

Identificación y análisis de sensibilidad paramétrica de modelos cinéticos no estructurados con rendimientos variables para la fermentación de glicerol por *Clostridium pasteurianum*

Ortiz-Garcia Bruno Alberto¹, Figueroa-Estrada Juan Carlos^{1,*}, Neria-González María Isabel^{1,*}, Aguilar-López Ricardo².

¹División de Ingeniería Química y Bioquímica, TecNM: Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, C.P. 55210. Ecatepec de Morelos, Estado de México, México

²Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN, C.P. 07360. San Pedro Zacatenco, CDMX, México.

Fecha de recepción: 23 de octubre de 2024 — Fecha de aceptación: 23 de junio de 2026

Resumen

Este estudio presenta un análisis de sensibilidad paramétrica de dos modelos cinéticos no estructurados, "Moser-Boulton" y "Moser-Levespiel", en el contexto de la fermentación de glicerol utilizando *Clostridium pasteurianum* para la producción de biobutanol. La investigación se llevó a cabo resolviendo los balances de masa de las especies bioquímicas más representativas de la fermentación bajo estudio, representadas por un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias no lineales, con el fin de determinar el comportamiento dinámico y la sensibilidad de los parámetros cinéticos. Los parámetros cinéticos fueron identificados utilizando rendimientos de tipo constantes y variables (primero, segundo y tercer orden). Además, se determinó la sensibilidad relativa de estos, utilizando los programas ModelMaker 3.0.3 y MATLAB R2024a. Los coeficientes de correlación más altos se obtuvieron con el modelo de Moser-Levespiel, siendo los parámetros más sensibles $\mu_{\max}$, K_d y los coeficientes estequiométricos en el balance del producto, considerando rendimientos variables de segundo y tercer orden.

Palabras Clave: Rendimientos constantes, Rendimientos variables, Moser-Boulton, Moser-Levespiel.

Identification and parametric sensitivity analysis of unstructured kinetic models with variable yields for glycerol fermentation by *Clostridium pasteurianum*

Abstract

This study presents a parametric sensitivity analysis of two unstructured kinetic models, "Moser-Boulton" and "Moser-Levespiel", in the context of glycerol fermentation using *Clostridium pasteurianum* for biobutanol production. The research was conducted by solving the mass balances of the most representative biochemical species involved in the fermentation under study, represented by a system of nonlinear ordinary differential equations, in order to determine the dynamic behavior and sensitivity of the kinetic parameters. The kinetic parameters were identified using both constant and variable yields (first, second, and third order). Additionally, the relative sensitivity of these parameters was determined using the programs ModelMaker 3.0.3 and MATLAB R2024b. The highest correlation coefficients were obtained with the Moser-Levespiel model, with the most sensitive parameters being $\mu_{\max}$, K_d , and the stoichiometric coefficients in the product balance, considering second- and third-order variable yields.

Keywords: Constant Yields, Variable Yields, Moser-Boulton, Moser-Levespiel.

*Figueroa_estrada@tese.edu.mx

*mineriag@tese.edu.mx

Nota: Este artículo de investigación es parte de Ingeniería-Revista Académica de la Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Yucatán, Vol. 30, No. 2, 2026, ISSN: 2448-8364

1. Introducción

El modelado matemático tiene como objetivo principal proporcionar una descripción predictiva precisa que permita que las simulaciones reproduzcan fielmente el comportamiento de un bioproceso [1]. La representación dinámica generalmente se lleva a cabo mediante modelos matemáticos no estructurados, preferidos en biotecnología por su simplicidad y su capacidad para ofrecer una visión general del sistema biológico.

Al modelar este tipo de sistema de fermentación de glicerol para la producción de butanol, es esencial elegir modelos cinéticos no estructurados que describan con precisión la cinética de crecimiento microbiano, la conversión de glicerol, la producción de solventes y la cinética de inhibición del producto, debido a que esta última suele seguir un patrón de inhibición no competitiva o de retroinhibición, en el cual la toxicidad aumenta a medida que la concentración de butanol excede ciertos umbrales. Esto se debe a que el butanol, al ser un alcohol lipofílico, daña la membrana celular, afectando la permeabilidad y alterando el transporte de nutrientes y productos de desecho. Como consecuencia, se reduce la actividad metabólica del microorganismo y su capacidad para continuar la conversión de glicerol [2].

Los modelos actúan como un vínculo crucial entre los datos experimentales y las predicciones del comportamiento de un sistema. Para reducir la discrepancia entre los datos y las predicciones, se emplean técnicas de identificación de parámetros que optimizan una función objetivo, minimizando el error entre ambos. Los métodos de optimización se clasifican en tres categorías: métodos locales, que requieren una posición inicial en el espacio de parámetros y convergen lentamente hacia un óptimo; métodos globales, que exploran exhaustivamente el espacio paramétrico pero presentan una tasa de convergencia más lenta; y métodos híbridos, que combinan la capacidad exploratoria de los métodos globales con la rápida convergencia de los locales, logrando un equilibrio entre eficiencia y precisión en la identificación de parámetros.

Estos modelos cinéticos no estructurados, a pesar de su simplicidad, han mantenido su relevancia debido a su eficacia para capturar las interacciones complejas entre el microorganismos, el sustrato, el producto y las condiciones ambientales, permitiendo predecir el comportamiento global de los bioprocesos, utilizando un número reducido de parámetros. No obstante, presentan limitaciones significativas, ya que no siempre responden adecuadamente a las perturbaciones externas, lo que puede afectar su capacidad predictiva y su precisión en escenarios complejos. Para superar estas limitaciones, el uso de rendimientos variables de orden polinomial ofrece una opción viable con ventajas significativas sobre los rendimientos tradicionales. Mientras que los rendimientos constantes

asumen una relación fija entre la producción de metabolitos y el consumo de sustratos, los rendimientos polinomiales permiten una mayor flexibilidad al adaptarse a cambios dinámicos en las condiciones del bioproceso. Esto resulta en una representación más precisa del comportamiento metabólico, ya que los rendimientos variables pueden capturar las no linealidades inherentes en la conversión de sustratos en productos bajo distintas fases de crecimiento y condiciones ambientales. Además, los modelos con rendimientos variables de orden polinomial mejoran la capacidad para representar la estequiometría de la cinética de las reacciones metabólicas. Al permitir que los coeficientes de rendimiento cambien en función de la concentración de sustrato, producto o incluso otros factores del sistema, se puede reflejar con mayor exactitud la variación en la eficiencia del metabolismo celular en diferentes condiciones. Esto es crucial en bioprocesos donde la regulación metabólica influye en la proporción de sustrato convertido en biomasa o productos secundarios, lo que a su vez impacta en la productividad y estabilidad del proceso. Por lo tanto, los rendimientos polinomiales no solo permiten un modelado más realista, sino que también facilitan la optimización y el control del bioproceso, adaptándose mejor a la complejidad de las redes metabólicas y a la variabilidad en la respuesta del sistema [3].

