

Uso del Software Polymath para Regresión de Datos Experimentales

Wisniewski D., Menéndez A.

Universidad Nacional de Lanús, Carrera de Ciencia y Tecnología de los Alimentos.
29 de Septiembre 3901, Remedios de Escalada, Lanús, Provincia de Buenos Aires, Argentina.
Tel.: 054-11-6322-9200 int. 105
email: mgiraudo@unla.edu.ar

Resumen - En el presente trabajo se demuestra el uso del programa de cálculo Polymath para llevar a cabo la regresión de datos experimentales. Estos datos tomados de Cutlip, M. B., Sacham, M. (2010) corresponden a un crecimiento microbiano batch y fueron ajustados al modelo de Monod para la determinación de sus parámetros.

Palabras Clave - Regresión. Polymath. Monod. Cálculo

INTRODUCCIÓN

Se pretende mostrar aquí un procedimiento matemático para ajustar los datos a la ecuación de Monod utilizada en el crecimiento microbiano en condiciones batch. Para ello fue utilizada una regresión no lineal de datos experimentales, Cutlip; Sacham, (2010), con el programa matemático Polymath.

Uno de los modelos más simples para predecir la velocidad de crecimiento microbiano específico, μ_g , se obtiene aplicando la cinética de Michaelis-Menten utilizada para reacciones enzimáticas. Esto da lugar a la ecuación semiempírica de Monod, dada por:

$$\mu_g = \frac{\mu_m \cdot S}{K_s + S} \quad (1)$$

donde μ_m es el valor máximo de la velocidad de crecimiento específico, K_s la constante de saturación y S la concentración del sustrato limitante del crecimiento.

Si se realiza un balance de materia de la biomasa presente en condiciones no estacionarias y en reactor batch se obtiene:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_m \cdot S \cdot X}{K_s + S} \quad (2)$$

donde X es la concentración de biomasa, generalmente expresada en g/dm³ y t el tiempo.

Se puede establecer una relación proporcional entre la concentración celular y la concentración del sustrato dentro del biorreactor, la que estará dada por:

$$X - X_0 = Y_{x/s} \cdot (S_0 - S) \quad (3)$$

donde los valores iniciales tienen el subíndice "0" e $Y_{x/s}$ son los rendimientos máximos de las células basados en el sustrato.

Si en la ecuación (3) se despeja S y se sustituye en la ecuación (2) se obtiene:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_m \cdot (Y_{x/s} \cdot S_0 - X + X_0) \cdot X}{(K_s \cdot Y_{x/s} + Y_{x/s} \cdot S_0 + X_0 - X)} \quad (4)$$

La ecuación anterior se puede integrar y se obtiene la ecuación (5):

$$t = \frac{(K_s \cdot Y_{x/s} + Y_{x/s} \cdot S_0 + X_0) \cdot \ln\left(\frac{X}{X_0}\right) - K_s \cdot Y_{x/s} \cdot \ln\left[\frac{Y_{x/s} \cdot S_0 + X_0 - X}{Y_{x/s} \cdot S_0}\right]}{\mu_m (Y_{x/s} \cdot S_0 + X_0)} \quad (5)$$

que puede describir la relación entre la concentración de células X y el tiempo t de reacción batch.

Se considerará a continuación una reacción bioquímica en la que no hay metabolismo endógeno.

MATERIALES Y MÉTODO

La velocidad de crecimiento está limitada por el sustrato y se puede describir por la ecuación de Monod. Los datos experimentales se encuentran tabulados en la Tabla 1 donde se observa el crecimiento celular. La concentración de sustrato sólo está disponible al principio y al final de la operación del reactor.

a) Primeramente se determinó el rendimiento de masa celular basada en el sustrato, $Y_{x/s}$, usando la ecuación (3):

$$X - X_0 = Y_{x/s} \cdot (S_0 - S) \quad (6)$$

b) Posteriormente se determinó la constante de saturación y el valor máximo de la velocidad de creci-

Tiempo (t)	Concentración de Células (X)	Concentración de Sustrato (S)
0	5.01	125
2.42	5.81	
4.34	6.53	
6.26	7.53	
8.18	8.65	
10.10	9.57	
12.02	11.01	
13.94	11.97	
15.86	13.51	
17.78	14.65	
19.7	15.95	
21.62	17.28	
23.54	17.59	
25.46	18.27	
31.22	20.09	3.71

