI es analítico, por lo tanto, no se requiere resolver el sistema de EDOs mediante un método numérico para encontrar el dominio de localización.

#### Función localizadora

Para calcular el dominio de localización, lo primero que se debe hacer es proponer la función localizadora, la cual está dada por

$$h(x) : R^n \rightarrow R,$$

donde  $h(x)$  es una función vectorial y  $x \in R^n$ ,  $h(x)$  es una expresión que contiene las variables del sistema dinámico bajo estudio.

Si el sistema es de la forma  $\dot{x} = f(x)$  se debe calcular su derivada de Lie con respecto a  $f(x)$  para analizar la función localizadora. La derivada de Lie de  $h(x)$  se representa por  $L_f h(x)$  y está dada por

$$L_f h(x) = \sum_{i=1}^n \frac{\partial h}{\partial x_i} x_i = \sum_{i=1}^n \frac{\partial h}{\partial x_i} f_i(x) = \left[ \frac{\partial h}{\partial x_1}, \frac{\partial h}{\partial x_2}, \dots, \frac{\partial h}{\partial x_n} \right] \begin{bmatrix} f_1(x) \\ f_2(x) \\ \vdots \\ f_n(x) \end{bmatrix} = \frac{\partial h}{\partial x} f(x).$$

Es necesario analizar diferentes funciones localizadoras hasta encontrar un resultado que permita calcular los límites del dominio de localización.

#### Dominio de localización

Después de proponer la función localizadora  $h(x)$  y calcular su derivada de Lie  $L_f h(x)$  se determina el conjunto  $S(h)$  definido como

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

Los límites ínfimos y supremos de la función  $h(x)$  se pueden calcular a través de un análisis algebraico

aplicado a  $S(h)$

$$\begin{aligned} h_{\inf} &= \inf\{h(x)|x \in S(h)\} \\ h_{\sup} &= \sup\{h(x)|x \in S(h)\}. \end{aligned}$$

El Teorema General correspondiente al método de LCCI para un sistema de la forma  $\dot{x} = f(x)$  establece lo siguiente

**Teorema General.** Cada conjunto compacto invariante  $\Psi$  de  $\dot{x} = f(x)$  está contenido en el dominio de localización

$$K(h) = \{h_{\inf} \leq h(x) \leq h_{\sup}\}.$$

## 2.2.8. Existencia y Unicidad

La existencia y unicidad es una propiedad fundamental de un sistema de ecuaciones diferenciales para ser un modelo matemático útil que representa un sistema biológico. Esto implica que para cada condición inicial existe una solución única. Khalil [32] proporciona un teorema que emplea la condición de Lipschitz para demostrar la existencia y unicidad.

**Teorema de Existencia y Unicidad Local.** Sea  $f(t, x)$  continua por partes en  $t$  y satisface la condición de Lipschitz

$$\|f(t, x_1) - f(t, x_2)\| \leq L\|x_1 - x_2\|$$

$\forall x_1, x_2 \in B = \{x \in R^n \mid \|x_1 - x_0\| \leq r\}, \forall t \in [t_0, t_1]$ . Entonces existe una  $r > 0$  tal que la ecuación de estado  $\dot{x} = f(t, x)$  con  $x(t_0) = x_0$  tiene una solución única sobre  $[t_0, t_0 + r]$ .

Una función que satisface este teorema se dice que es Lipschitz en  $x$  y la constante positiva  $L$  se conoce como constante de Lipschitz. Una función  $f(x)$  es localmente Lipschitz en un dominio  $D \subset R^n$  si cada punto de  $D$  tiene un vecino  $D_0$  tal que  $f$  satisface la condición de Lipschitz para todos los puntos en  $D_0$  con alguna constante de Lipschitz  $L_0$ .

**Lema de Existencia y Unicidad.** Sea  $f : [a, b] \times D \rightarrow R^m$  continua para cualquier dominio  $D \subset R^n$ . Suponiendo que  $[\partial f / \partial x]$  existe y es continuo en  $[a, b] \times D$ . Si, para un subconjunto convexo  $W \subset D$  hay una constante  $L \geq 0$  tal que

$$\left\| \frac{\partial f}{\partial x} \right\| \leq L$$

en  $[a, b] \times W$ , entonces

$$\|f(t, x_1) - f(t, x_2)\| \leq L\|x_1 - x_2\|$$

para todo  $t \in [a, b]$ ,  $x_1 \in W$  y  $x_2 \in W$ .

Se dice que la función  $f$  es continuamente diferenciable, o  $C^1$ , si todas las derivadas parciales de  $[\partial f / \partial x]$  existen y son continuas. Por el tanto un sistema cumple con la propiedad de existencia y unicidad [34].

## 2.3. Modelado matemático de sistemas biológicos

Un modelo matemático es una expresión matemática o un conjunto de ecuaciones que es normalmente utilizado para describir el comportamiento de una variable en el tiempo y la interacción que esta pudiera tener con otras variables. Su propósito es predecir el valor que tomará dicha variable en cualquier tiempo futuro si se presentan determinadas condiciones. En el modelizado de sistemas biológicos es necesario representar y resolver problemas complejos generados por la necesidad de supervivencia de una población. Para comprender este comportamiento es necesario analizar las variables y los parámetros que componen las ecuaciones de estado de los modelos matemáticos. A continuación, se presentan algunos de los modelos matemáticos en forma de EDOs más utilizados para describir sistemas biológicos [43], [44], [45], [46].

### 2.3.1. Crecimiento exponencial

La ley de crecimiento exponencial es una de las maneras más simples de modelizar el crecimiento de una población celular. Ésta se formula mediante la siguiente EDO de primer orden

$$\frac{dx}{dt} = kx,$$

donde  $x$  es el número de células en un instante de tiempo y  $k > 0$  es la tasa de crecimiento. La solución analítica de la ecuación de crecimiento, para una condición inicial  $x(0) = x_0$ , está dada por

$$x(t) = x_0 e^{kt},$$

En la Figura 2.4 se muestra su dinámica y se aprecia el límite inferior  $x(t) \geq x_0$  para  $t \geq 0$ .

### 2.3.2. Decrecimiento exponencial

Cuando la tasa de cambio de una variable  $x$  tiene un valor negativo, entonces el crecimiento se representa mediante la ley de decrecimiento exponencial, la cual está dada por la siguiente EDO de primer orden

$$\frac{dx}{dt} = -kx,$$

donde  $k > 0$  es una constante de proporcionalidad. Su solución analítica con la condición inicial  $x(0) = x_0$  está dada por

$$x(t) = x_0 e^{-kt},$$

Su dinámica y límites ( $0 < x(t) \leq x_0$  para  $t \geq 0$ ) se observan en la Figura 2.5.

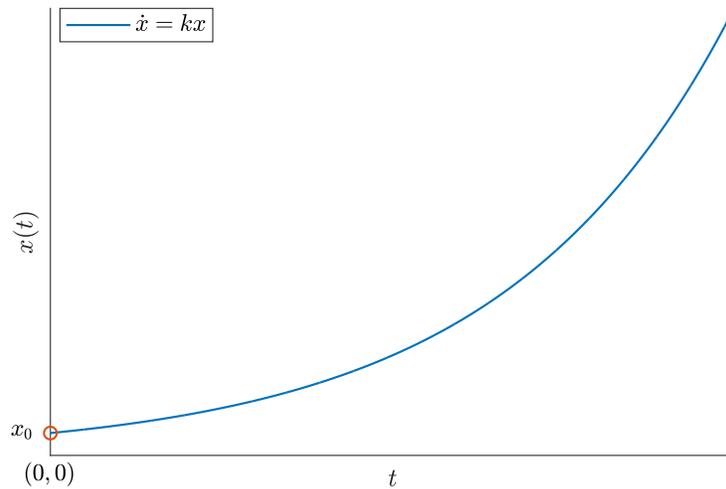


Figura 2.4: Serie de tiempo para la ecuación de crecimiento exponencial

### 2.3.3. Crecimiento sigmoidal

El crecimiento sigmoidal se caracteriza por tener 3 fases durante el crecimiento de una población: la fase exponencial inicial, la fase lineal y la planicie. En la Figura 2.6 se ilustran algunas de las funciones más utilizadas para representar este tipo de crecimiento. En todas las ecuaciones, la capacidad de carga máxima está dada por una función del parámetro  $b$ . Además, todas tienen 2 asíntotas horizontales que determinan sus límites inferiores y superiores.

#### Crecimiento logístico

La ley de crecimiento logístico se utiliza para representar una población que tiene un límite superior para el crecimiento de una población debido a que los recursos disponibles en el ambiente tienen un efecto sobre el desarrollo de la población. El agotamiento de estos recursos ocasiona que el crecimiento cese. Esta ley se formula mediante la siguiente EDO de primer orden

$$\frac{dx}{dt} = kx(1 - bx)$$

donde  $k$  es la tasa de crecimiento intrínseco de la población y  $b^{-1}$  representa su capacidad de carga máxima.

Al calcular su solución analítica con la condición inicial  $x(0) = x_0$  se obtiene la siguiente función

$$x(t) = \frac{(x_0 e^{kt})}{bx_0(e^{kt} - 1) + 1}.$$

En la Figura 2.6 se puede encontrar la serie de tiempo obtenida para esta ecuación. Se puede observar que sus límites están dados por  $x_0 \leq x(t) < b^{-1}$  para  $t \geq 0$ .

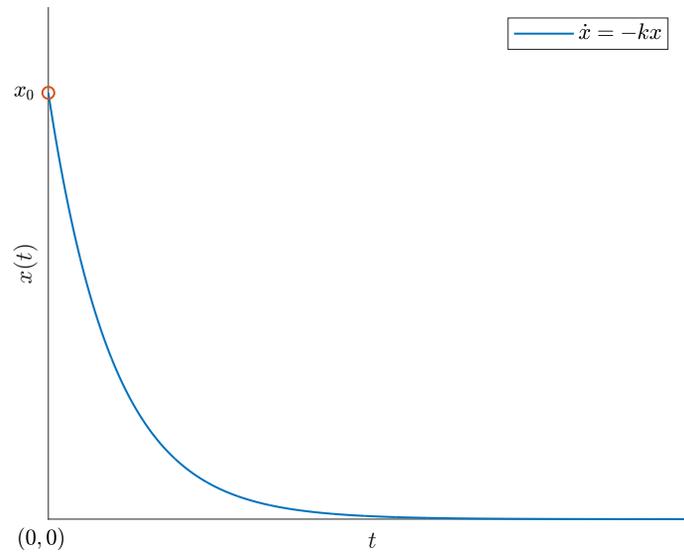


Figura 2.5: Serie de tiempo para el decrecimiento exponencial

Esta es una de las expresiones más utilizadas en microbiología para representar el crecimiento de microorganismos durante una fermentación por lotes, ya que se describen las mismas fases por las que pasan los microorganismos en este proceso.

### Crecimiento alométrico

Este tipo de crecimiento sigmoidal basado en alometría sugiere que la tasa de crecimiento de una población celular es desigual en diferentes partes de la población. Las tasas de crecimiento y degradación de una población son proporcionales a su tamaño. Si se modela la población como una esfera en donde cada célula puede morir y solo las células más externas tienen acceso a nutrientes y son capaces de dividirse, se obtiene la siguiente EDO de primer orden que describe el crecimiento alométrico.

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

donde  $k$  representa la tasa de crecimiento intrínseco de la población y  $b^{-3}$  su capacidad de carga máxima.

En la figura [2.6](#) se observa que la solución numérica para esta ecuación, en  $t \geq 0$  con la condición inicial  $x(0) = x_0$ , tiene los siguientes límites  $x_0 \leq x(t) < b^{-3}$ .

Las leyes de crecimiento alométrico intentan describir una evolución más realista de una población celular. Sin embargo, la ley de crecimiento logístico ha tenido mayor éxito en cuanto a la formulación de modelos matemáticos de sistemas biológicos se refiere.

## Crecimiento Gompertz

A diferencia del crecimiento logístico, en donde la curva de solución se acerca de manera simétrica a ambos límites, el crecimiento de Gompertz tiene una curva cuya solución se acerca al límite superior de una manera más gradual que a su límite inferior. La ley de crecimiento de Gompertz está descrita por la siguiente EDO de primer orden

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

donde  $k$  representa la tasa de crecimiento intrínseco de la población y  $e^{b^{-1}}$  representa su capacidad de carga máxima.

En la Figura [2.6](#) se muestra la serie de tiempo para esta ecuación con sus límites  $x_0 \leq x(t) < e^{b^{-1}}$ .

### 2.3.4. Ley de acción de masas

En el modelizado de sistemas biológicos, la ley de acción de masas se aplica para describir que el número de encuentros entre los integrantes de dos poblaciones es proporcional al producto de los tamaños de ambas poblaciones en cualquier instante de tiempo  $t$ . El ejemplo más común para la aplicación de esta ley es el modelo de Lotka-Volterra, también conocido como el sistema presa – depredador. Este modelo representa la dependencia de la tasa de crecimiento de las presas en función de los depredadores y viceversa, esto se da mediante el término no lineal  $xy$  donde  $x$  representa el número de presas e  $y$  el número de depredadores. El modelo completo se describe a continuación

$$\dot{x} = \alpha x - \beta xy,$$

$$\dot{y} = \delta xy - \gamma y.$$

Normalmente la ley de acción de masas se utiliza en modelos biológicos para establecer la interacción entre 2 poblaciones. Si la interacción provoca un crecimiento en la población el término  $xy$  es positivo ‘ $+\delta xy$ ’. De lo contrario, si la interacción provoca un decrecimiento en la población  $xy$  es negativo  $-\beta xy$ .