En este contexto, el análisis de sensibilidad paramétrica relativa permite evaluar cómo pequeñas variaciones en parámetros cinéticos, como la velocidad específica de crecimiento y los coeficientes de los rendimientos, afectan las variables de salida del modelo, tales como la concentración de biomasa, la producción de metabolitos y el consumo de sustrato. Al identificar los parámetros más sensibles, se mejora la eficiencia del proceso y se minimiza la formación de subproductos no deseados [4]. Esta evaluación proporciona una medida cuantitativa del impacto de cada parámetro en el sistema, lo que es esencial para calibrar y validar los modelos de manera precisa, garantizando una mejor correlación entre los datos simulados y experimentales [5]. Por este motivo, la matriz de información de Fisher (MIF) se emplea para evaluar la incertidumbre en la estimación de los parámetros y para determinar los intervalos de confianza del modelo. Sin embargo, la evaluación de estos intervalos no es una tarea sencilla, ya que los modelos son idealizaciones del sistema real y presentan diversas fuentes de incertidumbre, como errores de medición, escasez de datos debido a intervalos largos entre mediciones, y una comprensión incompleta de los mecanismos subyacentes. El uso de la MIF en los análisis de sensibilidad permite abordar estas incertidumbres al estudiar el comportamiento del modelo frente a variaciones en los parámetros, facilitando la toma de decisiones informadas para mejorar la eficiencia, productividad y selectividad del proceso, y mitigando la formación de subproductos no deseados.

El uso de *Clostridium pasteurianum* para la degradación de glicerol ha ganado relevancia en los últimos años debido a su capacidad metabólica única para fermentar este sustrato y producir butanol de manera eficiente. A diferencia de otras especies de *Clostridium*, como *Clostridium acetobutylicum*, que han sido ampliamente utilizadas en procesos de fermentación de carbohidratos, *C. pasteurianum* destaca por su habilidad para utilizar glicerol como fuente principal de carbono en condiciones anaerobias. Esto se debe a la presencia de rutas metabólicas específicas que permiten una conversión más eficiente del glicerol en productos de valor agregado como el butanol, 1,3-propanodiol y etanol [6]. El uso de *C. pasteurianum* ofrece ventajas significativas, ya que su metabolismo de glicerol es menos afectado por la acumulación de subproductos como ácidos orgánicos, lo que mejora el rendimiento y la selectividad hacia el butanol, un solvente y biocombustible de alto interés industrial.

El objetivo de este trabajo es proporcionar un análisis detallado de la identificación y la sensibilidad relativa paramétrica en dos modelos cinéticos no estructurados aplicados a la fermentación de glicerol para la producción de butanol, utilizando *C. pasteurianum*. Se identificaron modelos con rendimientos constantes y variables (primero, segundo y tercer orden), con el fin de generar una representación del sistema.

2. Materiales y métodos

2.1. Selección de datos experimentales

Los datos experimentales se obtuvieron del trabajo reportado previamente por Kalafatakis *et al.*, (2019) [7].

2.2. Balances de materia en la fermentación de glicerol para producir butanol por *C. pasteurianum*

Se propusieron los balances de materia para cada variable en operación por lote, se describen en la Ec. (1) para la biomasa (X), la Ec. (2) para el sustrato (S) y la Ec. (3) para el butanol (P).

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - K_d X \quad (1)$$

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{\mu X}{Y_{X/S}} \quad (2)$$

$$\frac{dP}{dt} = \frac{\mu X}{Y_{X/P}} \quad (3)$$

Dónde:

μ = Velocidad de crecimiento. (1/h)
 X = Concentración de biomasa. (g/L)

K_d = Tasa de muerte. (1/h)

S = Concentración de sustrato. (g/L)

P = Concentración de producto. (g/L)

$Y_{X/S}$ = Rendimiento Biomasa-Sustrato. (gX/gS)

$Y_{X/P}$ = Rendimiento Biomasa-Producto. (gX/gP)

2.3. Propuesta de modelos cinéticos no estructurados

Se propusieron dos modelos cinéticos de inhibición por producto Moser-Boulton Ec. (4) y Moser-Levespiel Ec. (5), reportados previamente por Arellano *et al.*, (2007) [8].

$$\mu(S, P) = \frac{\mu_{\max} S^n}{K_s + S^n} \frac{K_p}{K_p + P} \quad (4)$$

$$\mu(S, P) = \frac{\mu_{\max} S^n}{K_s + S^n} \left(1 - \frac{P}{K_p}\right)^m \quad (5)$$

Dónde:

$\mu_{\max}$ = Velocidad máxima de crecimiento. (1/h)

K_s = Constante de afinidad por el sustrato. (g/L)

K_p = Constante de inhibición por producto. (g/L)

m = Orden de Reacción.

n = Orden de Reacción.

2.4. Rendimientos constantes

Las ecuaciones 6 y 7 describen los rendimientos constantes de Biomasa-Sustrato $Y_{X/S}$ y Biomasa-Producto $Y_{X/P}$, respectivamente.

$$Y_{X/S} = \frac{\Delta X}{\Delta S} = \frac{X_f - X_i}{S_i - S_f} \quad (6)$$

$$Y_{X/P} = \frac{\Delta X}{\Delta P} = \frac{X_f - X_i}{P_f - P_i} \quad (7)$$

Dónde:

X_i = Concentración inicial de biomasa (g/L)

X_f = Concentración final de biomasa (g/L)

S_i = Concentración inicial de glicerol (g/L)

S_f = Concentración final de glicerol (g/L)

P_i = Concentración inicial de butanol (g/L)

P_f = Concentración final de butanol (g/L)

2.5. Rendimientos variables

Se proponen ecuaciones de tipo polinomial para las variables de Sustrato (S) y Producto (P) con rendimientos variables de primero orden (Ec. 8 y 9), segundo orden (Ec. 10 y 11) y tercer orden (Ec. 12 y 13), respectivamente. Cada literal de la (a) a la (h) representa un coeficiente.

$$Y_{X/S} = a + b * S \quad (8)$$

$$Y_{X/P} = c + d * P \quad (9)$$

$$Y_{X/S} = a + b * S + c * S^2 \quad (10)$$

$$Y_{X/P} = d + e * S + f * P^2 \quad (11)$$

$$Y_{X/S} = a + b * S + c * S^2 + d * S^3 \quad (12)$$

$$Y_{X/P} = e + f * S + g * P^2 + h * P^3 \quad (13)$$

2.6. Identificación y validación de parámetros cinéticos

El programa ModelMaker versión 3.0.3. se utilizó para identificar los parámetros cinéticos, en los balances de materia de cada variable, aplicando los modelos cinéticos no estructurados Moser-Boulton y Moser-Levespiel. El análisis se llevó a cabo en una computadora con un procesador Intel Core Ultra 7 165H y 32 GB de memoria RAM, utilizando el algoritmo simplex para la optimización y el método numérico de Runge-Kutta para realizar las iteraciones.