Tabla 1 - Datos experimentales del crecimiento microbiano en condiciones batch

miento celular específico, K_s y μ_m , usando una regresión no lineal sobre la ecuación de Monod escrita de esta forma:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_m \cdot S \cdot X}{K_s + S} \quad (7)$$

c) Se controlaron los valores obtenidos mediante regresión no lineal para los parámetros K_s y μ_m utilizándolos en la integración numérica de la ecuación (4) y en la integración analítica de la ecuación (5) para calcular la concentración celular, X, en varios tiempos t.

RESULTADOS OBTENIDOS

a) Rendimiento de masa celular basada en la concentración de sustrato:

En la Fig. 1 se puede observar el planteo de ecuaciones necesarias para determinar $Y_{X/S}$ que es el rendimiento de masa celular basada en el sustrato.

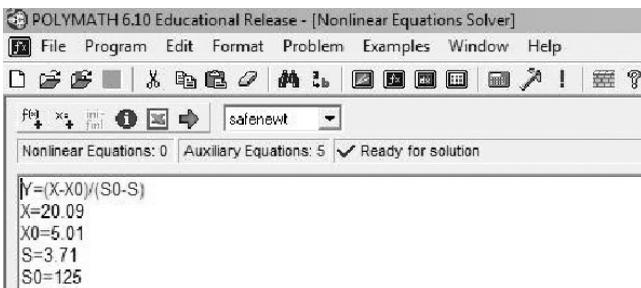


Fig. 1 - Planteo de ecuaciones para el cálculo de $Y_{X/S}$

En la Fig. 2 se puede apreciar el informe de resultados obtenidos por Polymath. Se observa un

valor calculado para $Y_{X/S}$ de 0,1243301 gramos de masa celular generada / gramo de sustrato consumido.

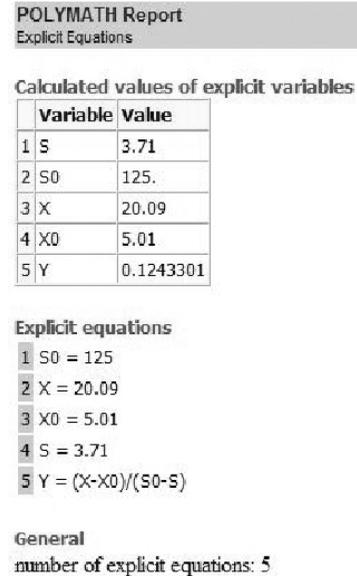


Fig. 2 - Informe de resultados para el cálculo de $Y_{X/S}$

b) Determinación de la constante de saturación y del valor máximo de velocidad de crecimiento celular específico, K_s y μ_m , mediante el uso de regresión no lineal a partir de la ecuación de Monod. Para dicha determinación fue necesario contar con una estimación inicial de los valores de estos parámetros.

Para llevar a cabo esta estimación se calcularon los valores de S durante todo el tiempo del ensayo y se ajustó la relación X en función de t. Para un mejor cálculo de dX/dt fue necesario determinar el valor de la velocidad de crecimiento microbiano específico mediante la fórmula $\mu_g = \mu_m \cdot S / (K_s + S)$ a partir de los datos experimentales (Fig. 3).

	t	X	S	Xsuavizado	dXdtd	ug	Cl
01	0	5.01	125	4.998769	0.3265122	0.0651721	
02	2.42	5.81	118.5855	5.76863	0.3387068	0.0582972	
03	4.34	6.53	112.7745	6.575086	0.4379164	0.0670622	
04	6.26	7.53	104.7314	7.523975	0.5971312	0.0793003	
05	8.18	8.65	95.7231	8.587064	0.4860645	0.0561924	
06	10.10	9.57	88.32344	9.736122	0.6461143	0.0675146	
07	12.02	11.01	76.74137	10.94292	0.6169643	0.0560387	
08	13.94	11.97	69.01999	12.17921	0.6360068	0.0531334	
09	15.86	13.51	56.63361	13.41676	0.745235	0.0551617	
10	17.78	14.65	47.46447	14.62739	0.5705303	0.038944	
11	19.70	15.95	37.00844	15.78281	0.7850609	0.0492201	
12	21.62	17.28	26.31111	16.8548	0.3985079	0.0230618	
13	23.54	17.59	23.81774	17.81513	0.1833156	0.0104216	
14	25.46	18.27	18.34843	18.63557	0.4148504	0.0227066	
15	31.22	20.09	3.709983	19.97524	0.2665246	0.0132655	