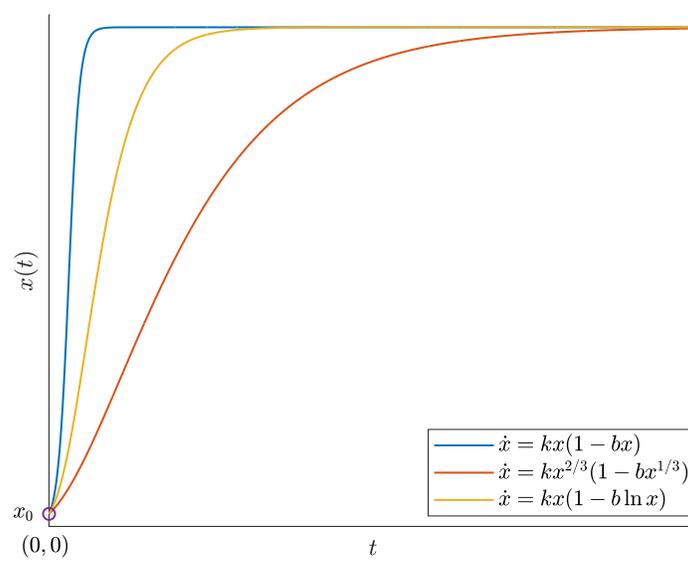


Figura 2.6: Series de tiempo para diferentes funciones de crecimiento sigmoidal

## Capítulo 3

# Desarrollo y resultados

### 3.1. Generación de funciones matemáticas dependientes del tiempo

De acuerdo a la dinámica que presentan los microorganismos en una fermentación por lotes, a la variación de la característica química del sustrato y a la generación del producto principal de este proceso, se generaron funciones matemáticas dependientes del tiempo para describir las variables de interés con base en el comportamiento que se describe en la literatura. Las funciones obtenidas para 3 cepas se presentan en las tablas [3.1](#), [3.2](#) y [3.3](#) donde  $x(t)$  representa el crecimiento de microorganismos,  $y(t)$  la característica química del sustrato y  $z(t)$  el producto. Para  $x(t)$  y  $z(t)$  se propusieron ecuaciones de tercer grado las cuales describen las fases de crecimiento de estas variables durante las 50 horas que dura aproximadamente una fermentación por lotes, mientras que para  $y(t)$  se propusieron funciones decrecientes debido a que la composición química del medio de cultivo va tomando valores más ácidos mediante este proceso [\[1\]](#), [\[25\]](#), [\[28\]](#), [\[15\]](#). Adicionalmente en las tablas se muestra el coeficiente de determinación de cada variable que indica qué tanto se ajustan a la dinámica de estas variables en un proceso para obtener leche fermentada.

Tabla 3.1: Funciones obtenidas para el crecimiento de microorganismos donde  $x_i$  indica el número de cepa

Ecuación	R <sup>2</sup>	M. E.	M.S.E.
$x_1(t) = 1 + 0.00467t^2 - 8.835 \times 10^{-5}t^3$	0.934	0.360	0.031
$x_2(t) = 1 + 0.00406t^2 - 6.910 \times 10^{-5}t^3$	0.964	0.306	0.0166
$x_3(t) = 1 + 0.00419t^2 - 7.777 \times 10^{-5}t^3$	0.910	0.406	0.037

Tabla 3.2: Ecuaciones obtenidas para la característica química del sustrato

Ecuación	R <sup>2</sup>	M. E.	M.S.E.
$y_1(t) = 6 - 0.0534t + 0.000226t^2$	0.996	0.083	0.001
$y_2(t) = 6 - 0.0823t + 0.00171t^2 - 2.265 \times 10^{-5}t^3$	0.971	0.355	0.018
$y_3(t) = 6 - 0.054t + 0.000182t^2$	0.960	0.373	0.021

Tabla 3.3: Ecuaciones obtenidas para el producto

Ecuación	R <sup>2</sup>	M. E.	M.S.E.
$z_1(t) = 1 + 0.079t + 0.00645t^2 - 8.98 \times 10^{-5}t^3$	0.985	0.858	0.135
$z_2(t) = 1 + 0.171t + 0.00321t^2 + 7.61 \times 10^{-5}t^3$	0.933	1.172	0.476
$z_3(t) = 1 + 0.014t + 0.00477t^2 - 4.39 \times 10^{-5}t^3$	0.972	0.828	0.157

### 3.2. Generación del modelo para la variable biomasa

Se puede observar que todas las funciones de biomasa (Tabla 3.1) se componen de un polinomio de tercer orden de tres términos, a partir del cual se plantea un modelo general como se presenta a continuación

$$x_{\beta}(t) = x_0 + at^2 - bt^3, \quad (3.1)$$

donde  $x_{\beta}(t)$  representa la cantidad de biomasa en  $\log_{10}(\text{UFC/ml})$  en función del tiempo,  $x_0$  representa la cantidad de biomasa inicial en cada experimento y los coeficientes  $a, b > 0$  representan la relación entre la biomasa inicial, la biomasa máxima, el tiempo de la fase de latencia y la máxima tasa de crecimiento. Para expresar los coeficientes en función de los parámetros deseados se aplicaron los conceptos de cálculo diferencial.

Ahora se calcula la primera derivada, la cual representa la tasa de crecimiento,

$$\dot{x}_{\beta}(t) = 2at - 3bt^2, \quad (3.2)$$

para encontrar el incremento máximo de biomasa, denotado por  $x_{\text{máx}}$ , se calculó la primera derivada igual a 0 como se indica a continuación

$$t(2a - 3bt) = 0,$$

De este último, es evidente que en  $t = 0$  se localiza el mínimo. Por lo tanto, el tiempo donde ocurre la biomasa máxima está dado por

$$t = \frac{2a}{3b}. \quad (3.3)$$

se sustituye  $t$  (3.3) en la ecuación (3.1) para calcular  $x_{\text{máx}}$

$$x_{\text{máx}} = x_0 + \frac{4}{27} \frac{a^3}{b^2}. \quad (3.4)$$

Posteriormente, se calculó la segunda derivada y se igualó a 0

$$\ddot{x}_\beta(t) = 2a - 6bt, \quad (3.5)$$

$$2a - 6bt = 0,$$

de esta manera se obtuvo el tiempo donde ocurre el punto de inflexión

$$T_{IP} = \frac{1}{3} \frac{a}{b}, \quad (3.6)$$

se sustituye este valor en (3.5) para calcular la máxima tasa de crecimiento ( $\mu_{\text{máx}}$ ), la cual también representa la tangente de la pendiente en el punto de inflexión

$$\mu_{\text{máx}} = \frac{1}{3} \frac{a^2}{b}. \quad (3.7)$$

la altura del punto de inflexión, denotada por  $h$ , se obtuvo al evaluar (3.6) en (3.1) y queda de la siguiente forma

$$h = x_0 + \frac{2}{27} \frac{a^3}{b^2} = \frac{x_0 + x_{\text{máx}}}{2}, \quad (3.8)$$

por lo tanto, el punto de inflexión obtuvo las siguientes coordenadas

$$PI = \left( \frac{a}{3b}, \frac{x_0 + x_{\text{máx}}}{2} \right).$$

Para encontrar el tiempo de latencia ( $L$ ) se calculó la intersección de la recta tangente del punto de inflexión en el eje “ $t$ ” (Figura 3.1).

De acuerdo a la ecuación de punto pendiente se planteó lo siguiente

$$x_0 - h = \mu_{\text{máx}} (L - T_{IP}), \quad (3.9)$$

despejando  $L$  de la ecuación (3.9) se obtiene el siguiente resultado

$$L = T_{PI} + \frac{x_0 - h}{\mu_{\text{máx}}},$$

reemplazando  $T_{PI}$  y  $h$  por (3.6) y (3.8), respectivamente,  $L$  se reescribe de la siguiente manera

$$L = \frac{a}{3b} - \frac{x_{\text{máx}} - x_0}{2\mu_{\text{máx}}}. \quad (3.10)$$

Las ecuaciones (3.4) y (3.10) relacionan los parámetros de interés con los coeficientes  $a$  y  $b$  de la ecuación (3.1). Se despejó  $a$  de la ecuación (3.10)

$$a = 3b \left( L + \frac{x_{\text{máx}} - x_0}{2\mu_{\text{máx}}} \right), \quad (3.11)$$

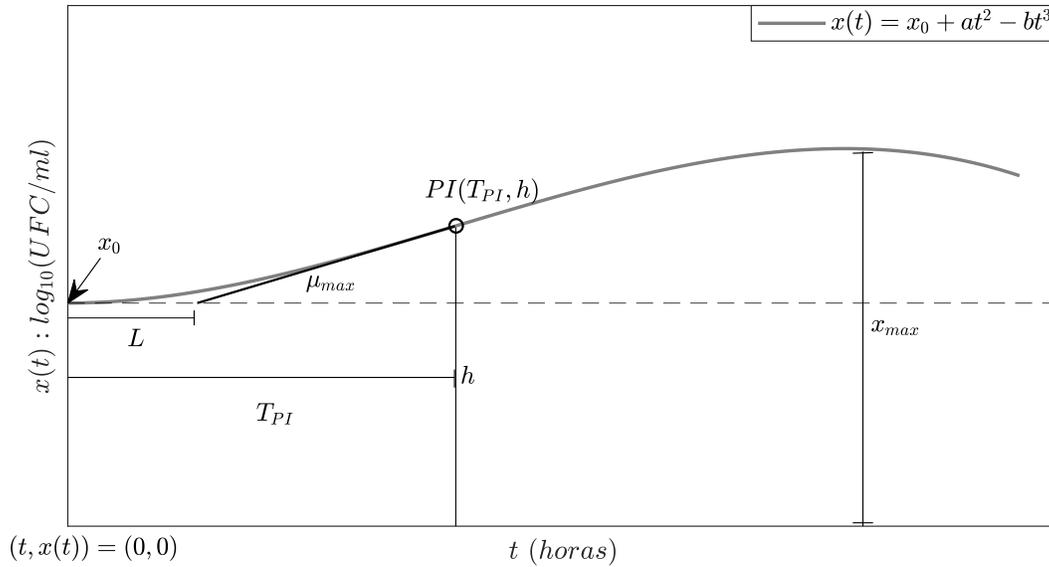


Figura 3.1: Representación gráfica para calcular el parámetro  $L$ .

y se sustituyó en [3.4](#) para encontrar el valor de  $b$  como se indica a continuación

$$b = \frac{x_{\text{máx}} - x_0}{4 \left( L + \frac{x_{\text{máx}} - x_0}{2\mu_{\text{máx}}} \right)^3}, \quad (3.12)$$

una vez hecho esto se sustituyó [3.12](#) nuevamente en [3.11](#) para determinar el valor del coeficiente  $a$

$$a = \frac{3}{4} \frac{x_{\text{máx}} - x_0}{\left( L + \frac{x_{\text{máx}} - x_0}{2\mu_{\text{máx}}} \right)^2}. \quad (3.13)$$

los valores de  $a$  y  $b$ , dados por [3.13](#) y [3.12](#) respectivamente, se sustituyeron en [3.1](#) para expresar el modelo en función de los parámetros  $\Delta x_{\text{máx}}$ ,  $\mu_{\text{máx}}$  y  $L$ . El resultado final se muestra a continuación

$$x_{\beta}(t) = x_0 + \frac{3}{4} \frac{x_{\text{máx}} - x_0}{\left( L + \frac{x_{\text{máx}} - x_0}{2\mu_{\text{máx}}} \right)^2} t^2 - \frac{1}{4} \frac{x_{\text{máx}} - x_0}{\left( L + \frac{x_{\text{máx}} - x_0}{2\mu_{\text{máx}}} \right)^3} t^3. \quad (3.14)$$

### 3.3. Análisis de modelos cinéticos para biomasa

Para realizar el análisis y validación del modelo propuesto [3.14](#), éste comparó con algunos de los modelos más citados en la literatura, los cuales se presentan a continuación:

#### 1. Modelo Gompertz

$$x_G(t) = x_0 + (x_{\text{máx}} - x_0) \exp \left( - \exp \left( 1 + \frac{\mu_{\text{máx}} e}{x_{\text{máx}} - x_0} (L + t) \right) \right); \quad (3.15)$$

## 2. Modelo de Baranyi

$$x_B(t) = x_0 + \mu_{\text{máx}} A(t) - \ln \left( 1 + \frac{e^{\mu_{\text{máx}} A(t)} - 1}{e^{(x_{\text{máx}} - x_0)}} \right), \quad (3.16)$$

donde

$$A(t) = t + \frac{1}{\mu_{\text{máx}}} \ln \left( e^{-\mu_{\text{máx}} t} + e^{-h_0} - e^{-\mu_{\text{máx}} t - h_0} \right) \text{ con } h_0 = \mu_{\text{máx}} L;$$

## 3. Modelo de Vázquez-Murado

$$x_V(t) = x_0 + \frac{x_{\text{máx}} - x_0}{1 + \exp \left( 2 + \frac{4\mu_{\text{máx}}}{x_{\text{máx}} - x_0} (L - t) \right)}. \quad (3.17)$$

Para cada uno de los modelos, los parámetros son

$x_0$ : biomasa inicial,

$x_{\text{máx}}$ : biomasa máxima,

$\mu_{\text{máx}}$ : máxima tasa de crecimiento y

$L$ : tiempo de fase de latencia.