Para la validación de los datos simulados con los datos experimentales, se calcularon los coeficientes de correlación de cada variable y el coeficiente de correlación global de cada modelo. Adicionalmente, se aplicaron los criterios de información de Akaike (AIC) y bayesiano de Schwarz (BIC) [9].

2.7. Análisis de sensibilidad relativa paramétrica

Una vez identificado los valores de los parámetros que maximizaron la identificación paramétrica de cada modelo con los datos experimentales, se procedió a realizar un análisis de sensibilidad relativa paramétrica basado en la aplicación de la matriz de información de Fisher [10], la cual permite cuantificar el grado de inferencia de la variación numérica de cada parámetro en cualquier momento de la simulación y sus intervalos de confianza en su determinación numérica durante diferentes etapas de la fermentación [11].

La linealización de los estados respecto a cada parámetro se puede expresar en la Ec. (14). Matemáticamente, los coeficientes de sensibilidad son las derivadas de primer orden de las ecuaciones de estado del modelo (Ecuaciones 1, 2 y 3) con respecto a los parámetros del modelo.

$$S_{N_i\theta} = \frac{\partial \mathcal{N}_i}{\partial \theta}, \quad i = 1, \dots, n. \quad (14)$$

Donde $\mathcal{N}_i$ es la salida del i-ésimo estado. Estas ecuaciones diferenciales son la salida diferencial $\dot{\mathcal{N}}_i$ con respecto al vector de parámetros de entrada del modelo θ a lo largo del tiempo.

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t} S_{N_i\theta} = & \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1(\mathcal{N},\theta,u)}{\partial \mathcal{N}_1} & \dots & \frac{\partial f_1(\mathcal{N},\theta,u)}{\partial \mathcal{N}_n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_n(\mathcal{N},\theta,u)}{\partial \mathcal{N}_1} & \dots & \frac{\partial f_n(\mathcal{N},\theta,u)}{\partial \mathcal{N}_n} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_{N_1\theta} \\ \vdots \\ S_{N_n\theta} \end{bmatrix} \\ & + \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1(\mathcal{N},\theta,u)}{\partial \theta} \\ \vdots \\ \frac{\partial f_n(\mathcal{N},\theta,u)}{\partial \theta} \end{bmatrix} \end{aligned} \quad (15)$$

Se calculan los coeficientes de sensibilidad ($S_{N_i\theta}$) sumando las ecuaciones variacionales de la Ec. 15 con la ecuación de estado original para obtener la ecuación aumentada ($n + np$) Ec. (16).

$$\dot{N}(t) = f(N, \theta, u), \quad N(t_0) = N(0), \quad (16a)$$

$$\dot{s} = f_N(N, u) \times s + f_\theta(N, \theta, u), \quad s(t_0) = s(0) \quad (16b)$$

Las matrices f_θ , f_N , $\mathcal{N}(0)$ y $s(0)$ se definen a continuación con $p = 1$:

La matriz f_θ Ec. (17), representa la sensibilidad del sistema a variaciones en los parámetros. f_θ esta compuesta por la matriz Jacobiana de las derivadas parciales de las funciones de velocidad de estado (f) respecto a cada parámetro (θ).

$$f_\theta \triangleq \frac{\partial f}{\partial \theta} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1(\mathcal{N},\theta,u)}{\partial \theta} \\ \vdots \\ \frac{\partial f_n(\mathcal{N},\theta,u)}{\partial \theta} \end{bmatrix} \quad (17)$$

La matriz f_N Ec. (18), define la sensibilidad del sistema con respecto a las variables de estado. f_N esta compuesta por la matriz Jacobiana de las derivadas parciales de las funciones de velocidad de estado (f) con respecto a cada variable de estado (N).

$$f_N \triangleq \frac{\partial f}{\partial N} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1(\mathcal{N},\theta,u)}{\partial \mathcal{N}_1} & \dots & \frac{\partial f_1(\mathcal{N},\theta,u)}{\partial \mathcal{N}_n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_n(\mathcal{N},\theta,u)}{\partial \mathcal{N}_1} & \dots & \frac{\partial f_n(\mathcal{N},\theta,u)}{\partial \mathcal{N}_n} \end{bmatrix} \quad (18)$$

El vector s Ec. (19), corresponde a las sensibilidades relativas paramétricas de los estados del sistema con respecto a los parámetros (θ).

$$s = \begin{bmatrix} S_{N_1\theta} \\ \vdots \\ S_{N_n\theta} \end{bmatrix} \quad (19)$$

El vector $N(0)$ Ec. (20), representa las condiciones iniciales de las variables de estado del sistema.

$$N(0) = \begin{bmatrix} \mathcal{X}_N(0) \\ \vdots \\ \mathcal{X}_N(0) \end{bmatrix} \quad (20)$$

El vector $s(0)$ Ec. (21), contiene las sensibilidades relativas iniciales, es decir, los valores de las sensibilidades en el tiempo cero. Inicia con los valores resultantes de la identificación paramétrica para luego integrar su evolución junto con las ecuaciones variacionales.

$$s(0) = \begin{bmatrix} s_1(0) \\ \vdots \\ s_n(0) \end{bmatrix} \quad (21)$$

3. Resultados

3.1. Simulación y validación de Modelos

Con los parámetros obtenidos en las Tablas 1-3, se validaron los modelos mediante el cálculo del coeficiente de correlación ($\mathcal{R}^2$). La **Figura 1**, se muestran los resultados de las simulaciones de biomasa (A), glicerol (B) y butanol (C) para el modelo de Moser-Levespiel con rendimientos variables de segundo orden. Así como, en la **Figura 2**, se muestran los coeficientes de correlación para cada una de las variables del mismo modelo. En las **Figuras 3-5**, se muestran los resultados de la sensibilidad paramétrica relativa de cada variable: biomasa (A), glicerol (B) y butanol (C) por el modelo de Moser-Levespiel con rendimientos constantes (Fig. 3), rendimientos variables de segundo orden (Fig. 4) y rendimientos variables de tercer orden (Fig. 5).

En las Tablas 1-3, se muestran los resultados de los parámetros cinéticos estimados para los modelos de Moser-Boulton y Moser-Levespiel con rendimientos constantes y variables. El termino NA = No aplica.

Tabla 1. Parámetros cinéticos y rendimientos para los modelos cinéticos de Moser-Boulton y Moser-Levespiel con rendimientos constantes.

Parámetro	Moser-Boulton	Moser-Levenspiel
K_d	0.007	0.007
K_p	8	4
K_s	1.2	4.2663
n	1	1
m	NA	1
$\mu_{\max}$	0.6	1.8
$Y_{X/P}$	0.354	0.354
$Y_{X/S}$	0.081	0.081

Tabla 2. Parámetros cinéticos y de rendimientos para el modelo cinético de Moser-Boulton rendimientos de primer, segundo y tercer orden.