Fig. 3 - Ajuste de X y cálculo de S y μ_g

El valor experimental tomado para μ_g fue de 0,0227006 (g células/dm³)/h y de 18,34843 g/dm³ para S según se aprecia en la Fig. 4. Allí se observa el planteo de las ecuaciones no lineales (Monod) implícitas para efectuar la estimación inicial de los parámetros K_s y μ_m .

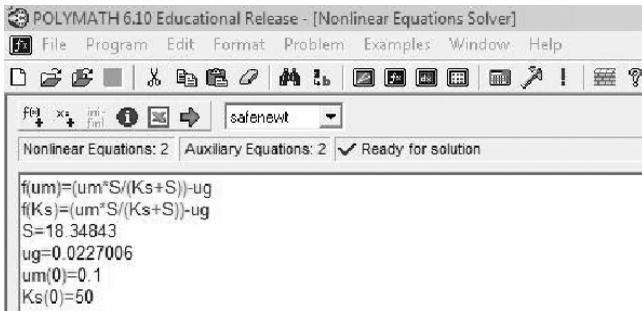


Fig. 4 - Planteo de las ecuaciones de Monod para la estimación inicial de K_s y μ_m

En la Fig. 5 se observa el informe de los resultados donde se puede apreciar una estimación de 0,0867567 (g células/dm³)/h para μ_m y de 51,77524 g/dm³ para K_s .

POLYMATH Report
Nonlinear Equations

Calculated values of NLE variables

	Variable	Value	f(x)	Initial Guess
1	Ks	51.77524	-1.409E-12	50.
2	um	0.0867567	-1.409E-12	0.1

	Variable	Value
1	S	18.34843
2	ug	0.0227006

Nonlinear equations

- f(um) = (um*S/(Ks+S))-ug = 0
- f(Ks) = (um*S/(Ks+S))-ug = 0

Explicit equations

- S = 18.34843
- ug = 0.0227006

Fig. 5 - Informe de resultados

En la Fig. 6 se indica el modelo asumido para obtener la regresión no lineal, los valores iniciales tomados para K_s y μ_m y las variables dependiente (μ_g) e independiente (S).

En la Fig. 7 se indican los valores obtenidos de la regresión no lineal para μ_m y K_s . Allí se puede apreciar un valor de 0,1121741 (g células/dm³)/h

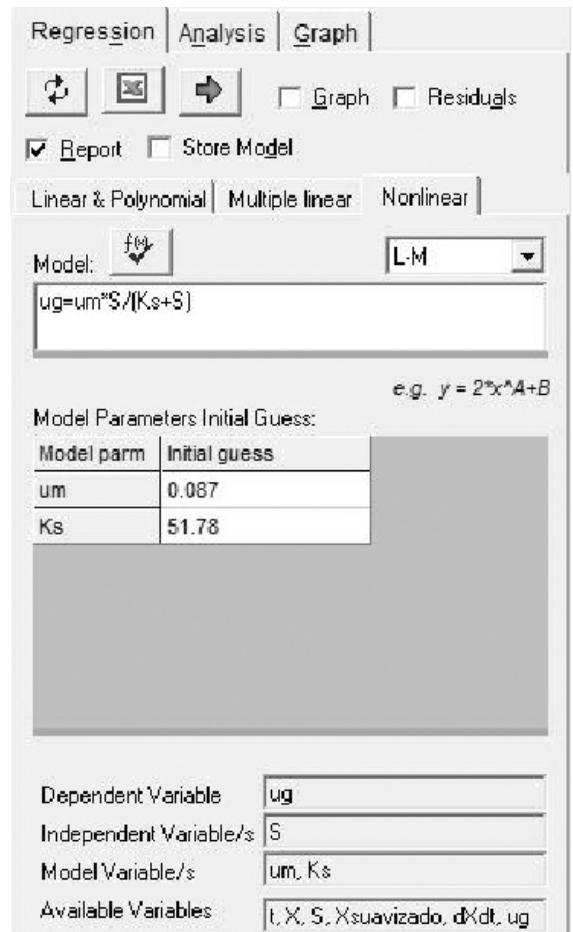


Fig. 6 - Datos para la regresión no lineal

para μ_m y de 75,93601 g/dm³ para K_s .