Para realizar la comparación de los modelos, se realizó un muestreo de datos de las ecuaciones de la tabla [3.1](#), estas fueron evaluadas de 0 a 50 horas en un intervalo de 5 horas, con el objetivo de calcular los parámetros de crecimiento de cada una de las 3 cepas. Los parámetros  $x_0$  y  $x_{\text{máx}}$  representan el valor inicial y máximo, respectivamente, de los datos muestrales,  $\mu_{\text{máx}}$  es el valor máximo de los cocientes de la resta de un dato muestral  $S_{i+1}$  y su valor anterior  $S_i$ , dividido por el intervalo de tiempo ( $\Delta t$ ) de las mediciones (5 horas) de la siguiente manera

$$\mu_{\text{max}} = \text{máx} \left[ \frac{S_{i+1} - S_i}{\Delta t} \right],$$

para  $i = 1, \dots, 3$ . La ecuación [3.10](#) fue utilizada para calcular el tiempo de fase de latencia  $L$ .

Dados los datos obtenidos de las funciones de la tabla [3.1](#), se calcularon los parámetros necesarios, los cuales se muestran en la tabla [3.4](#).

Tabla 3.4: Determinación de los valores de parametros para el modelo [\(3.14\)](#) para las 3 cepas de microorganismos.

Cepa	$x_0$	$x_{\text{máx}}$	$\mu_{\text{máx}}$	$L$
$S_1(t)$	1	2.932	0.081	5.675
$S_2(t)$	1	3.073	0.078	6.738
$S_3(t)$	1	2.798	0.074	5.464

### 3.4. Validación del modelo cúbico

Para validar el modelo propuesto, se realizó un análisis estadístico para calcular la capacidad descriptiva del modelo cúbico correspondiente a la ecuación (3.14) y los modelos de Gompertz, Baranyi y Vázquez-Murado. El estadístico utilizado fue el coeficiente de determinación ( $R^2$ ), el cual mide el grado de precisión con el que un modelo no lineal se ajusta a datos observados. Su cálculo se hace con base en la suma de cuadrados de los residuos o varianza residual ( $RSS$ ) y su resultado oscila entre 0 y 1; la capacidad explicativa del modelo es mejor cuanto más se acerca a 1.

La fórmula utilizada para calcular la  $R^2$  se presenta a continuación [47],

$$R^2 = 1 - \frac{SS_{res}}{SS_{tot}}, \quad (3.18)$$

donde  $RSS$  representa la suma de los cuadrados de los residuos y  $TSS$ , la varianza total.

La suma de los cuadrados de los residuos se calcula de la siguiente manera

$$RSS = \sum_{k=0}^n (x_k - x_k(t))^2,$$

mientras que la varianza total está dada por

$$TSS = \sum_{k=0}^n (x_k - \bar{x})^2,$$

donde  $n$  es el número de muestras observadas durante el experimento,  $x_k$  es el  $k$ -ésimo dato experimental,  $x_k(t)$  es la predicción del modelo correspondiente a  $x_k$  y  $\bar{x}$  es el promedio de los datos observados.

Además, se realizaron las pruebas de Criterio de Información de Akaike (AIC) para la selección de modelos, el cual permite determinar cuál modelo se ajusta mejor a los datos observados. Para calcular este valor se considera la bondad de ajuste entre las estimaciones de los modelos y los datos experimentales a través de la  $RSS$ , mientras penaliza a los modelos que cuentan con un mayor número de parámetros, puesto que estos se van haciendo más complejos para su práctica. La fórmula utilizada se muestra a continuación [48],

$$AIC = n \log \left( \frac{RSS}{n} \right) + 2k + \frac{2k(k+1)}{n-k-1} \quad (3.19)$$

donde  $RSS$  representa la suma del cuadrado de los residuos,  $n$  es el número de muestras observadas y  $k$  es el número de parámetros del modelo a analizar. A partir de este cálculo se selecciona el modelo con el valor de AIC más bajo.

La Tabla 3.5 muestra los resultados del coeficiente de determinación de los modelos analizados para las 3 cepas. Para la cepa 1, el modelo cúbico presentó una menor  $RSS$ , 0.006 y, en consecuencia, una  $R^2$  mayor, 0.998, respecto a los modelos de Gompertz, Baranyi y Vázquez-Murado, que obtuvieron una  $RSS$  igual a 1.906, 2.052 y 1.977, y una  $R^2$  igual a 0.622, 0.593 y 0.678, respectivamente. En la cepa 2, todos los modelos

tuvieron un ajuste menor en relación a otras cepas. Sin embargo, el mejor ajuste fue para el modelo cúbico con un  $R^2$  de 0.996, mientras que los modelos Vázquez-Murado de Gompertz obtuvieron ajustes similares con valores de 0.941 y 0.939 respectivamente, por último, Baranyi obtuvo 0.675. Finalmente, para la cepa 3, el valor más alto de  $R^2$  fue para el modelo cúbico, 0.982, seguido por los modelos Gompertz, 0.723, y Vázquez-Murado, 0.710, mientras que el modelo Baranyi, 0.675.

En general, el modelo cúbico presenta un  $R^2$  mucho mayor que el resto de los modelos, con excepción de la cepa 2, donde el modelo Vázquez y Gompertz obtuvieron un buen ajuste también, debido a que los datos muestrales no presentaron una fase de muerte tan pronunciada como las demás cepas en la concentración de biomasa en 50h.

Tabla 3.5: Resultados de  $R^2$  y  $RSS$  de los modelos para cada cepa.

Cepa	Cúbico		Gompertz		Baranyi		Vazquez	
	$R^2$	$RSS$	$R^2$	$RSS$	$R^2$	$RSS$	$R^2$	$RSS$
$S_1(t)$	0.998	0.006	0.622	1.906	0.593	2.052	0.607	1.977
$S_2(t)$	0.996	0.019	0.939	0.373	0.857	0.878	0.941	0.361
$S_3(t)$	0.982	0.074	0.723	1.203	0.675	1.415	0.710	1.260

La Tabla 3.6 muestra los resultados obtenidos de los modelos evaluados para cada cepa. Según estos cálculos, el modelo que mejor se ajusta a los datos es el que tiene el valor de  $AIC$  más bajo. Para la cepa 1, el  $AIC$  más bajo fue para el modelo cúbico con un valor de  $-47.043$ , mientras que los modelos de Gompertz, Baranyi y Vázquez-Murado obtuvieron valores de 4.030, 4.694 y 4.363 en el orden dado. En la cepa 2, el modelo cúbico tuvo el  $AIC$  más bajo, su valor fue  $-37.343$ , el modelo Gompertz y Vázquez-Murado tuvieron resultados relacionados,  $-10.638$  y  $-10.941$  respectivamente, mientras que Baranyi tuvo un valor de  $-2.938$ . El modelo cúbico se ajustó mejor a los datos experimentales de la cepa 3 con un  $AIC$  de  $-25.090$ , seguido de Gompertz con  $-0.109$ , posteriormente Vázquez-Murado con 0.309 y finalmente Baranyi con 1.352.

Tabla 3.6: Resultados de  $AIC$  para cada modelo

Cepa	Cúbico	Gompertz	Baranyi	Vazquez
$S_1(t)$	$-47.043$	4.030	4.694	4.363
$S_2(t)$	$-37.343$	$-10.638$	$-2.938$	$-10.941$
$S_3(t)$	$-25.090$	$-0.109$	1.352	0.309

Después de realizar análisis estadísticos, es evidente que el modelo cúbico propuesto se ajusta mejor a los datos muestrales debido a que fue el que presentó la menor  $RSS$  en general y por lo tanto, tuvo valores

más altos para sus coeficientes de determinación. Por lo tanto, con base en los resultados de los cálculos de  $R^2$  y el Criterio de Información de Akaike, se puede establecer que el modelo cúbico representa mejor el comportamiento de los datos muestrales en general para las cepas estudiadas en las condiciones en las que se implementó la fermentación láctica. Entonces, se puede deducir que el modelo cúbico tiene el valor de  $AIC$  más bajo en promedio para las 3 cepas estudiadas ( $-6.499$ ) en comparación con Gompertz ( $-2.248$ ), Baranyi ( $0.785$ ) y Vázquez-Murado ( $-2.366$ ), por lo que según  $AIC$  parámetro podría seleccionarse como el mejor modelo para describir el comportamiento de la biomasa de las cepas analizadas.

Las Figuras [3.2](#) - [3.5](#) muestran la dinámica del modelo cúbico y su comparación con modelos analizados de la literatura con respecto a los datos experimentales de las 3 cepas,  $S_i(t); i = 1, \dots, 3$ .

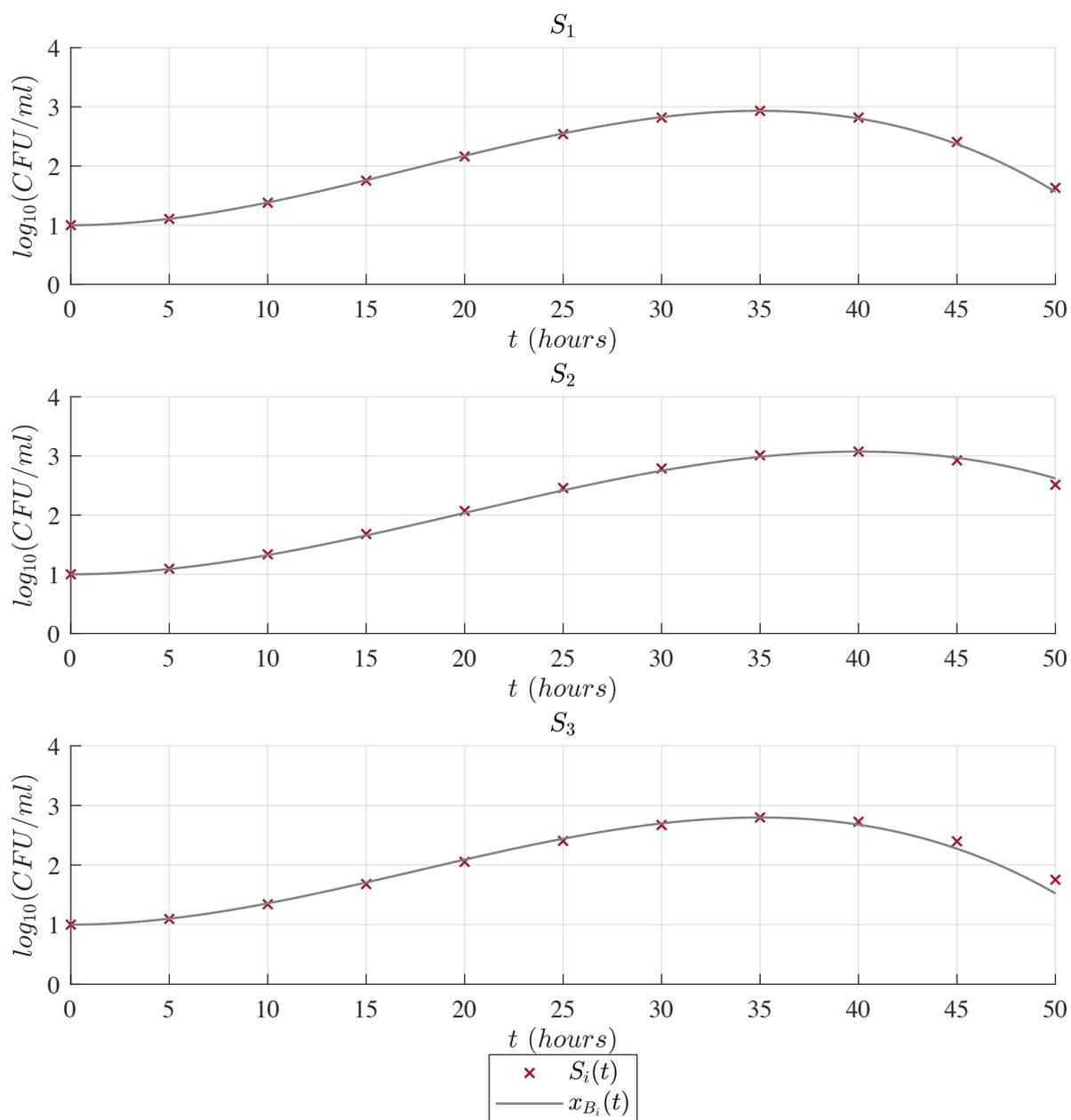


Figura 3.2: Predicciones del modelo cúbico  $x_{\beta}(t)$  comparado con los datos de las funciones temporales  $S_i(t)$