Parámetro	1er orden	2do orden	3er orden
K_d	0.007	0.007	0.007
K_p	0.6605	1.1724	13.2057
K_s	0.0161	0.0184	0.1241
$\mu_{\max}$	1.7247	1.3141	1.2
n	1	1	1
a	5.9585	7.5006	8.4842
b	0.7677	0.0010	0.7603
c	3.3464	0.1021	-0.6156
d	-1.4244	2.3599	0.08081
e	NA	0.0010	5.0792
f	NA	0.0001	0.6589
g	NA	NA	-4.8677
h	NA	NA	1.8573

Tabla 3. Parámetros cinéticos y de rendimientos para el modelo cinético de Moser-Levespiel rendimientos de primer, segundo y tercer orden.

Parámetro	1er orden	2do orden	3er orden
K_d	0.007	0.007	0.007
K_p	4.0193	4	9.9999
K_s	0.0188	0.9635	5.3105
$\mu_{\max}$	0.9354	1.3314	1.8
n	1	1	1
m	1	1	1
a	11.5768	23.7042	8.3328
b	-1.5475	-7.0310	2.3825
c	4.2056	0.7221	3.6231
d	0.0213	3.0251	0.0109
e	NA	-0.6800	2.4063
f	NA	5.1648	4.8812
g	NA	NA	1.7605
h	NA	NA	1.1484

Las tablas 4-6, se muestran los resultados obtenidos de los coeficientes de correlación de las variables y los datos simulados con rendimientos constantes y variables de primer, segundo y tercer orden para el modelo de Moser-Boulton y Moser-Levespiel.

Tabla 4. Coeficientes de correlación ($\mathcal{R}^2$) con rendimientos constantes.

$\mathcal{R}^2$	Moser-Boulton	Moser-Levenspiel
Biomasa	0.8701	0.9416
Sustrato	0.9716	0.9825
Producto	0.9778	0.9697
Global	0.9398	0.9646

Tabla 5. Coeficientes de correlación ($\mathcal{R}^2$) con rendimientos variables de primer, segundo y tercer orden con el modelo de Moser-Boulton.

$\mathcal{R}^2$	1er orden	2do orden	3er orden
<i>Biomasa</i>	0.9431	0.9372	0.9028
<i>Glicerol</i>	0.9955	0.9957	0.9974
<i>Butanol</i>	0.9795	0.9822	0.9906
<i>Global</i>	0.9727	0.9717	0.9636

Tabla 6. Coeficientes de correlación ($\mathcal{R}^2$) con rendimientos variables de primer, segundo y tercer orden con el modelo de Moser-Levespiel.

$\mathcal{R}^2$	1er orden	2do orden	3er orden
<i>Biomasa</i>	0.9374	0.9465	0.9434
<i>Glicerol</i>	0.9942	0.9965	0.9918
<i>Butanol</i>	0.9821	0.9914	0.9799
<i>Global</i>	0.9712	0.9781	0.9717

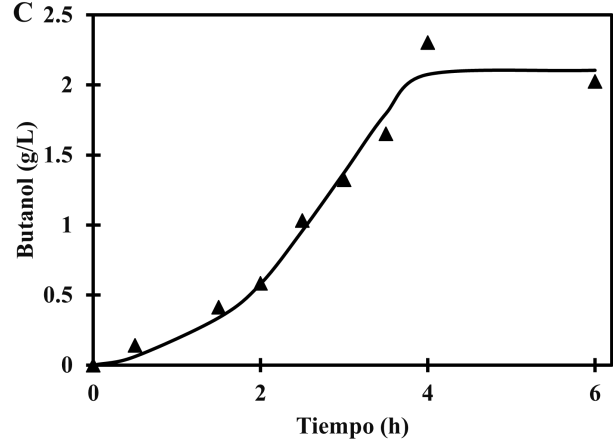
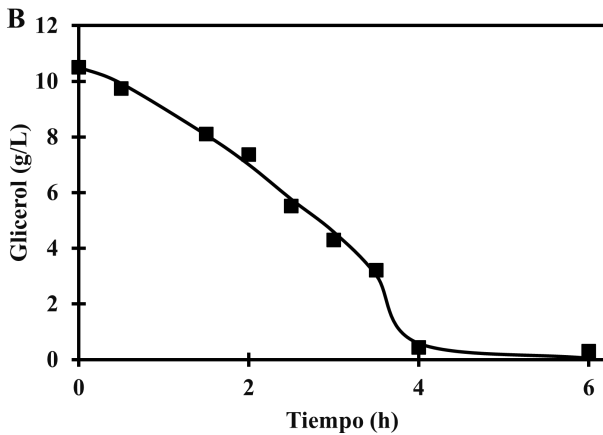
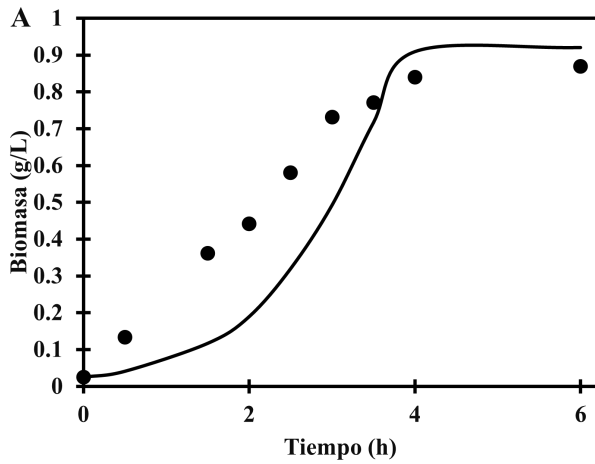
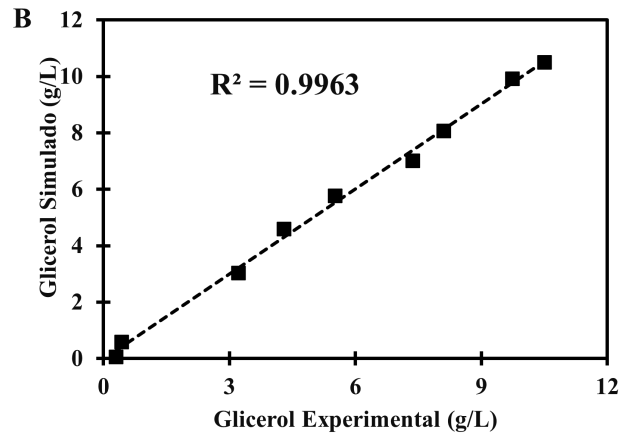
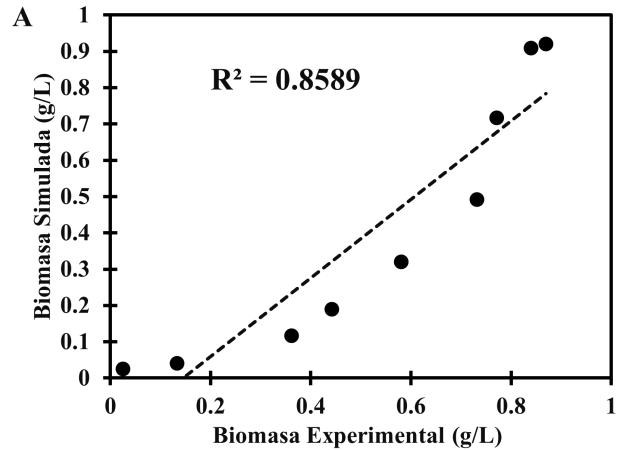