También se observa que el intervalo de μ_m y K_s con un grado de confianza del 95% es:

$$\mu_m = 0,1121741 \pm 3.404 \cdot 10^{-6} \text{ (g células/dm}^3\text{)/h}$$

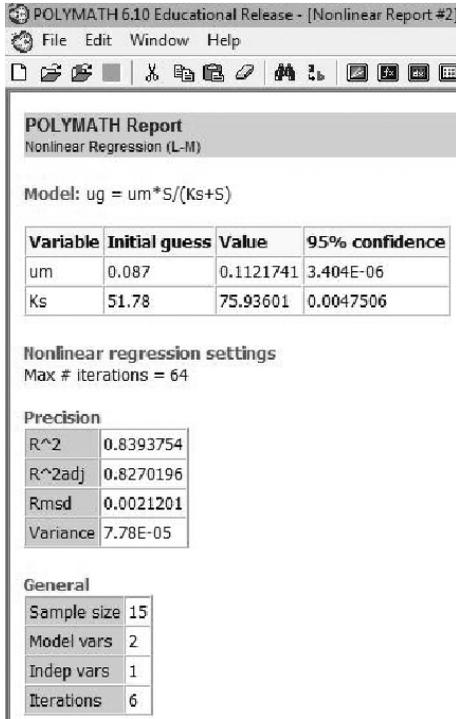
$$\text{y } K_s = 75,93601 \pm 0.0047506 \text{ g/dm}^3$$

Además en la Fig. 7 se encuentran señalados los valores de velocidad de crecimiento microbiano específico (μ_g) experimental y calculado por el modelo con los parámetros ajustados.

En la Fig. 8 se encuentra dibujado el diagrama residual de la correlación no lineal.

En la Fig. 9 se aprecia gráficamente la diferencia entre el valor de la velocidad de crecimiento microbiano específico experimental ($\mu_g \text{ exp}$) y el valor de los datos calculados con el modelo de la regresión no lineal ($\mu_g \text{ calc}$).

c) Control de los valores obtenidos mediante la regresión no lineal para los parámetros K_s y μ_m utilizándolos en la integración numérica de la ecuación (4) y en la integración analítica (5) para calcular la concentración celular, X, a varios tiempos t.



Source data points and calculated data points

S	ug	ug calc	Delta ug	
1	125	0.0651721	0.0697822	-0.0046101
2	118.5655	0.0582972	0.0683798	-0.0100826
3	112.7745	0.0670622	0.0670359	2.633E-05
4	104.7314	0.0793003	0.0650264	0.0142739
5	95.7231	0.0561924	0.0625522	-0.0063598
6	88.32344	0.0675146	0.0603168	0.0071978
7	76.74137	0.0560367	0.0563829	-0.0003462
8	69.01999	0.0531334	0.053411	-0.0002776
9	56.63361	0.0551617	0.0479206	0.0072411
10	47.46447	0.038944	0.0431464	-0.0042024
11	37.00844	0.0492201	0.036756	0.0124641
12	26.31111	0.0230618	0.0288656	-0.0058038
13	23.81774	0.0104216	0.0267833	-0.0163617
14	18.34843	0.0227066	0.0218299	0.0008767
15	3.709983	0.0132665	0.0052252	0.0080413

Fig. 7 - Resultados de la regresión no lineal

En la Fig. 10 se indican las ecuaciones de la hoja de Polymath para calcular la concentración celular X para un tiempo de crecimiento de 2,42 horas utilizando los parámetros estimados en la regresión no lineal en la ecuación (4).