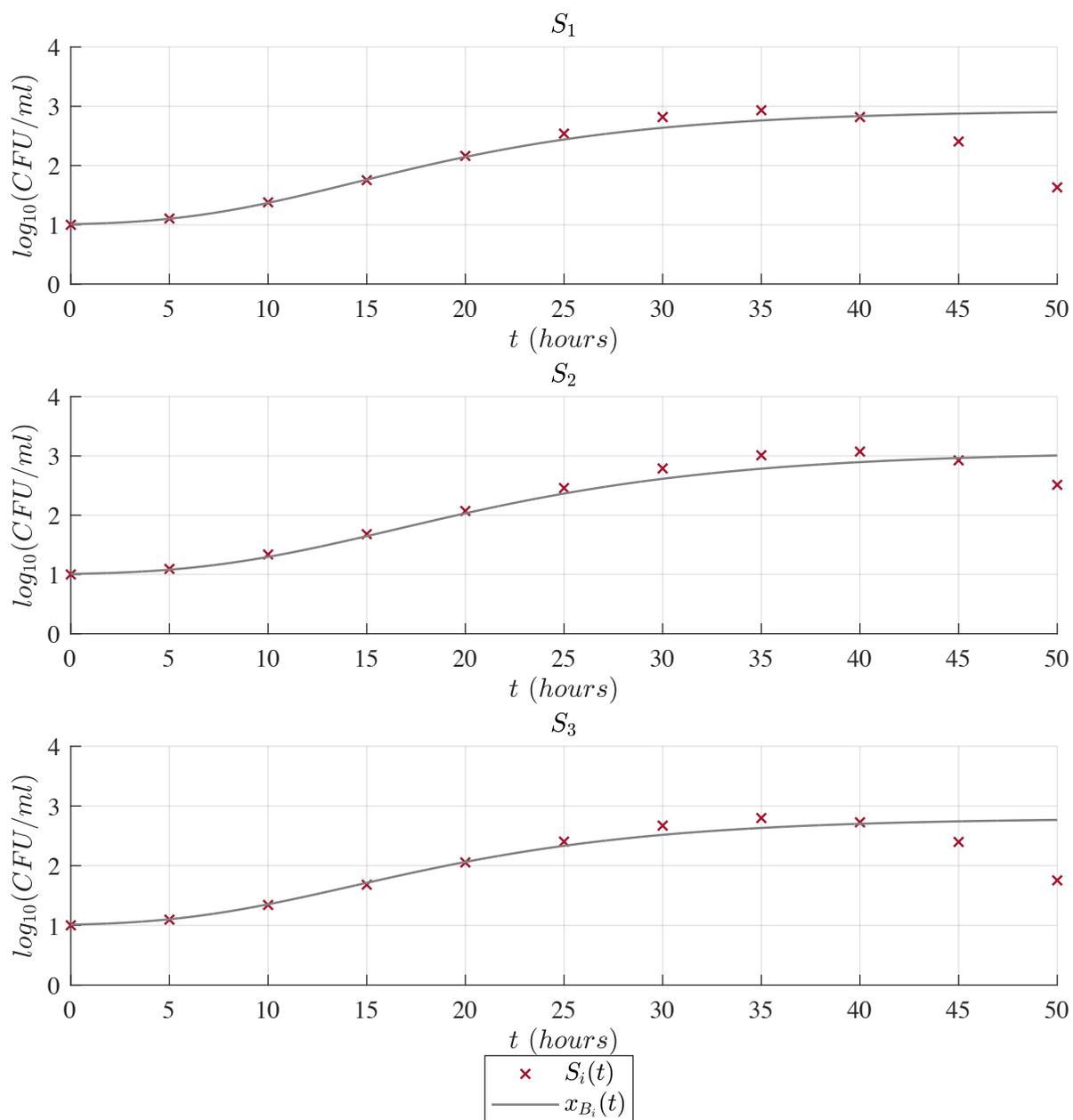


Figura 3.3: Predicciones del modelo de Gompertz  $x_G(t)$  comparado con los datos de las funciones temporales  $S_i(t)$

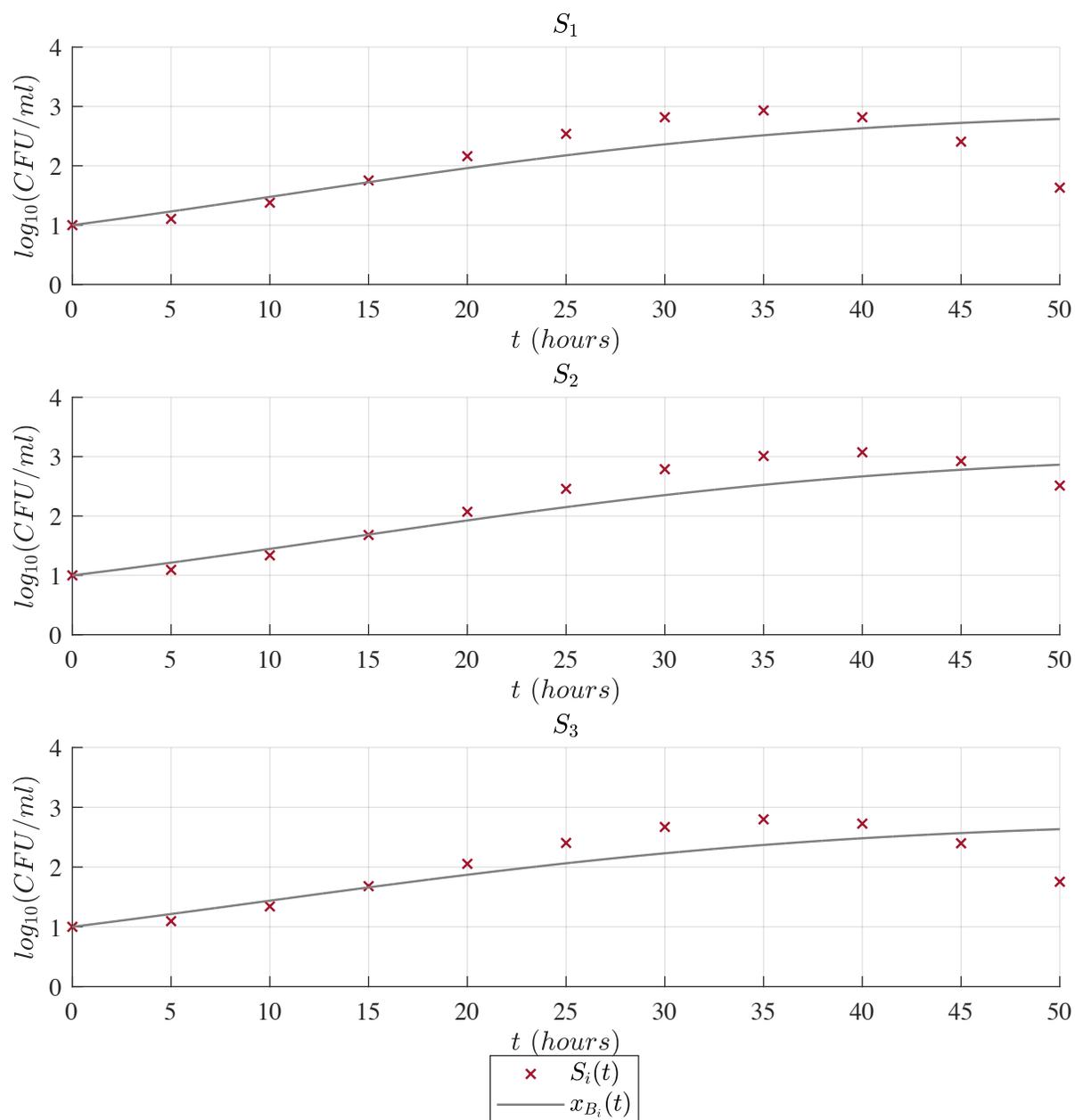


Figura 3.4: Predicciones del modelo de Baranyi  $x_B(t)$  comparado con los datos de las funciones temporales  $S_i(t)$

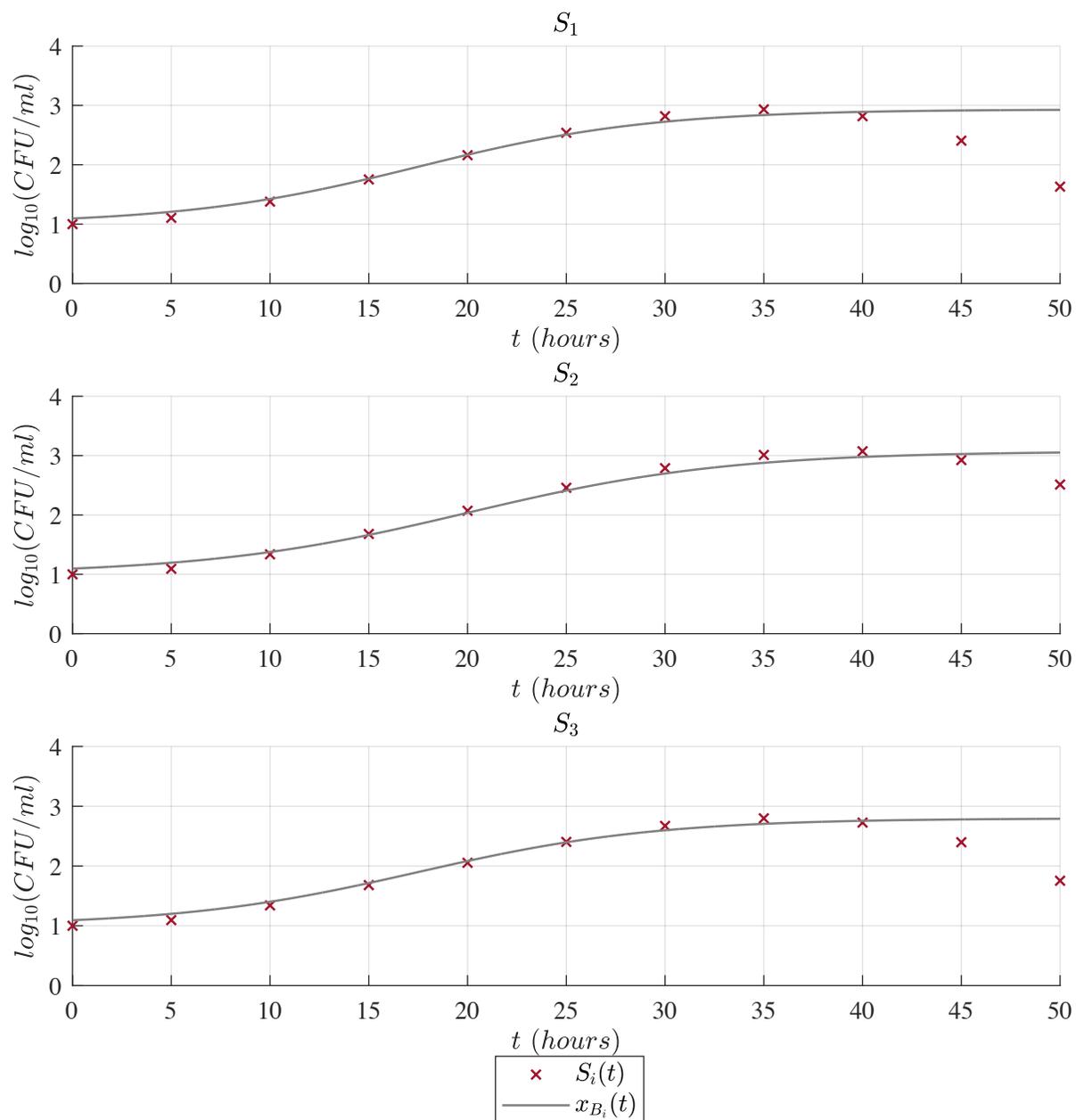


Figura 3.5: Predicciones del modelo de Vázquez-Murado  $x_V(t)$  comparado con los datos de las funciones temporales  $S_i(t)$

Se puede ver en la Figura 3.2 que el modelo cúbico describe las cuatro fases de crecimiento esperadas en la fermentación por lotes, mientras que los modelos de Gompertz (Figura 3.3), Baranyi (Figura 3.4) y Vázquez-Murado (Figura 3.5) solamente describen hasta la fase estacionaria, lo que provocó que la suma de cuadrados de los residuos fuera mayor para estos modelos y, por tanto, los resultados relativos a  $R^2$  y  $AIC$  indican un ajuste más pobre. El tiempo de la fase de retraso fue de alrededor de 5 a 9 horas. El crecimiento máximo de biomasa se alcanzó entre 30 y 36 horas para cada una de las cepas y a partir de ese momento se produjo la fase de muerte.