Figura 1. Resultados de simulación de biomasa (A), glicerol (B) y butanol (C) con el modelo de Moser-Levespiel con rendimientos variables de segundo orden; Los puntos corresponden a los resultados experimentales y las líneas continuas corresponden a los resultados simulados.



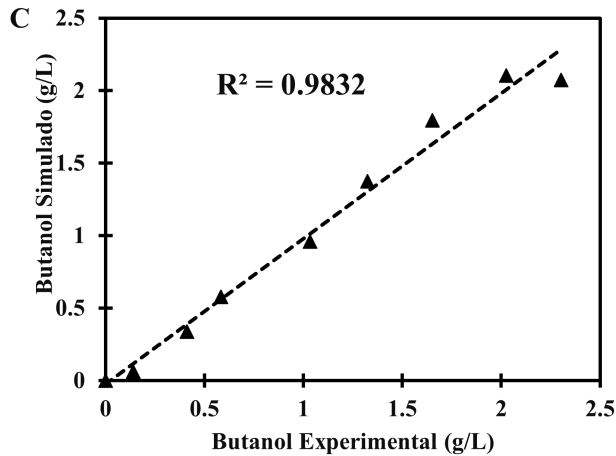


Figura 2. Resultados del coeficiente de correlación de biomasa (A), glicerol (B) y butanol (C) con el modelo de Moser-Levespiel con rendimientos variables de segundo orden.

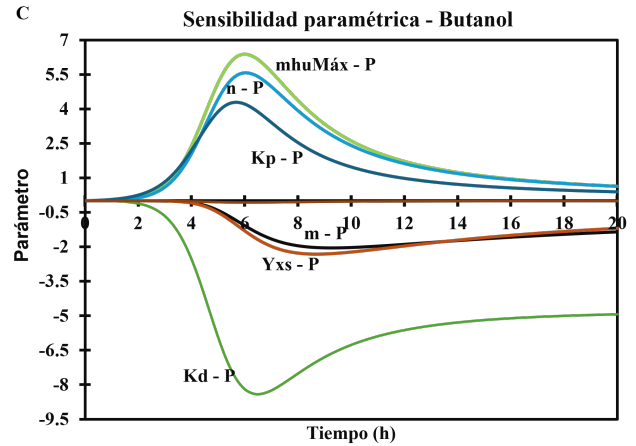
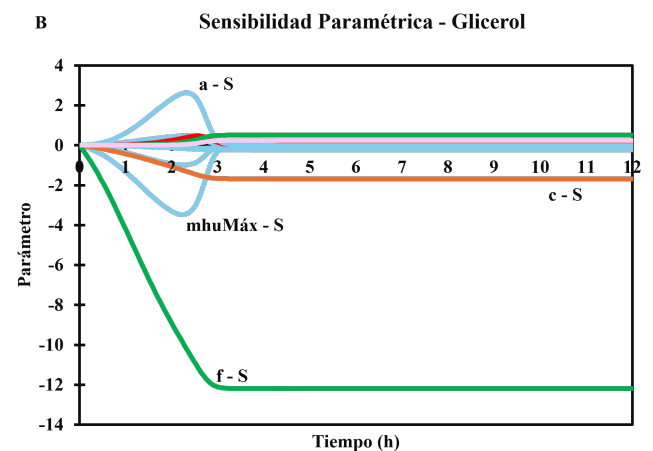
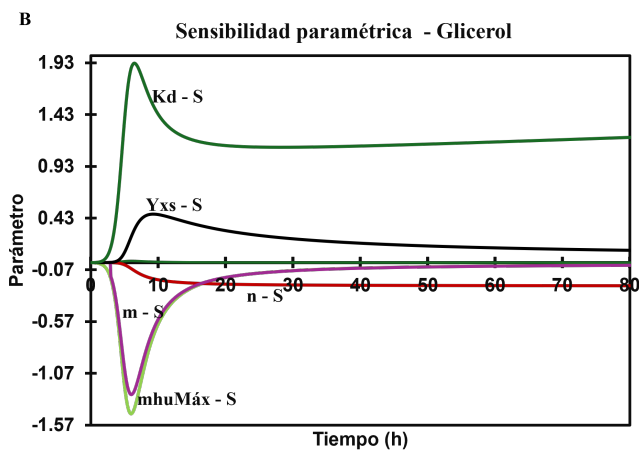
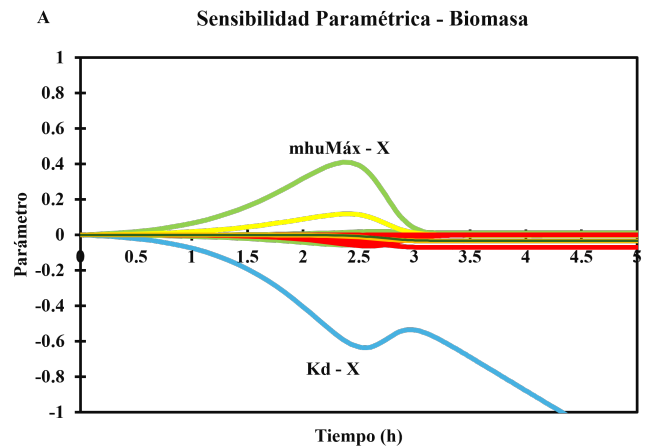
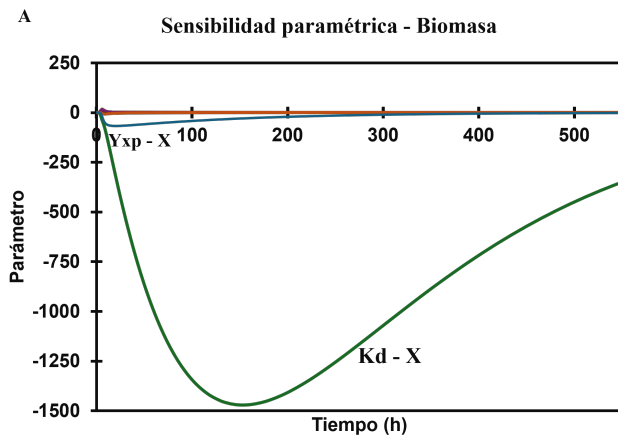


Figura 3. Resultados de sensibilidad relativa paramétrica para el modelo Moser-Levespiel con rendimientos constantes para la Biomasa (A), Sustrato (B) y Producto (C).