En la Fig. 11 se observa el informe de los resultados de Polymath. Allí se puede apreciar que la concentración microbiana X calculada para t = 2,42 horas es igual a 5,920607 g/dm³.

En la Fig. 12 se observa el planteo de ecuaciones para un tiempo de crecimiento de 2,42 horas utilizando los parámetros estimados en la regresión no lineal en la ecuación (5).

En la Fig. 13 se indica el informe de resultados que muestra que para un tiempo de crecimiento de 2,42 horas la concentración microbiana

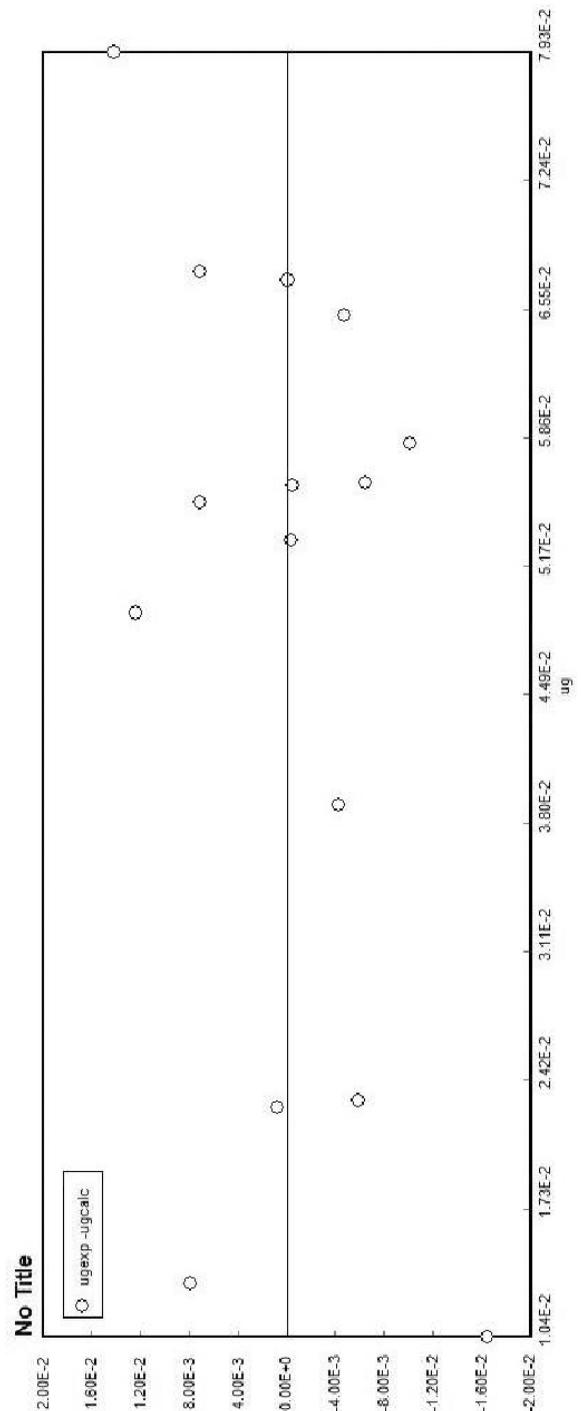


Fig. 8 - Diagrama residual

alcanza un valor de 5,920607 g/dm³.

A continuación se calculó la concentración microbiana con las ecuaciones (4) y (5) para otros tiempos de crecimiento.

Los resultados obtenidos se indican en la Tabla 2.

Obsérvese que los valores calculados para X usando la ecuación (4) han sido estimados mediante el algoritmo de Runge-Kutta-Fehlberg (RK45),