De acuerdo con las gráficas, se puede observar que el modelo propuesto (3.14) y los modelos de la literatura (3.3) - (3.17) tienen un ajuste con la fase de latencia mostrado por los datos muestrales. En crecimiento exponencial, el modelo de Baranyi está ligeramente por encima de los otros. Sin embargo, este modelo tiene una tasa de crecimiento menor lo que provoca un retraso para alcanzar la concentración máxima, aproximadamente a las 50 horas, mientras que otros modelos alcanzan esta etapa alrededor de las 30 o 40 horas. A partir de este crecimiento máximo de biomasa, los 3 modelos de la literatura permanecen en la fase estacionaria, mientras que los datos experimentales pasan a la fase de muerte, por lo que la suma de cuadrados residuales de estos modelos es mayor que el modelo cúbico, ya que corresponde a los datos observados cuando presentan esta última fase.

### 3.5. Formulación del Sistema de EDOs

Una vez que se validaron las funciones de las Tablas 3.1 – 3.3, a partir de las funciones de la cepa 3 se generaron series de tiempo para la biomasa, la característica química del sustrato y el producto en un intervalo de tiempo de 0.1 horas, dichas series fueron introducidas en un software de modelado para encontrar un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias de primer orden que relacionaran las 3 variables.

Para ello se utilizó un software de modelado llamado Eureka [49]. Dicho software utiliza algoritmos evolutivos para determinar ecuaciones matemáticas que describen conjuntos de datos en su forma más simple. Además, ofrece al usuario la posibilidad de definir la relación deseada entre las variables, así como el formato de la ecuación resultante; es decir, una expresión algebraica, trigonométrica, exponencial, ecuación diferencial o una mezcla de todas ellas.

Después de realizar la búsqueda deseada, proporciona distintas opciones como resultados y muestra datos estadísticos como el coeficiente de determinación ( $R^2$ ), el coeficiente de correlación, el error máximo y error cuadrático medio para cada ecuación, estos datos son empleados para la validación de las ecuaciones resultantes.

Eureka cuenta con una hoja de cálculo donde se organizaron los datos por cada cepa, con las variables

tiempo ( $h$ ), biomasa en  $\log_{10}(UFC/ml)$ , característica química del sustrato y el producto en g/ml, dichas variables fueron representadas por  $t$ ,  $x$ ,  $y$ ,  $z$  respectivamente.

De acuerdo a la literatura, se consideraron varias suposiciones biológicas para la formulación del modelo:

- Las poblaciones de células no crecen exponencialmente de forma indefinida.
- Deben tener límites biológicos factibles y se describen con números no negativos.
- La biomasa tiende a cero a largo plazo si y solo si el medio no está contaminado y la temperatura es constante.

Con base en estas suposiciones, la ley de crecimiento logístico,  $\dot{x} = kx(1 - bx)$ , la ley de acción de masas,  $\dot{x} = xy$ , y la positividad de sistemas dinámicos se formuló el sistema de EDOs para describir la dinámica de las variables de interés.

Por lo tanto, se definió la búsqueda en Eureka de la siguiente manera

$$D(x, t, 1) = \text{abs}(f0())x - \text{abs}(f1())x^2 - \text{abs}(f2())xy^2 - \text{abs}(f3())xz^2$$

$$D(y, t, 1) = \text{abs}(f0())y - \text{abs}(f1())y^2 - \text{abs}(f2())yz$$

$$D(z, t, 1) = \text{abs}(f0())z - \text{abs}(f1())z^2 - \text{abs}(f2())xz$$

Los resultados obtenidos se muestran a continuación

$$\dot{x} = \alpha x - \beta x^2 - \gamma xy^2 - \tau xz^2, \quad (3.20)$$

$$\dot{y} = \delta y - \vartheta y^2 - \rho yz, \quad (3.21)$$

$$\dot{z} = \sigma z - \varphi z^2 - \omega xz, \quad (3.22)$$

donde  $x(t)$  representa la biomasa en  $\log_{10}(UFC/ml)$ ,  $y(t)$  la característica química del sustrato y  $z(t)$  el producto en g/ml.

En la Tabla [3.7](#) se muestran los valores numéricos de los parámetros que fueron ajustados a través de Eureka para la cepa 3.

Para medir la precisión con la que las soluciones del sistema [\(3.20\)](#) – [\(3.22\)](#) fueron capaces de describir los datos evaluados de las funciones de la cepa 3, se calculó el coeficiente de determinación [\(3.18\)](#). Los resultados se muestran en la Tabla [3.8](#). Se puede observar que para todas las variables se alcanzaron valores superiores de  $R^2$  de 0.95, lo cual indica un buen ajuste por parte del modelo a los datos observados.

Tabla 3.7: Valores de los parámetros del sistema de EDOS para la cepa 3

Parámetro	Valor
$\alpha$	$2.29 \times 10^{-1}$
$\beta$	$1.61 \times 10^{-2}$
$\gamma$	$5.62 \times 10^{-3}$
$\tau$	$2.62 \times 10^{-3}$
$\delta$	$3.96 \times 10^{-2}$
$\vartheta$	$9.23 \times 10^{-3}$
$\rho$	$8.12 \times 10^{-4}$
$\sigma$	$6.46 \times 10^{-2}$
$\varphi$	$5.88 \times 10^{-3}$
$\omega$	$6.38 \times 10^{-15}$

Tabla 3.8: Resultados de  $R^2$  para el sistema (3.20) - (3.22)

Solución	$R^2$
$x(t)$	0.983
$y(t)$	0.982
$z(t)$	0.996

### 3.6. Positividad del sistema

Para comprobar la positividad del conjunto de EDOs y con base en el lema de positividad de sistemas dinámicos:

$$P \forall x \in \partial R_{+,0}^n \mid x = 0 \Rightarrow f(x) \geq 0.$$

se evaluó el sistema (3.20) - (3.22), respectivamente, en  $x = 0$ ,  $y = 0$  y  $z = 0$ . Los resultados se muestran a continuación:

$$\dot{x}|_{x=0} = \alpha(0) - \beta(0)^2 - \gamma(0)y^2 - \tau(0)z^2 = 0,$$

$$\dot{y}|_{y=0} = \delta(0) - \vartheta(0)^2 - \rho(0)z = 0,$$

$$\dot{z}|_{z=0} = \sigma z(0) - \varphi(0)^2 - \omega x(0) = 0.$$

Esto implica que las soluciones del sistema solo tendrán valores reales no negativos para las condiciones iniciales no negativas. Por lo tanto, podemos formular la siguiente declaración.

**Resultado. Positividad de trayectorias.** Cualquier semitrayectoria del sistema (3.20) - (3.22) será positivamente invariante hacia adelante en octante no negativo  $R_{+,0}^3$  para todo  $t \in [0, \infty)$ . Por lo tanto,

el dominio se da de la siguiente manera:

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

### 3.7. Dominio de localización

Se aplicó el método de Localización de Conjuntos Compactos Invariantes (LCCI) para analizar la dinámica global del sistema y calcular los límites de un dominio acotado, para este caso en  $R_{+,0}^3$ .

Primero, se propone la función localizadora

$$h_1(x) = x,$$

al calcular su derivada de Lie se obtiene

$$L_f h_1 = \alpha x - \beta x^2 - \gamma x y^2 - \tau x z^2,$$

a partir de la cual se define el conjunto

$$S(h_1) = \{L_f h_1 = 0\},$$

y se puede escribir de la siguiente forma

$$S(h_1) = \left\{ x = \frac{\alpha}{\beta} - \frac{\gamma}{\beta} y^2 - \frac{\tau}{\beta} z^2 \right\} \cup \{x = 0\},$$

por lo que, los límites de  $x(t)$  se definen en el siguiente conjunto

$$K(h_1) = \left\{ 0 \leq x(t) \leq x_{sup} = \frac{\alpha}{\beta} \right\}.$$

La segunda función localizadora está dada por

$$h_2(y) = y,$$

entonces, su derivada de Lie se presenta a continuación

$$L_f h_2 = \delta y - \vartheta y^2 - \rho y z,$$

y se define el conjunto

$$S(h_2) = \{L_f h_2 = 0\},$$

el cual se escribe como

$$S(h_2) = \left\{ y = \frac{\delta}{\vartheta} - \frac{\rho}{\vartheta} z \right\} \cup \{y = 0\},$$

por lo tanto, los límites de  $y(t)$  se definen en el siguiente conjunto

$$K(h_2) = \left\{ 0 \leq y(t) \leq y_{sup} = \frac{\delta}{\vartheta} \right\}.$$

La tercera función localizadora está dada por

$$h_3(z) = z,$$

la cual, al calcular su derivada de Lie se obtiene

$$L_f h_3 = \sigma z - \varphi z^2 - \omega x z,$$

con base en lo anterior se define el conjunto

$$S(h_3) = \{L_f h_3 = 0\},$$

y se obtiene lo siguiente

$$S(h_3) = \left\{ z = \frac{\sigma}{\varphi} - \frac{\omega}{\varphi} x \right\} \cup \{z = 0\},$$

los límites de  $z(t)$  se definen en el conjunto

$$K(h_3) = \left\{ 0 \leq z(t) \leq z_{sup} = \frac{\sigma}{\varphi} \right\}.$$

Entonces, con base en los resultados de esta sección se establece lo siguiente:

**Resultado. Dominio de localización.** *Todos los conjuntos compactos invariantes del sistema (3.20) - (3.22) se encuentran ubicados en el dominio de localización definido a continuación:*

$$K_{xyz} = K(h_1) \cap K(h_2) \cap K(h_3).$$

### 3.8. Existencia y unicidad

Ahora, se analiza la existencia y unicidad de todas las soluciones del sistema de EDO's (3.20) - (3.22). Esta propiedad implica que un sistema debe tener una solución única para cada condición inicial. Por lo tanto, en aras de la simplicidad, se define lo siguiente

$$\begin{aligned} f_1 &= \alpha x - \beta x^2 - \gamma x y^2 - \tau x z^2, \\ f_2 &= \delta y - \vartheta y^2 - \rho y z, \\ f_3 &= \sigma z - \varphi z^2 - \omega x z, \end{aligned}$$

donde  $f_i(t, \Lambda)$ ,  $i = 1, \dots, 3$  y  $\Lambda = [x, y, z]^T$ . Se calcula la matriz Jacobiana,  $[\partial f / \partial \Lambda](t, \Lambda)$  del sistema (3.20) - (3.22), los resultados se muestran a continuación

$$J = \begin{bmatrix} \alpha - 2\beta x - \gamma y - \tau z^2 & -2\gamma xy & -2\tau xz \\ 0 & \delta - 2\vartheta y - \rho z & -\rho y \\ -\omega z & 0 & \sigma - 2\varphi z - \omega x \end{bmatrix} \quad (3.23)$$

Y es evidente que ambos  $f_i(t, \Lambda)$  y  $[\partial f / \partial \Lambda](t, \Lambda)$  son continuos y existen en un dominio  $[t_0, t_1] \times K_{xyz}$ , con  $[t_0, t_1] \in [t_0, \infty)$ . Lo anterior implica que  $f_i(t, \Lambda)$  es localmente Lipschitz en  $\Lambda$  para  $[t_0, t_1] \times K_{xyz}$  donde  $K_{xyz} \subset R_{+,0}^3$ , ver Lema de Existencia y Unicidad. Además, según las condiciones del resultado del dominio de localización, cada elemento de  $J$  está acotado. Por tanto, se concluye lo siguiente.

**Resultado. Existencia y unicidad local.** *Hay una constante de Lipschitz  $L \geq 0$  tal que  $\|[\partial f / \partial \Lambda](t, \Lambda)\| \leq L$  en  $[t_0, t_1] \times K_{xyz}$ . Entonces,  $f_i(t, \Lambda)$  satisface la condición de Lipschitz*

$$\|f(t, x_1) - f(t, x_2)\| \leq L \|x_1 - x_2\|,$$

y existe alguna  $r > 0$  tal que el sistema (3.20) - (3.22), dado como  $\dot{\Lambda} = f_i(t, \Lambda)$  con  $\Lambda(t_0) = \Lambda_0$ , tiene una única solución sobre  $[t_0, t_0 + r]$ .