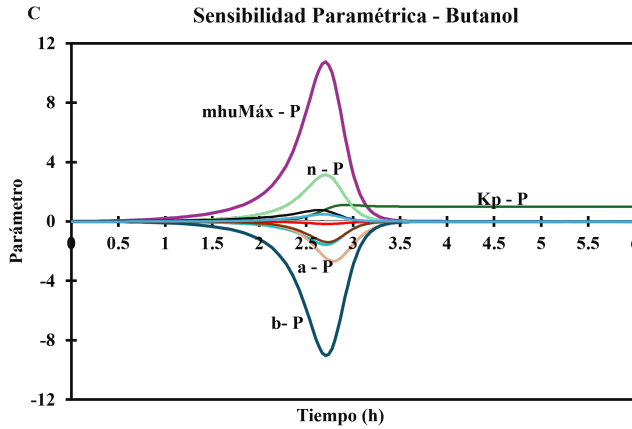


Figura 4. Resultados de sensibilidad relativa paramétrica para el modelo Moser-Levespiel con rendimientos variables de segundo orden para la Biomasa (A), Sustrato (B) y Producto (C).

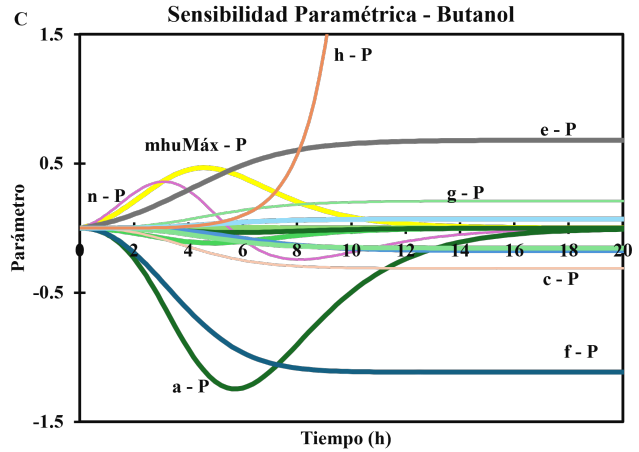
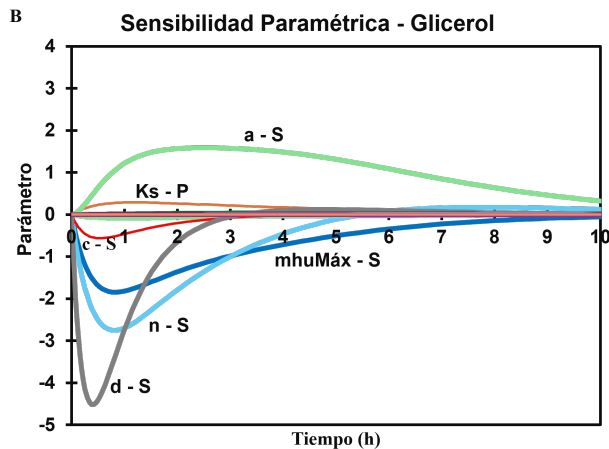
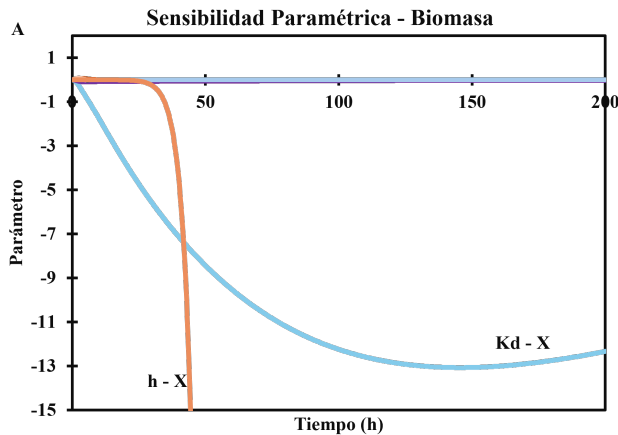


Figura 5. Resultados de sensibilidad relativa paramétrica para el modelo Moser-Levespiel con rendimientos variables de tercer orden para la Biomasa (A), Sustrato (B) y Producto (C).

En las Tablas 7 y 8 se presentan los parámetros más sensibles para cada variable (biomasa, glicerol y butanol) en los modelos propuestos, "Moser-Boulton" y "Moser-Levespiel", con rendimientos constantes y variables de primer, segundo y tercer orden.

Tabla 7. Parámetros sensibles por variable, para el modelo de Moser-Boulton con rendimientos constantes (RC) y variables de primer (RV 1er), segundo (RV 2do) y tercer (RV 3er) orden.

Variable	RC	RV (1er)	RV (2do)	RV (3er)
Biomasa	$K_d, Y_{X/S}$	K_d	K_d	K_d
Glicerol	$K_d, Y_{X/S}$	K_d, μ_{max}	$K_d, c \text{ y } \mu_{\text{max}}$	K_d, K_S
Butanol	$Y_{X/S}, Y_{X/P}$	$\mu_{\text{max}}, K_d, b \text{ y } c$	$\mu_{\text{max}}, K_d \text{ y } c$	e

Tabla 8. Parámetros sensibles por variable, para el modelo de Moser-Levespiel con rendimientos constantes (RC) y variables de primer (RV 1er), segundo (RV 2do) y tercer (RV 3er) orden.

Variable	RC	RV (1er)	RV (2do)	RV (3er)
Biomasa	K_d	K_d	K_d, μ_{max}	K_d, h
Glicerol	K_d, μ_{max}	b, μ_{max}	a, f	$a, d, n \text{ y } \mu_{\text{max}}$
Butanol	$\mu_{\text{max}}, Y_{X/S} \text{ y } n$	μ_{max}, K_d	μ_{max}, K_d	$a, e, f \text{ y } g$

En la Tabla 9, se presentan los criterios de información estadística de AIC (*Akaike Information Criterion*) y BIC (*Bayesian Information Criterion*) para comparar modelos estadísticos que han sido ajustados a los mismos datos [9].

Tabla 9. Comparación de criterios de información AIC y BIC entre los modelos cinéticos evaluados. MB = Moser-Boulton, ML = Moser-Levespiel, RC = Rendimientos

constantes y RV = Rendimientos variables de 1°, 2° y 3° orden.