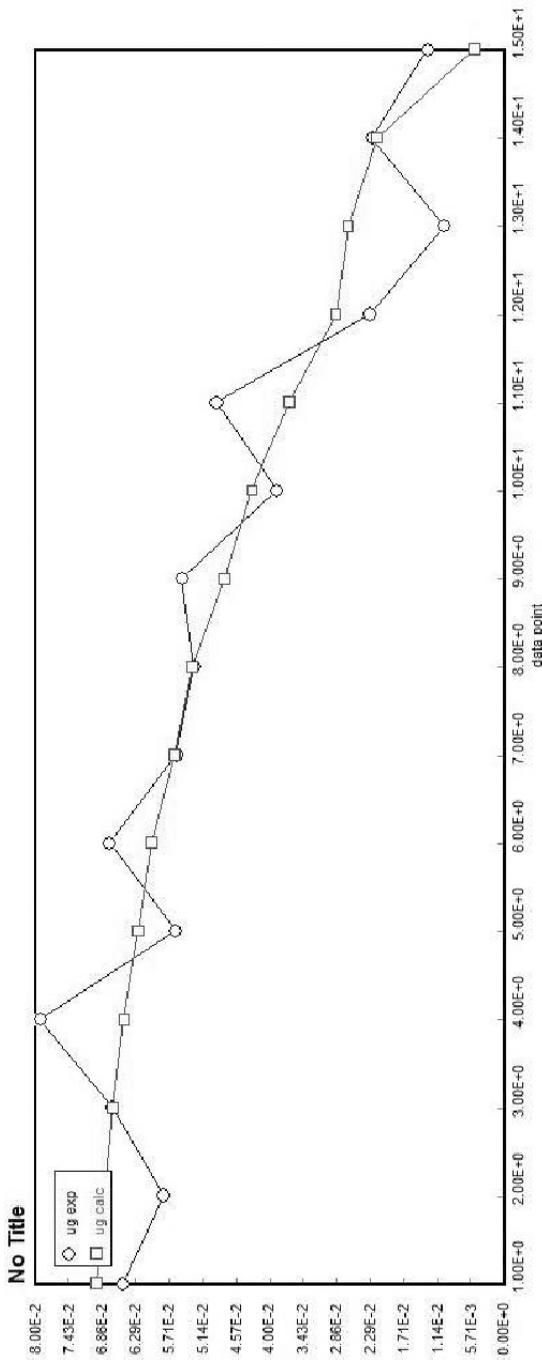


Fig. 9 - Comparación gráfica entre μ_g experimental y μ_g calculado

mientras que los obtenidos por intermedio de la ecuación (5) fueron hallados con el algoritmo de Newton-aphson seguro (safenewt). Nótese que los valores obtenidos para la concentración microbiana, X, son idénticos hasta la sexta cifra decimal.

Por otra parte también se observa que los valores de X calculados usando en dichas ecuaciones los parámetros K_s y μ_m estimados mediante la re-

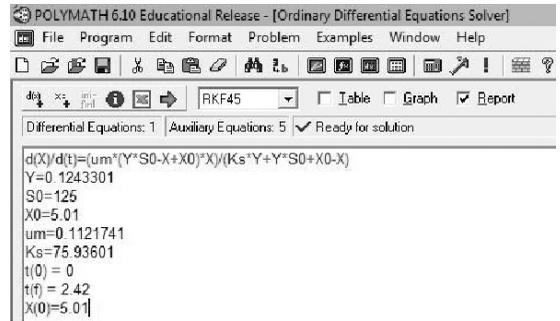


Fig. 10 - Solución numérica de la ecuación (4)

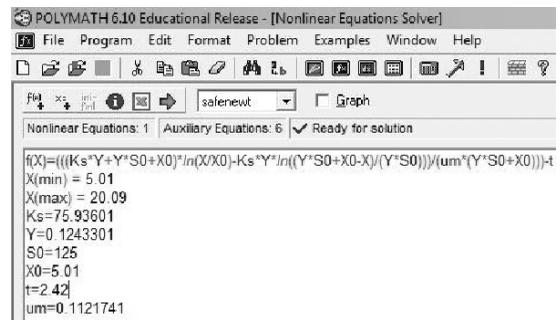


Fig. 11 - Informe de resultados

POLYMATH Report
Ordinary Differential Equations

Calculated values of DEQ variables

	Variable	Initial value	Minimal value	Maximal value	Final value
1	Ks	75.93601	75.93601	75.93601	75.93601
2	S0	125.	125.	125.	125.
3	t	0	0	2.42	2.42
4	um	0.1121741	0.1121741	0.1121741	0.1121741
5	X	5.01	5.01	5.920607	5.920607
6	X0	5.01	5.01	5.01	5.01
7	Y	0.1243301	0.1243301	0.1243301	0.1243301