### 3.9. Puntos de equilibrio

Mediante métodos computacionales se determinó que el sistema (3.20) - (3.22) tiene 10 puntos de equilibrio, las coordenadas de estos puntos se indican a continuación

$$\begin{aligned} (x_1, y_1, z_1) &= (0, 0, 0) \\ (x_2, y_2, z_2) &= \left( \frac{\alpha}{\beta}, 0, 0 \right) \\ (x_3, y_3, z_3) &= \left( 0, \frac{\delta}{\vartheta}, 0 \right) \\ (x_4, y_4, z_4) &= \left( 0, 0, \frac{\sigma}{\varphi} \right) \\ (x_5, y_5, z_5) &= \left( 0, -\frac{1}{\varphi\vartheta} (\rho\sigma - \delta\varphi), \frac{\sigma}{\varphi} \right) \\ (x_6, y_6, z_6) &= \left( \frac{1}{\omega} (\sigma - \varphi\zeta), 0, \zeta \right) \\ (x_7, y_7, z_7) &= \left( \frac{1}{\omega} (\sigma + \varphi\rho), 0, -\rho \right) \\ (x_8, y_8, z_8) &= \left( \frac{1}{\beta\vartheta} \left( \alpha\vartheta - \gamma \frac{\delta^2}{\vartheta} \right), \frac{\delta}{\vartheta}, 0 \right) \\ (x_9, y_9, z_9) &= \left( \frac{1}{\omega} (\sigma - \varphi\chi), \frac{1}{\vartheta} (\delta - \rho\chi), \chi \right) \\ (x_{10}, y_{10}, z_{10}) &= \left( \frac{1}{\omega} (\sigma - \varphi\eta), \frac{1}{\vartheta} (\delta - \rho\eta), \eta \right) \end{aligned}$$

donde:

$$\begin{aligned}\zeta &= \frac{\sqrt{\beta^2\varphi^2 + 4\alpha\tau\omega^2 - 4\sigma\beta\tau\omega} + \beta\varphi}{2\tau\omega} \\ \varrho &= \frac{\sqrt{\beta^2\varphi^2 + 4\alpha\tau\omega^2 - 4\sigma\beta\tau\omega} - \beta\varphi}{2\tau\omega} \\ \chi &= \frac{\vartheta\sqrt{\beta^2\varphi^2\vartheta^2 + 4\rho^2\alpha\gamma\omega^2 + 4\alpha\tau\vartheta^2\omega^2 - 4\tau\gamma\delta^2\omega^2 - 4\rho^2\sigma\beta\gamma\omega - 4\sigma\beta\tau\vartheta^2\omega + 4\rho\beta\gamma\delta\varphi\omega} + \beta\varphi\vartheta^2 + 2\rho\gamma\delta\omega}{2\rho^2\gamma\omega + 2\tau\vartheta^2\omega} \\ \eta &= \frac{-\vartheta\sqrt{\beta^2\varphi^2\vartheta^2 + 4\rho^2\alpha\gamma\omega^2 + 4\alpha\tau\vartheta^2\omega^2 - 4\tau\gamma\delta^2\omega^2 - 4\rho^2\sigma\beta\gamma\omega - 4\sigma\beta\tau\vartheta^2\omega + 4\rho\beta\gamma\delta\varphi\omega} + \beta\varphi\vartheta^2 + 2\rho\gamma\delta\omega}{2\rho^2\gamma\omega + 2\tau\vartheta^2\omega}\end{aligned}$$

De acuerdo a los valores de los parámetros para la cepa 5 (Tabla 3.7), los valores numéricos de los puntos de equilibrio son los siguientes

$$\begin{aligned}(x_1, y_1, z_1) &= (0, 0, 0) \\ (x_2, y_2, z_2) &= (14.245, 0, 0) \\ (x_3, y_3, z_3) &= (0, 4.295, 0) \\ (x_4, y_4, z_4) &= (0, 0, 11) \\ (x_5, y_5, z_5) &= (0, 3.327, 11) \\ (x_6, y_6, z_6) &= (-5.196 \times 10^{26}, 0, 5.6448 \times 10^{13}) \\ (x_7, y_7, z_7) &= (-5.489, 0, 11) \\ (x_8, y_8, z_8) &= (7.797, 4.295, 0) \\ (x_9, y_9, z_9) &= (-5.1118 \times 10^{26}, -4.8883 \times 10^{12}, 5.5526 \times 10^{13}) \\ (x_{10}, y_{10}, z_{10}) &= (-9.357, 3.3272, 11)\end{aligned}$$

estos valores se evaluaron en la matriz jacobiana (3.23) como se muestra a continuación para obtener sus valores propios

$$J = \begin{bmatrix} \alpha - 2\beta x - \gamma y - \tau z^2 & -2\gamma xy & -2\tau xz \\ 0 & \delta - 2\vartheta y - \rho z & -\rho y \\ -\omega z & 0 & \sigma - 2\varphi z - \omega x \end{bmatrix}_{x=x^*, y=y^*, z=z^*}$$

sus valores propios  $(\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3)$  correspondientes son:

$$\begin{aligned}
 (x_1, y_1, z_1) &= (0.039652, 0.064648, 0.22907) \\
 (x_2, y_2, z_2) &= (-0.22907, 0.039652, 0.064648) \\
 (x_3, y_3, z_3) &= (0.12539, -0.039652, 0.064648) \\
 (x_4, y_4, z_4) &= (-0.064648, -0.088271, 0.030713) \\
 (x_5, y_5, z_5) &= (-0.030713, -0.064648, -0.15047) \\
 (x_6, y_6, z_6) &= (8.3566 \times 10^{24}, 3.3175 \times 10^{11}, -4.5873 \times 10^{10}) \\
 (x_7, y_7, z_7) &= (0.088271, -0.064648, 0.030713) \\
 (x_8, y_8, z_8) &= (-0.12539, -0.039652, 0.064648) \\
 (x_9, y_9, z_9) &= (8.2201 \times 10^{24}, 3.1388e \times 10^{11}, 4.6913 \times 10^{10}) \\
 (x_{10}, y_{10}, z_{10}) &= (0.15047, -0.064648, -0.030713)
 \end{aligned}$$

De acuerdo al método indirecto de Lyapunov, un punto de equilibrio es asintóticamente estable si todos los valores propios satisfacen  $Re\lambda_1 < 0$ . El único punto que cumple con esta condición es  $(x_4, y_4, z_4)$  ya que sus valores propios son reales. Por lo tanto, se considera como el único punto de equilibrio biológicamente factible

$$x^*, y^*, z^* = 0, \frac{1}{\varphi\vartheta} (\delta\varphi - \rho\sigma), \frac{\sigma}{\varphi}. \quad (3.24)$$

Sus respectivos valores numéricos son los siguientes

$$x^* = 0, y^* = 3.32, z^* = 11,$$

y sus valores propios están dados por

$$\lambda_1 = -0.030713, \lambda_2 = -0.064648, \lambda_3 = -0.15047.$$

Por consiguiente, se obtiene el siguiente resultado.

**Resultado. Estabilidad asintótica local.** *El único punto de equilibrio biológicamente factible del Sistema (3.20) - (3.22) dado por  $(x^*, y^*, z^*) = \left(0, \frac{1}{\varphi\vartheta} (\delta\varphi - \rho\sigma), \frac{\sigma}{\varphi}\right)$  es asintóticamente estable localmente.*

### 3.10. Simulaciones numéricas

Finalmente, se realizaron simulaciones numéricas para ilustrar las soluciones  $x(t)$ ,  $y(t)$  y  $z(t)$  del sistema (3.20) - (3.22) y de los datos experimentales de la cepa 3 en el intervalo de tiempo  $t \in [0, 50]$ .

En la figura 3.6, se puede apreciar que la función  $x(t)$  describe todas las fases de crecimiento de los microorganismos en proceso de fermentación, como se indica en la literatura. La fase de latencia duró aproximadamente 5 horas y después de este tiempo se presentó el crecimiento exponencial. La fase estacionaria fue muy corta para esta cepa, se encontró en el intervalo de las 30 a las 40 horas y posteriormente entró a la fase de muerte.

Durante el crecimiento de los microorganismos en proceso de fermentación se desarrolló el producto, descrito por  $z(t)$ , el cual provocó la disminución de la característica química del sustrato, descrito por  $y(t)$ . Cuando  $y(t)$  alcanzó un valor de 5.5, comenzó el crecimiento de biomasa y éste cesó cuando el pH llegó a 4.5.

Debido a que el sistema (3.20) - (3.22) es no lineal, no tiene una solución analítica, por lo que se utilizó el método de Euler para generar una solución numérica. Para realizar las simulaciones, se establecieron las siguientes condiciones iniciales:

$$x(0) = 1,$$

$$y(0) = 6,$$

$$z(0) = 1,$$

valores que representan las condiciones iniciales del experimento.

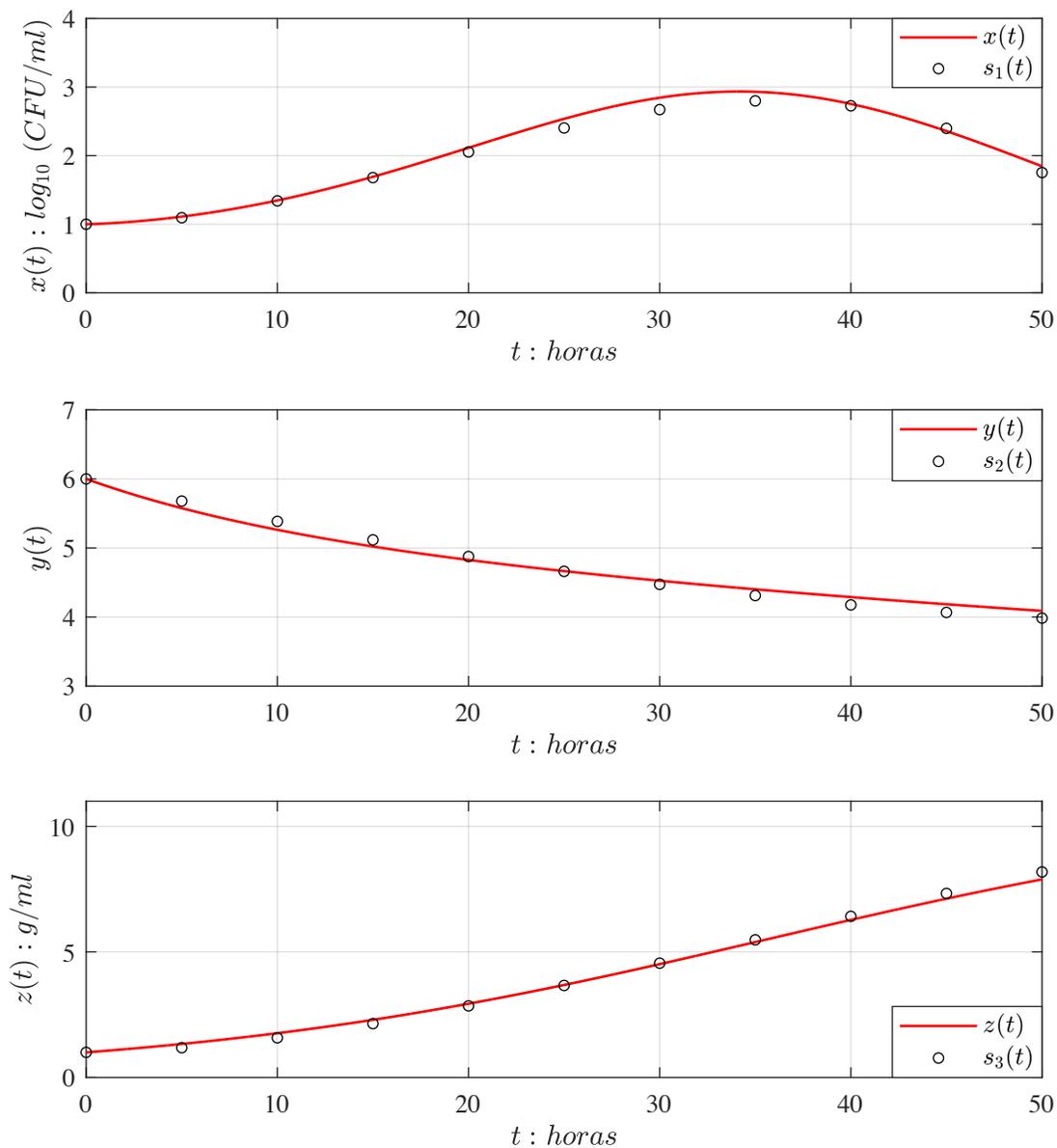


Figura 3.6: Simulaciones numéricas del sistema (3.20) - (3.22) comparados con los datos de las funciones temporales de la cepa 3 durante el proceso de fermentación.

Después se realizaron simulaciones del proceso de fermentación en el intervalo de tiempo  $t \in [0, 100]$ , Figura 3.7. Se puede apreciar que el modelo cumple con la positividad de sistemas no lineales y cuando la biomasa muere se presenta una estabilización del pH y el ácido láctico los cuales se aproximan a los valores de su punto de equilibrio que son 3.42 y 10.22, respectivamente, lo cual es congruente con las suposiciones biológicas consideradas en la formulación del modelo. Tener en cuenta los valores de estas variables cuando la biomasa está en fase de muerte es una herramienta importante que puede predecir la vida útil de los productos lácteos y ayudarnos a asegurar su calidad.