Modelo	SSR	AIC	BIC
MB RC	6.9835	-32.50	-29.91
ML RC	3.0253	-55.08	-52.49
MB 1° orden	1.6482	-56.87	-51.27
ML 1° orden	2.5013	-46.37	-40.77
MB 2° orden	1.6110	-59.60	-51.23
ML 2° orden	0.7772	-73.25	-64.88
MB 3° orden	0.8928	-69.20	-57.06
ML 3° orden	2.1757	-44.53	-31.95

4. Discusión

4.1. Representatividad y predictibilidad de los modelos

En el modelado de la fermentación de glicerol por *Clostridium pasteurianum* para producir butanol, los modelos no estructurados han demostrado ser precisos y útiles, ya que en todos los casos, los coeficientes de correlación globales obtenidos demuestran que los modelos son capaces de reproducir los resultados experimentales. El modelo Moser-Boulton alcanzó un coeficiente de correlación promedio de 0.9693, mientras que el modelo Moser-Levespiel obtuvo un promedio ligeramente superior de 0.9734. Sin embargo, es fundamental reconocer que en la mayoría de los estudios reportados en la literatura, los rendimientos se consideran como parámetros constantes, cuando en realidad dependen del metabolismo de los microorganismos y de las condiciones dinámicas a las que están expuestos. Específicamente, el modelo Moser-Levespiel mostró un mejor desempeño, con coeficientes de correlación más altos para los rendimientos variables de orden polinomial de segundo orden (0.9781) y tercer orden (0.9717), lo que sugiere una mayor capacidad para capturar la complejidad de las dinámicas del sistema en comparación con otros enfoques.

La utilización de rendimientos variables permite fortalecer la predictibilidad de los modelos cinéticos, permitiendo una mejor representación de las dinámicas del sistema [3]. Además, el uso de rendimientos variables facilita la reproducción de fenómenos complejos, como la aparición de múltiples estados estacionarios. Por lo tanto, la selección de un modelo cinético no debería basarse únicamente en la validación y comparación de parámetros, sino que también debe considerar su robustez y capacidad para reflejar dichos fenómenos [12].

4.2. Identificación paramétrica

El modelo de Moser-Levespiel, además de alcanzar los mejores coeficientes de correlación, demostró tener la capacidad de representar adecuadamente la cinética del sistema. Los resultados obtenidos en la identificación paramétrica, aplicando rendimientos constantes y variables de orden polinomial (Tabla 3), confirman que dicho modelo es apropiado para describir la fermentación de glicerol por *Clostridium pasteurianum* bajo condiciones de inhibición por producto. El alto coeficiente de correlación y la coincidencia de los parámetros identificados con los reportados por Kalafatakis *et al.* [7] sugieren que este modelo no solo es capaz de predecir adecuadamente el comportamiento del sistema, sino que también es robusto frente a variaciones experimentales.

4.3. Influencia metabólica del butanol en la fermentación

Las Figuras 3 a 5 evidencian que el modelo presenta una alta sensibilidad a la precisión en la estimación de parámetros clave, como la tasa máxima de crecimiento celular ($\mu_{\max}$), la producción de butanol, la constante de muerte celular (k_d) y los rendimientos, tanto constantes como variables. Estos hallazgos proporcionan una base sólida para perfeccionar las técnicas analíticas o numéricas empleadas en la estimación de dichos parámetros en experimentos futuros.

Los gráficos también muestra que los parámetros del balance de butanol influyen directamente en la sensibilidad relativa paramétrica del glicerol, sugiriendo que la producción de butanol afecta significativamente el consumo del sustrato. Esto se relaciona con las rutas metabólicas que el microorganismo prioriza. Cualquier cambio en la conversión del sustrato en producto altera el balance energético, afectando tanto la producción de butanol como el consumo de glicerol [13]. Además, la acumulación de butanol puede modificar el metabolismo al influir en enzimas clave o flujos metabólicos, conectando el balance de productos con la dinámica del sustrato.

La concentración de butanol en las simulaciones, que alcanzó un promedio de 2.3 g/L a las 6 horas, es consistente con lo reportado por Kalafatakis (2.5 g/L) [7]. Sin embargo, esta concentración no alcanza el umbral crítico de inhibición por producto, lo que explica la baja sensibilidad del parámetro (K_p) en el análisis de sensibilidad relativa paramétrica. Estudios previos sugieren que la inhibición significativa del crecimiento ocurre a concentraciones superiores de 4 g/L, por lo que 2 g/L podrían estar por debajo del umbral necesario para observar una respuesta del modelado con efectos inhibitorios claros [14].

4.4. Comparación estadística entre modelos mediante criterios de información

El modelo de Moser-Levespiel con rendimientos variables de segundo orden presentó los valores más bajos en ambos criterios de información ($AIC = -73.25$), ($BIC = -64.88$), lo que indica un equilibrio óptimo entre calidad de ajuste y simplicidad estructural. En términos generales, las formulaciones con rendimientos variables demostraron ser más adecuadas, ya que consistentemente exhibieron valores inferiores de AIC y BIC frente a sus contrapartes con rendimientos constantes. Cabe destacar que, independientemente del tipo de rendimiento, la formulación de Moser-Levespiel superó a la de Moser-Boulton en todos los escenarios analizados, lo que refuerza su idoneidad para representar procesos con inhibición por producto, como es el caso de la fermentación de glicerol por *Clostridium pasteurianum*.

5. Conclusiones

Los coeficientes de correlación globales alcanzados para los rendimientos constantes y variables han mostrado una similitud significativa, lo que indica una adecuada representación del modelo cinético frente a las variaciones paramétricas. No obstante, es esencial no limitar el análisis a la similitud en los coeficientes, sino examinar también los valores de los parámetros individuales y su sensibilidad. Dependiendo de su grado de influencia, ciertos parámetros pueden afectar significativamente las rutas metabólicas predominantes en el bioproceso, direccionando de manera específica las dinámicas metabólicas clave.

En este contexto, el uso de rendimientos variables ofrece una ventaja crucial, ya que permite capturar con mayor precisión las dinámicas complejas inherentes a los bioprocesos (**Tabla 9**). Esta variabilidad no solo mejora la representación del sistema, sino que también proporciona una herramienta poderosa para la optimización, permitiendo la adaptación del modelo a diversas condiciones operativas. Así, la incorporación de rendimientos variables se consolida como un enfoque fundamental para perfeccionar estrategias de control y maximizar el rendimiento global del proceso.

Aun así, al analizar los criterios de información AIC y BIC, se confirmó que el modelo de Moser-Levespiel con rendimientos polinomiales de segundo orden ofrece la mejor capacidad predictiva con una estructura matemática eficiente. Este modelo presentó los valores más bajos de AIC y BIC entre todas las configuraciones cinéticas evaluadas, lo que refleja una mayor calidad de ajuste con penalización moderada por complejidad, evitando así el

sobreajuste.