Differential equations

1 $d(X)/d(t) = (um*(Y*S0-X+X0)*X)/(Ks*Y+Y*S0+X0-X)$

Explicit equations

- 1 Y = 0.1243301
- 2 S0 = 125
- 3 X0 = 5.01
- 4 um = 0.1121741
- 5 Ks = 75.93601

General

Total number of equations	6
Number of differential equations	1
Number of explicit equations	5
Elapsed time	0.000 sec
Solution method	RKF_45
Step size guess, h	0.000001
Truncation error tolerance, eps	0.000001

Fig. 12 - Cálculo de X con la ecuación integrada analíticamente (5)

POLYMATH 6.10 Educational Release - [Nonlinear Equations Solution #0]

File Edit Window Help

POLYMATH Report
Nonlinear Equation

Calculated values of NLE variables

Variable	Value	f(x)	Initial Guess
1 X	5.920607	-1.74E-09	12.55 (5.01 < X < 20.09)

Variable	Value
1 Ks	75.93601
2 S0	125.
3 t	2.42
4 um	0.1121741
5 X0	5.01
6 Y	0.1243301

Nonlinear equations

1 $f(x) = (((Ks*Y+Y*S0+X0)^{-1} \ln(X/X0) - Ks*Y \ln((Y*S0+X0)/(Y*S0)))/(um*(Y*S0+X0))) - t = 0$

Explicit equations

1 Ks = 75.93601
 2 Y = 0.1243301
 3 S0 = 125
 4 X0 = 5.01
 5 t = 2.42
 6 um = 0.1121741

Fig. 13 - Informe de resultados

(t) en horas	microbiana (X) en g/dm ³ obtenida con (4)	microbiana (X) en g/dm ³ obtenida con (5)	microbiana (X) en g/dm ³ experiment
2.42	5.920607	5.920607	5.81
4.34	6.738916	6.738916	6.53
6.26	7.645431	7.645431	7.53
8.18	8.640277	8.640277	8.65
10.10	9.719354	9.719354	9.57
12.02	10.87272	10.87272	11.01
13.94	12.08287	12.08287	11.97
15.86	13.32326	13.32326	13.51
17.78	14.55735	14.55735	14.65
19.70	15.74267	15.74267	15.95
21.62	16.83068	16.83068	17.28
23.54	17.77987	17.77987	17.59
25.46	18.56271	18.56271	18.27
31.22	19.9397	19.9397	20.09

Tabla 2 - Concentración microbiana en función del tiempo

gresión no lineal, muestran un error relativamente pequeño respecto de los datos experimentales.

CONCLUSIÓN

El programa Polymath permitió el cálculo de regresiones no lineales y la resolución de ecuaciones diferenciales y ecuaciones implícitas y explícitas necesarias para realizar el presente trabajo.

Se pudo verificar que el modelo de Monod es adecuado para correlacionar datos empíricos de concentración microbiana con el tiempo. Los errores de estimación de dicha concentración respecto de los valores obtenidos experimentalmente son relativamente pequeños.

BIBLIOGRAFÍA

Lehninger A.; Nelson D.; Cox M., “Principles of Biochemistry”, Editorial Omega, Barcelona, (2009).

Fogler S., “Elementos de ingeniería de las reacciones químicas”, Pearson Ed., México, (2001).

Levenspiel O., Ingeniería de las reacciones químicas, Reverté, Barcelona, (2002).

Singh P. and Heldman D., “Introducción a la ingeniería de los alimentos”, Acribia, Zaragoza, (2009)

Whitaker J.; Voragen A.; Wong D., “Handbook of Food Enzymology”, M. Dekker, NYC, (2003)

Demain A. and Davies J., “Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology”, ASM Press, Washington, (1999).

Ullmann’s, “Biotechnology and Biochemical Engineering”, J. Wiley, Hoboken, (2007)

Hui Y., “Food Biochemistry and Food Processing”, Blackwell Pub, Australia, (2006).

REFERENCIAS

Cutlip, M., Sacham, M., Problem Solving in Chemical and Biochemical Engineering with Polymath, Excel and Matlab, Prentice Hall International Series, NYC (2009).