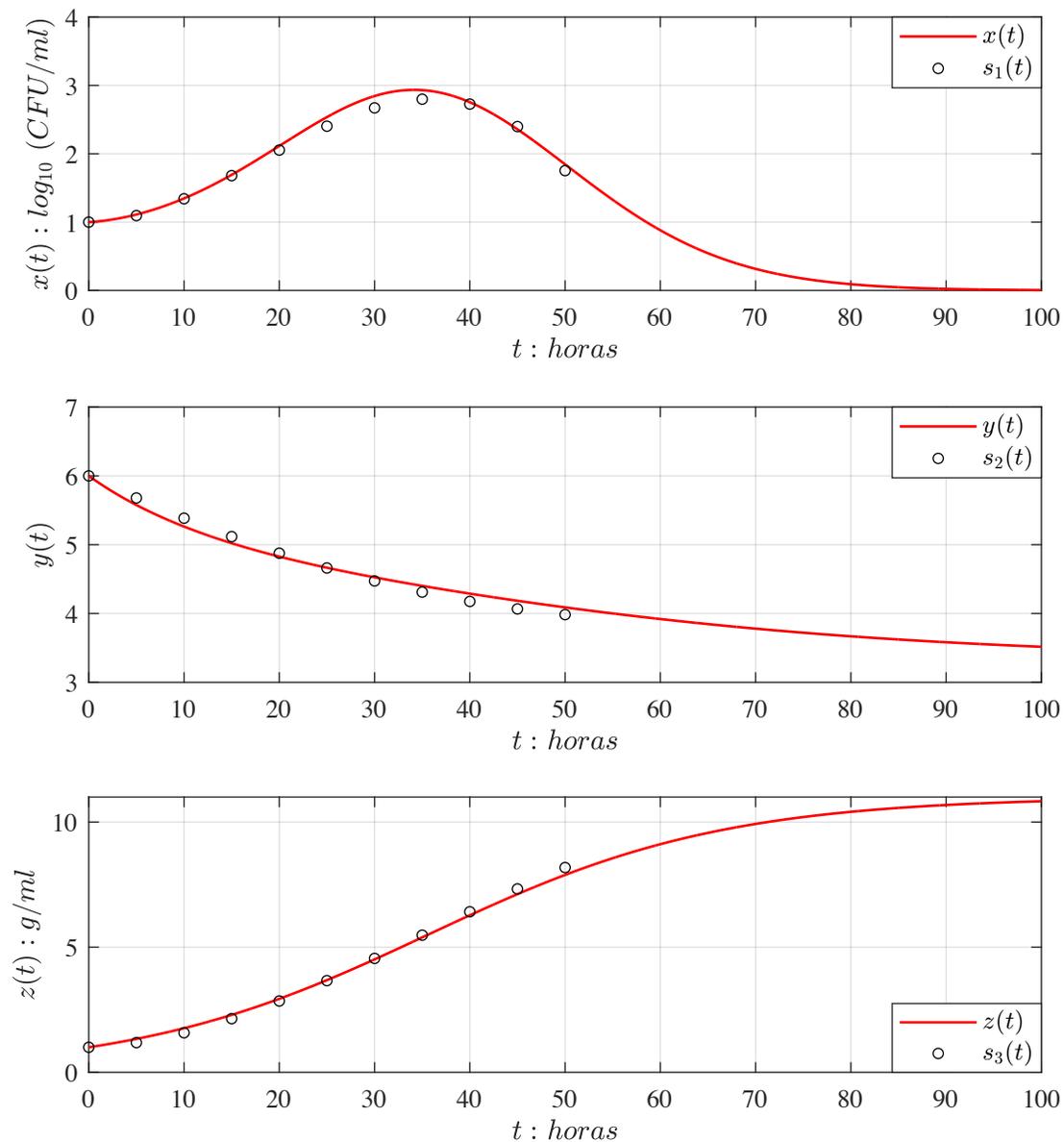


Figura 3.7: .Simulaciones numéricas del sistema (3.20) - (3.22) en el intervalo de tiempo

Para finalizar, con el objetivo de ilustrar la dinámica cualitativa del sistema (3.20) - (3.22), se establecen seis condiciones iniciales diferentes y, como se puede ver en la Figura 3.8, todas las trayectorias van al único punto de equilibrio biológicamente factible dado por las coordenadas (3.24), tal como se indica en el método indirecto de Lyapunov. A continuación, se presentan los 6 conjuntos de condiciones iniciales para realizar la simulación de la Figura 3.8.

$$x_{0_1} = 2, \quad y_{0_1} = 6.84, \quad z_{0_1} = 20.44.$$

$$x_{0_2} = 4, \quad y_{0_2} = 6.84, \quad z_{0_2} = 10.22.$$

$$x_{0_3} = 3, \quad y_{0_3} = 6.84, \quad z_{0_3} = 15.33.$$

$$x_{0_4} = 4, \quad y_{0_4} = 6.84, \quad z_{0_4} = 5.11.$$

$$x_{0_5} = 3.8, \quad y_{0_5} = 3.2, \quad z_{0_5} = 10.2.$$

$$x_{0_6} = 3.5, \quad y_{0_6} = 5, \quad z_{0_6} = 8.$$

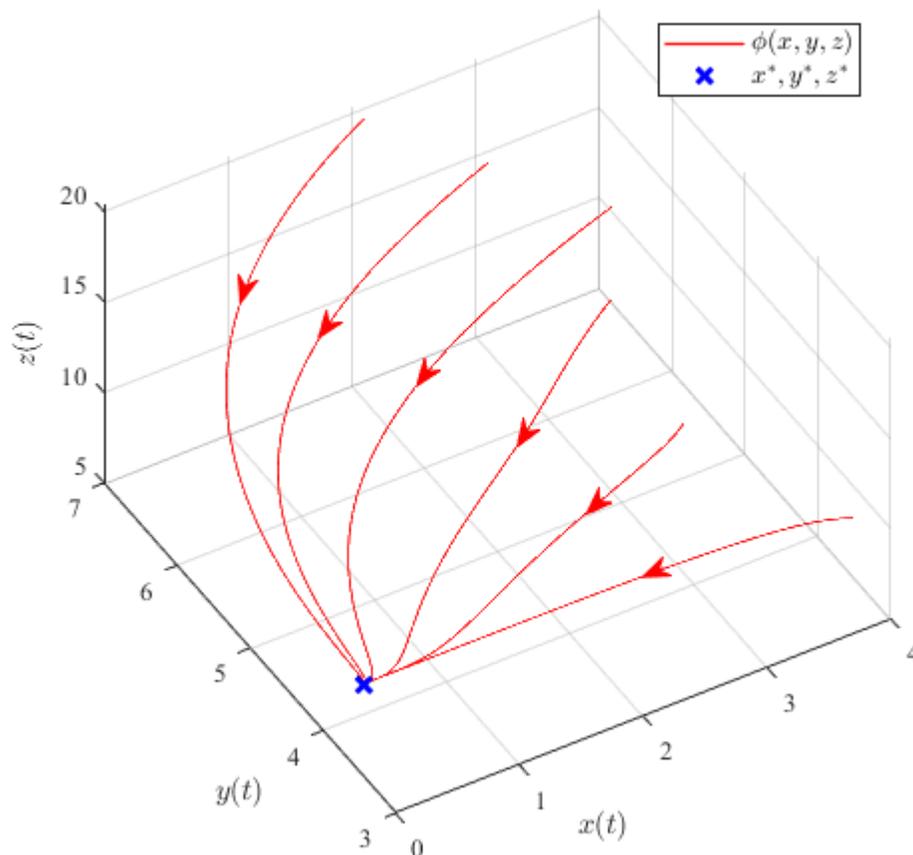


Figura 3.8: Trayectorias del sistema en el plano de fase.

# Capítulo 4

## Conclusiones

Debido a que Durango ocupa uno de los 3 primeros lugares en la producción de lácteos fermentados y al no contar con un proceso de elaboración estandarizado para la producción de leche fresca de tipo jocoque, se formularon modelos matemáticos que describieron la dinámica de las bacterias acidolácticas en función del tiempo y su relación con la variación de la característica química del sustrato y su producto en una fermentación por lotes, ya que estas 3 variables son medidas para evaluar la calidad de fermentación de un producto y la mayoría de los modelos que existen en la literatura solo suelen describir el crecimiento de biomasa y no las demás variables.

A partir de los datos evaluados de las funciones temporales de las 3 cepas de microorganismos en una fermentación por lotes y con un software de modelado matemático, se encontró una expresión algebraica de tercer orden que describió el comportamiento de los microorganismos en función del tiempo durante de proceso de fermentación. Este modelo primario (3.13) logró describir los datos experimentales con una  $R^2$  en promedio de 0.992, cumpliendo de forma satisfactoria con el objetivo de encontrar funciones con un coeficiente de determinación de al menos 95 %. Con base en las funciones temporales se desarrolló el sistema de EDOs (3.18) – (3.20) el cual tuvo mejor ajuste a los datos obtenidos de las tablas (3.1) – (3.3) con una  $R^2$  de 0.983 para la biomasa, 0.982 para la característica química del sustrato y 0.996 para el producto por lo que se pudo cumplir con el objetivo planteado y de esta manera se lograron aplicar las teorías de los sistemas dinámicos para analizar la dinámica local y global del modelo formulado.

Se logró dar un sentido biológico al modelo (3.13) y se representó con los parámetros: concentración inicial de biomasa ( $x_0$ ), tiempo de fase de latencia ( $L$ ), tasa de crecimiento máxima ( $\mu_{max}$ ) y crecimiento máximo ( $x_{max}$ ). El modelo fue capaz de describir las 4 fases de crecimiento de los datos experimentales en una fermentación por lotes (fase de latencia, crecimiento exponencial, estado estacionario y fase de muerte) a diferencia de los modelos más citados en la literatura (3.14) – (3.16) que solo representan las primeras 3. Además, la estructura y dinámica de las soluciones de las ecuaciones (3.18) – (3.20) son consistentes con la literatura en cuanto a su comportamiento, debido a que la fase exponencial de crecimiento de biomasa (24 horas) coincide con la disminución de la característica química del sustrato por debajo de 5.5. Además, la fase de muerte concuerda con la estabilización de esta característica química y la concentración del producto [28]. Por lo tanto, se logró satisfacer la hipótesis planteada.

De acuerdo a los cálculos de la  $R^2$  y el  $AIC$  (tablas 3.5 y 3.6), el modelo cúbico propuesto (3.13) tuvo un mejor ajuste en promedio a los datos evaluados de las funciones de las tablas (3.1) – (3.3) que los modelos de Gompertz, Baranyi y Vázquez-Murado, debido a que estos últimos presentaron una mayor suma de cuadrados de los residuos al no describir los datos experimentales en la fase de muerte. Con respecto al sistema de EDOs (3.18) – (3.20), en las simulaciones numéricas (Figuras 3.10 – 3.12) se pudo ilustrar la positividad del sistema ya que las soluciones cumplen con  $x(t), y(t), z(t) \geq 0$  para  $t \in [0, \infty)$ , propiedad importante ya que el sistema al describir poblaciones de células, éstas no pueden tomar valores negativos. Adicionalmente, mediante el método de localización de conjuntos invariantes compactos, fue posible definir los límites inferior y superior de un dominio de localización, donde se ubican todos los conjuntos compactos invariantes que el sistema pueda presentar, lo que concuerda con la literatura, puesto que las 3 variables no pueden crecer de forma exponencialmente indefinida, por lo tanto, deben tener límites en su comportamiento. El sistema cumplió con la propiedad de existencia y unicidad y se comprobó la estabilidad asintótica del sistema mediante el cálculo de sus puntos de equilibrio y valores propios.

El propósito del modelo es proporcionar a la industria alimentaria una herramienta que ayude a predecir la concentración de biomasa, la variación de la característica química del sustrato y el producto de siempre que la fermentación de la leche se produzca en determinadas condiciones específicas. Además, se espera que el modelo matemático permita determinar a priori cuáles serán los resultados del producto obtenido, además si se modifica alguna de las variables involucradas en el modelo. Esta situación ayuda a mejorar el sector de los procesos alimentarios donde se utilizan microorganismos en procesos de fermentación.

Como trabajo futuro, se pretende explorar diferentes estrategias de control para mantener las variables interesadas en los valores deseados y tener una estandarización del producto que satisfaga los estándares de calidad de fermentación. Sin olvidar que los modelos matemáticos simplifican el sistema biológico, lo que representa un compromiso en su uso.

# Referencias

- [1] **Mandigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D. and Stahl, D.**, Brock. Biology of microorganisms, Boston, 14th edn., 2015.
- [2] *NORMA Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios*, <https://la.mathworks.com/help/signal/examples/signal-smoothing.html>, 2014, Último acceso: 01/06/2021.
- [3] **Ramirez Ramirez, J. C., Rosas Ulloa, P., Velazquez Gonzalez, M. Y., Ulloa, J. A., Arce Romero, F. and Others**, *Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud*, CONACYT, 2011.
- [4] **Valbuena, E., Barreiro, J., Sánchez, E., Castro, G., Bríñez, W. and Tovar, A.**, *Modelos cinéticos aplicados al crecimiento de Lactococcus lactis subsp. lactis en leche*, Revista Científica, Vol. 15, No. 5, pp. 464–475, 2005.
- [5] **Giraud, E., Lelong, B. and Raimbault, M.**, *Influence of pH and initial lactate concentration on the growth of Lactobacillus plantarum*, Applied Microbiology and Biotechnology, Vol. 36, No. 1, pp. 96–99, 1991.
- [6] **Luedeking, R. and Piret, E. L.**, *Kinetic study of the lactic acid fermentation. Batch process at controlled pH*, Biotechnology and Bioengineering, Vol. 67, No. 6, pp. 636–644, 2000.
- [7] **da Silva, A. P. R., Longhi, D. A., Dalcanton, F. and de Aragao, G. M. F.**, *Modelling the growth of lactic acid bacteria at different temperatures*, Brazilian Archives of Biology and Technology, Vol. 61, 2018.
- [8] **Dalcanton, F., Carrasco, E., Pérez-Rodríguez, F., Posada-Izquierdo, G. D., Falcão De Aragão, G. M. and García-Gimeno, R. M.**, *Modeling the Combined Effects of Temperature, pH, and Sodium Chloride and Sodium Lactate Concentrations on the Growth Rate of Lactobacillus plantarum ATCC 8014*, Journal of Food Quality, Vol. 2018, pp. 10, 2018.
- [9] **Passos, F. V., Fleming, H. P., Ollis, D. F., Hassan, H. M. and Felder, R. M.**, *Modeling the specific growth rate of Lactobacillus plantarum in cucumber extract*, Applied Microbiology and Biotechnology, Vol. 40, No. 1, pp. 143–150, 1993.
- [10] **Drosinos, E. H., Mataragas, M. and Metaxopoulos, J.**, *Modeling of growth and bacteriocin production by Leuconostoc mesenteroides E131*, Meat Science, Vol. 74, No. 4, pp. 690–696, 2006.