Este resultado es especialmente relevante, ya que demuestra que el modelo logra describir adecuadamente la dinámica del sistema sin incurrir en sobreajuste (*overfitting*), es decir, sin capturar fluctuaciones aleatorias del conjunto de datos que no representan el comportamiento inherente del proceso. En consecuencia, se obtiene un modelo más robusto y generalizable, capaz de predecir de manera confiable bajo diferentes condiciones experimentales, lo cual es esencial para aplicaciones prácticas como el escalado, la optimización y el control de bioprocesos [9].

Por otro lado, el análisis de sensibilidad paramétrica en modelos cinéticos no estructurados es fundamental para identificar los parámetros con mayor impacto en el comportamiento del sistema. Esta metodología no solo incrementa la precisión del modelo, sino que también facilita la optimización de las condiciones operativas al destacar los parámetros críticos que influyen en el desempeño del proceso. Además, evalúa la sensibilidad del modelo ante variaciones numéricas en sus parámetros, permitiendo establecer intervalos de confianza dentro de los cuales el modelo es válido. Por lo que, contribuye a mejorar la identificación paramétrica del modelo y a diseñar estrategias experimentales más eficientes, minimizando errores y optimizando el uso de los recursos.

En este contexto, el aprovechamiento del glicerol por *Clostridium pasteurianum* constituye una estrategia tecnológicamente viable y sustentable para la valorización de corrientes residuales provenientes de la industria del biodiésel y otras fuentes oleoquímicas. Este enfoque permite transformar un subproducto de alta disponibilidad y bajo costo en productos de alto valor añadido, tales como 1,3-propanodiol, n-butanol y ácidos orgánicos, los cuales poseen aplicaciones relevantes en las industrias química y farmacéutica. Además de reducir la carga contaminante asociada al descarte de glicerol crudo, este bioproceso ofrece ventajas competitivas frente a otras alternativas químicas tradicionales, al favorecer la implementación de tecnologías más limpias, eficientes y alineadas con los principios de la economía circular. [2].

Además, resulta interesante llevar a cabo un estudio exhaustivo de la robustez de estos modelos. Este enfoque permitirá comprender en profundidad cómo los distintos parámetros afectan el rendimiento global del bioproceso, facilitando la identificación de variables críticas y la evaluación de sus interacciones en diversas condiciones operativas.

Agradecimientos

Los autores Ortiz Garcia y Figueroa Estrada agradecen a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología

e Innovación (**SECIHTI**) y al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (**COMECYT**), por las becas otorgadas.

Referencias

- [1] J. W. Haefner, Modeling biological systems, Springer Science and Business Media, 2005.
- [2] I. Valdez-Vazquez, L. P. Güereca, C. E. Molina-Guerrero, A. Padilla-Rivera, H. A. Ruiz, Evolution of the biorefinery concept and tools for its evaluation toward a circular bioeconomy, in: Springer Water, Springer, 2024, pp. 349–371. doi:10.1007/978-3-031-57735-2_16.
URL https://doi.org/10.1007/978-3-031-57735-2_16
- [3] B. A. Ortiz-Garcia, J. C. Figueroa-Estrada, R. Aguilar-López, M. I. Neria-González, Parametric adjustment of two different kinetic models with constant and variable yield coefficients: Butanol production from glycerol fermentation by *Clostridium pasteurianum*, Journal of Bioengineering and Biomedicine Research 8 (3) (2024) 43–52. doi:10.70632/jbbr.8.3.2024.43-52.
URL <https://doi.org/10.70632/jbbr.8.3.2024.43-52>
- [4] E. N. Tec Caamal, Modelado matemático y análisis dinámico de los procesos involucrados en la cristalización de bioscorodita para la remoción de arsénico, tesis doctoral, CINVESTAV Unidad Zacatenco (2021).
URL <https://repositorio.cinvestav.mx/handle/cinvestav/2562>
- [5] B. Ingalls, Mathematical modeling in systems biology, MIT Press, 2013.
URL https://www.researchgate.net/publication/295921134_Mathematical_Modeling_in_Systems_Biology
- [6] C. Zhang, S. Sharma, W. Wang, A. Zeng, A novel downstream process for highly pure 1,3-propanediol from an efficient fed-batch fermentation of raw glycerol by *Clostridium pasteurianum*, Engineering in Life Sciences 21 (6) (2021) 351–363. doi:10.1002/elsc.202100012.
URL <https://doi.org/10.1002/elsc.202100012>
- [7] S. Kalafatakis, I. V. Skiadas, H. N. Gavala, Determining butanol inhibition kinetics on the growth of *Clostridium pasteurianum* based on continuous operation and pulse substrate additions, Journal of Chemical Technology and Biotechnology 94 (5) (2019) 1559–1566. doi:10.1002/jctb.5919.
URL <https://doi.org/10.1002/jctb.5919>
- [8] M. Arellano-Plaza, E. J. Herrera-López, D. Diaz-Montaña, A. Moran, J. J. Ramírez-Córdova, Unstructured kinetic model for tequila batch fermentation, International Journal of Mathematics and Computers in Simulation 1 (2007) 1–6.
- [9] K. P. Burnham, D. R. Anderson, Model selection and multimodel inference: A practical information-theoretic approach, 2nd Edition, Springer, 2002. doi:10.1007/b97636.
- [10] R. Gunawan, Y. Cao, L. Petzold, F. J. Doyle, Sensitivity analysis of discrete stochastic systems, Biophysical Journal 88 (4) (2005) 2530–2540. doi:10.1529/biophysj.104.053405.
URL <https://doi.org/10.1529/biophysj.104.053405>
- [11] P. A. López Pérez, R. Aguilar López, R. Femat, Control in bioprocessing: Modeling, estimation and the use of soft sensors, first edition Edition, John Wiley & Sons Ltd., 2020. doi:10.1002/9781119296317.ch4.
URL <https://doi.org/10.1002/9781119296317.ch4>
- [12] R. Aguilar-López, E. Alvarado-Santos, F. Thalasso, P. A. López-Pérez, Monitoring ethanol fermentation in real time by a robust state observer for uncertainties, Chemical Engineering and Technology 47 (5) (2024) 779–790. doi:10.1002/ceat.202300324.
URL <https://doi.org/10.1002/ceat.202300324>

- [13] V. Krasňan, M. Plž, A. C. Marr, K. Markošová, M. Rosenberg, M. Rebroš, Intensified crude glycerol conversion to butanol by immobilized *Clostridium pasteurianum*, Biochemical Engineering Journal 134 (2018) 114–119. doi:10.1016/j.bej.2018.03.005.
URL <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.03.005>
- [14] Z. Lu, J. A. Imlay, When anaerobes encounter oxygen: Mechanisms of oxygen toxicity, tolerance and defence, Nature Reviews Microbiology 19 (12) (2021) 774–785. doi:10.1038/s41579-021-00583-y.
URL <https://www.nature.com/articles/s41579-021-00583-y>