- [11] **Passos, F., Fleming, H., Ollis, D., Felder, M. and McFeeters, R.**, *Kinetics and Modeling of Lactic Acid Production by Lactobacillus plantarum*, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 60, No. 7, pp. 2627 – 2636, jul 1994.
- [12] **Baranyi, J., Roberts, T. A. and McClure, P.**, *A non-autonomous differential equation to model bacterial growth*, Food Microbiology, Vol. 10, No. 1, pp. 43–59, 1993.
- [13] **Baranyi, J. and Roberts, T.**, *A dynamic approach to predicting bacterial growth in food*, International Journal of Food Microbiology, Vol. 23, pp. 277–294, 1994.
- [14] **Nicolai, B., Van Impe, J. F., Verlinden, B., Martens, T., Vandewalle, J. and De Baerdemaeker, J.**, *Predictive modelling of surface growth of lactic acid bacteria in vacuum-packed meat*, Food Microbiology, Vol. 10, pp. 229–238, 1993.
- [15] **Vázquez, J. A. and Murado, M. A.**, *Unstructured mathematical model for biomass, lactic acid and bacteriocin production by lactic acid bacteria in batch fermentation*, Journal of Chemical Technology & Biotechnology, Vol. 83, No. 1, pp. 91–96, 2008.
- [16] **Vereecken, K. M., Devlieghere, F., Bockstaele, A., Debevere, J. and Van Impe, J. F.**, *A model for lactic acid-induced inhibition of Yersinia enterocolitica in mono- and coculture with Lactobacillus sakei*, Food Microbiology, Vol. 20, No. 6, pp. 701–713, 2003.
- [17] **Antwi, M., Bernaerts, K., Van Impe, J. F. and Geeraerd, A. H.**, *Modelling the combined effects of structured food model system and lactic acid on Listeria innocua and Lactococcus lactis growth in mono- and coculture*, International Journal of Food Microbiology, Vol. 120, No. 1-2, pp. 71–84, nov 2007.
- [18] **Doßmann, M. U., Vogel, R. F. and Hammes, W. P.**, *Mathematical description of the growth of Lactobacillus sake and Lactobacillus pentosus under conditions prevailing in fermented sausages*, Applied Microbiology and Biotechnology, Vol. 46, No. 4, pp. 334–339, 1996.
- [19] **Bello, J. and Sanchez-Fuertes, M. A.**, *Application of a mathematical model to describe the behaviour of the Lactobacillus spp. during the ripening of a Spanish dry fermented sausage (Chorizo)*, International Journal of Food Microbiology, Vol. 27, No. 2-3, pp. 215–227, 1995.
- [20] **Kedia, G., Vázquez, J. A. and Pandiella, S. S.**, *Evaluation of the fermentability of oat fractions obtained by debranning using lactic acid bacteria*, Journal of Applied Microbiology, Vol. 105, No. 4, pp. 1227–1237, 2008.

- [21] Vereecken, K. and Van Impe, J., *Analysis and practical implementation of a model for combined growth and metabolite production of lactic acid bacteria*, International Journal of Food Microbiology, Vol. 73, No. 2-3, pp. 239–250, 2002.
- [22] Buchanan, R. L., Whiting, R. C. and Damert, W. C., *When is simple good enough: A comparison of the Gompertz, Baranyi, and three-phase linear models for fitting bacterial growth curves*, Food Microbiology, Vol. 14, No. 4, pp. 313–326, 1997.
- [23] Solano-Cornejo, M. A. and Vidaurre-Ruiz, J. M., *Application of unstructured kinetic models in the lactic fermentation modeling of the fishery by-products*, Scientia Agropecuaria, Vol. 8, No. 4, pp. 367–375, 2017.
- [24] Zwietering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M. and Van't Riet, K., *Modeling of the bacterial growth curve*, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 56, No. 6, pp. 1875–1881, 1990.
- [25] Sheeladevi, A. and Ramanathan, N., *Lactic Acid Production Using Lactic Acid Bacteria under Optimized Conditions*, International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives, Vol. 2, No. 6, pp. 1681–1691, 2012.
- [26] Axelsson, L. and Ahrne, S., *Lactic acid bacteria*, Applied Microbial Systematics, Vol. 81, No. 5, pp. 367–388, 2000.
- [27] Novik, G., Meerovskaya, O. and Savich, V., *Waste degradation and utilization by lactic acid bacteria: use of lactic acid bacteria in production of food additives, bioenergy and biogas*, Food Additives, p. 105, 2017.
- [28] Huertas, R. A. P., *Bacterias ácido lácticas: Papel funcional en los alimentos*, Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial, Vol. 8, No. 1, pp. 93–105, 2010.
- [29] Teshome, G., *Review on lactic acid bacteria function in milk fermentation and preservation*, African Journal of Food Science, Vol. 9, No. 4, pp. 170–175, 2015.
- [30] Adamberg, K., Kask, S., Laht, T. M. and Paalme, T., *The effect of temperature and pH on the growth of lactic acid bacteria: A pH-auxostat study*, International Journal of Food Microbiology, Vol. 85, No. 1-2, pp. 171–183, 2003.
- [31] Mortazavian, A. M., Koushki, M. and Mohammadi, A., *Combined effects of dry matter content, incubation temperature and final pH of fermentation on biochemical and microbiological*

*characteristics of probiotic fermented milk*, African Journal of Microbiology Research, Vol. 4, No. 12, pp. 1265–1274, 2010.

- [32] **Khalil, H. K.**, Nonlinear systems, Prentice-Hall, 3rd edn., 2002.
- [33] **Perko, L.**, Differential equations, dynamical systems, and an introduction to chaos, Springer, 3rd edn., 2001.
- [34] **Hirsch, M. W., Smale, S. and Devaney, R. L.**, Differential equations, dynamical systems, and an introduction to chaos, Academic press, 2012.
- [35] **Garfinkel A., Shevtsov, J. and Guo, Y.**, Modeling life: the mathematics of biological systems, Springer, 2017, doi:<https://doi.org/10.1002/9781118033029>.
- [36] **Farina, L. and Rinaldi, S.**, Positive linear systems: theory and applications, Vol. 50, John Wiley & Sons, 2011, doi:<https://doi.org/10.1007/978-3-319-59731-7>.
- [37] **De Leenheer, P. and Aeyels, D.**, *Stability properties of equilibria of classes of cooperative systems*, IEEE Transactions on Automatic Control, Vol. 46, No. 12, pp. 1996–2001, 2001.
- [38] **Zill D., Wright, W. S. and Cullen, M. R.**, Advanced engineering mathematics, Jones & Bartlett Learning, 2014.
- [39] **Lyapunov, A. M.**, The general problem of the stability of motion, CRC Press, 1992.
- [40] **Krishchenko, A. P.**, *Localization of invariant compact sets of dynamical systems*, Differ Equ, Vol. 41, No. 12, pp. 1669–1676, 2005, doi: <https://doi.org/10.1007/s10625-006-0003-6>.
- [41] **Krishchenko, A. P. and Starkov, K. E.**, *Localization of compact invariant sets of the Lorenz system*, Phys Lett A, Vol. 353, No. 5, pp. 383–388, 2006, doi: <https://doi.org/10.1016/j.physleta.2005.12.104>.
- [42] **Krishchenko, A. P. and Starkov, K. E.**, *Localization of compact invariant sets of nonlinear systems with applications to the Lanford system*, Int J Bifurcat Chaos, Vol. 16, No. 11, pp. 3249–3256, 2006, doi: <https://doi.org/10.1142/S0218127406016768>.
- [43] **Britton, N. F.**, Essential mathematical biology, Springer Science & Business Media, 2012, doi:<https://doi.org/10.1007/978-1-4471-0049-2>.
- [44] **Boccara, N.**, Modeling complex systems, Springer Science & Business Media, 2010.
- [45] **Singh, V. P.**, System modeling and simulation, Vol. I, New Age International, 2009.

- [46] **Murray, J. D.**, *Mathematical Biology I: An Introduction*, Springer-Verlag, 2003.
- [47] **Montgomery, D. C.** and **Runger, G. C.**, *Applied Statistics and Probability for Engineers*, 6th edn., 2013.
- [48] **Burnham, K. P.** and **Anderson, D. R.**, *Multimodel inference: Understanding AIC and BIC in model selection*, *Sociological Methods and Research*, Vol. 33, No. 2, pp. 261–304, 2004.
- [49] *Eureqa, Neutonian Inc.*, <http://52.45.171.32/products/eureqa/trial-onprem/>, 2021, Último acceso: 01/06/2021.

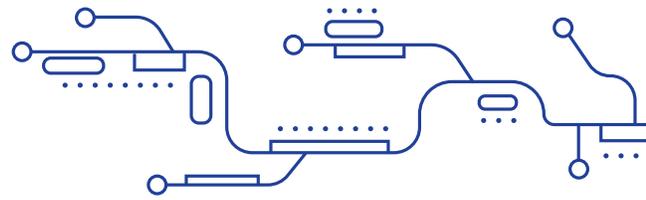
## Apéndice A

# Publicaciones y participaciones en congresos

Rodríguez E., Salazar Y., Valle P. A. Modelizado de la evolución de las bacterias acidolácticas durante la fermentación de leche fresca. Congreso Mexicano de Robótica (COMROB) 2020, 30 de Octubre en Tijuana, B.C., México.

Rodríguez E., Castillo A., Salazar Y., Valle P. A. Dynamic Between Biomass, pH and Acid Lactic by Microorganisms in Fermentation of Fresh Milk. Biomathematics Ecology Education And Research (BEER) 2020, 14 de Noviembre Illinois State University.

Rodríguez E., Valle P. A., Salazar Y. Differential equations system to describe bacterial growth, pH variation and lactic acid production in batch fermentation. Congreso Internacional de Investigación Tijuana (CI2T) 2021, 12 de Mayo en Tijuana, B.C., México.



# La Asociación Mexicana de Robótica e Industria A.C

Otorga el presente reconocimiento a:

*Emmanuel Rodríguez*

Por la presentación del artículo titulado:

“Modelizado de la evolución de las bacterias acidolácticas durante la fermentación de leche fresca”

En el XXII Congreso Mexicano de Robótica

*30 de Octubre de 2020*



---

**Ing. José Guillermo Cardenas López**  
Director del Instituto Tecnológico de Tijuana



---

**Dra. Dora Aydee Rodríguez Vega**  
Presidente de la AMRob



---

**Dr. Luis Néstor Coria de los Ríos**  
Presidente Comité Organizador



# CERTIFICATE *of* PRESENTATION

THIS ACKNOWLEDGES THAT

---

---

## Emmanuel Rodriguez

---

---

FROM Tecnológico Nacional de México/IT Durango  
HAS SUCCESSFULLY PARTICIPATED IN eBEER-2020 with a Poster Presentation

**Dynamic Between Biomass, pH and Acid Lactic by Microorganisms in Fermentation of Fresh Milk**

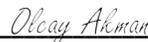
Presented at the Symposium on  
**BIOMATHEMATICS ECOLOGY EDUCATION AND RESEARCH**



**Dr. Aditi Ghosh**  
Co-Organizer,  
University of Wisconsin,  
Whitewater



**Dr. Anuj Mubayi**  
Co-Organizer,  
Illinois State University



**Dr. Olcay Akman**  
Co-Organizer,  
Illinois State University



**Dr. Padmanabhan Seshaiyer**  
Co-Organizer,  
George Mason University





Universidad Autónoma de Baja California  
Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería



# VII CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN TIJUANA

Otorga la presente:

## Constancia

a: **Emmanuel Rodríguez Talavera, Paul Antonio Valle Trujillo, Yolocauhtli Salazar Muñoz**

Por su participación con el trabajo titulado: **“Differential equations system to describe bacterial growth, pH variation and lactic acid production in batch fermentation”**, mediante la presentación oral en el **4th Conference on Computer Science and Computer Engineering (CoCSCE '21)** en el marco del **Congreso Internacional de Investigación Tijuana** que se llevó a cabo del 12 al 13 de mayo del 2021, en la ciudad de Tijuana, B.C., México.

**Dr. Mauricio Alonso Sánchez Herrera**  
Track Chair de CoCSCE '21

**Dr. Eduardo Alberto López Maldonado**  
Coordinador General de CI2T 2021