

Modelación matemática de los balances de masa en un medio químicamente definido para el crecimiento de *Escherichia coli*

Mathematical modeling of mass balances in a chemically defined medium for the growth of *Escherichia coli*

María Fernanda Martínez Fuentes^{1*}

¹ Facultad de Ingeniería Química. Universidad Tecnológica de La Habana “José Antonio Echeverría” (Cujae). Calle 114 No 11901 entre 119 y 127, Marianao, La Habana, Cuba.

*Email: mariamarfue@cujae.edu.cu

Este documento posee una [licencia Creative Commons Reconocimiento/No Comercial 4.0 Internacional](#)



Resumen

El Dengue es una enfermedad que afecta a una parte de la población mundial, constituye uno de los principales peligros epidemiológicos, por lo que la se ha convertido en un evento cuya vigilancia, prevención y control, revisten especial interés en la salud y la ciencia de nuestro país. El Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) de La Habana, avanza en una estrategia creada para la producción de candidatos vacunales de los cuatro serotipos del virus. Los estudios realizados se llevaron a cabo en el área de Desarrollo Tecnológico del centro, y tienen lugar mediante un proceso de fermentación discontinua. Los ensayos se realizaron en zaranda durante 24 h con una temperatura de 37 °C y una agitación de 180 min⁻¹. En este trabajo se realiza un balance de masa y energía haciendo uso del programa computacional MATLAB 8.5, con el fin de obtener un modelo que prediga la máxima cantidad de biomasa, que se puede obtener en un medio químicamente definido para la obtención de *E. coli* expresando la proteína DII. La velocidad máxima de crecimiento de células obtenida fue de 0,52 h⁻¹. La cantidad de biomasa obtenida fue de 2,02 g/L con un rendimiento biomasa-sustrato de 0,58. Se detectó a partir del balance de masa que 3,96 g de sulfuro de amonio en el medio MDG se encontraban en exceso.

Palabras clave: biomasa, *E.coli*, modelación, optimizar, rendimiento

Abstract

Dengue is a disease that affects a large part of the world's population, constitutes one of the main epidemiological hazards, so it has become an event whose surveillance, prevention and control, special interest in the health and science of our country. The Center for Genetic Engineering and Biotechnology (CIGB) of Havana, advances in a strategy created for the production of vaccination candidates of the four virus serotypes. The studies carried out were carried out in the technological development area of the center, and take place through a discontinuous fermentation process. The tests were carried out in zaranda for 24 h with a temperature of 37 °C and an agitation of 180. In this work a balance of mass and energy is made using the Matlab 8.5 computer program, in order to obtain a model that predicts the maximum amount of biomass, which can be obtained in a chemically defined medium to obtain *E. coli* expressing the DII protein. The maximum cell growth speed obtained was 0, 52 h⁻¹ the amount of

biomass obtained was 2, 02 g/l with a yield of 0, 58. It was detected from the mass balance that 3, 96 g of ammonium sulfide in the MDG medium were excessively.

Keywords: biomass, *E. coli*, modeling, optimize, yield.

1. Introducción

Una de las enfermedades infecciosas que con más fuerza afectan a Cuba es el virus del dengue. Este virus es transmitido por el mosquito Aedes Aegypti y anualmente se producen miles de muertes a escala global por esta enfermedad, que aún no cuenta con una vacuna para evitar su propagación. El virus se puede dividir en cuatro diferentes serotipos conocidos DEN I, DEN II, DEN III y DEN IV, diferenciados entre sí por la composición de su genoma y sus antígenos de superficie (1). Estas variaciones han contribuido a que no se haya podido desarrollar una vacuna para esta enfermedad ya que una persona que sea infectada por alguno de estos serotipos se vuelve inmune a al mismo pero sigue siendo vulnerable a los restantes y no ha sido posible de crear una vacuna que agrupe los cuatro serotipos por las diferencias en cuanto a sus antígenos. Nuestro país posee las condiciones ideales para la reproducción de su agente transmisor, el mosquito Aedes Aegypti (2).

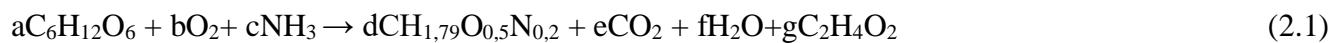
Por estas razones el centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de La Habana (CIGB) dedica sus esfuerzos en la investigación para hallar un tratamiento preventivo y eficaz para la erradicación de esta enfermedad. El área de Desarrollo Tecnológico del CIGB trabaja en la selección del mejor medio de cultivo para la expresión de la proteína DII del virus del Dengue.

La optimización de medios de cultivo consiste en encontrar las condiciones más favorables para el crecimiento o la expresión del producto de interés. También se basa en la correcta selección de los componentes a adicionar para obtener una nueva formulación definida, y el control estricto de la composición (3, 4). El objetivo de dicha investigación es establecer un modelo matemático que permita optimizar la composición de medios de cultivo químicamente definidos.

2. Materiales y Métodos

Con el fin de obtener un modelo que prediga la máxima cantidad de biomasa, que se puede obtener en un medio químicamente definido, se hace necesario el uso de herramientas matemáticas y computacionales.

El crecimiento de la biomasa se puede describir a partir de la ecuación estequiométrica siguiente:



Se utiliza el programa computacional MATLAB 8.5 como principal herramienta para el cálculo numérico con vectores y matrices. Se trabaja con el solucionador linprog que se encuentra en el paquete de herramientas de optimización. Esta función se usa específicamente para la solución de problemas lineales a partir de encontrar un mínimo global. Entonces, para el desarrollo de la investigación se sigue la secuencia de pasos que se presenta a continuación.

1. Programar la matriz estequiométrica y las restricciones de igualdad.
2. Definir la función objetivo teniendo en cuenta que se desea maximizar la biomasa.

3. Definir la matriz A_{eq} y el vector beq . Esta matriz se corresponde con las restricciones de igualdad lineales, y el vector representa el término derecho de la expresión $A_{eq} \cdot x = beq$.
4. Definir las restricciones de desigualdad, en donde A es la matriz de los coeficientes de dichas restricciones y b es el vector sujeto al término independiente, lo cual se muestra en la expresión $A \cdot x \leq b$.
5. Definir los vectores de límites inferiores (lb) y superiores (ub).
6. Programar la solución de acuerdo a los vectores definidos. En este caso se utiliza la expresión (2.2)

$$[x, fval, exitflag, output] = \text{linprog}(-f, A, b, A_{eq}, beq, lb, ub) \quad (2.2)$$

En la expresión 2.2, el término de la izquierda representa el argumento de salida, donde “ x ” constituye la solución encontrada por la función de optimización; “ $fval$ ” representa el valor de la función objetivo; “ $exitflag$ ” brinda las razones por las cuales el algoritmo ha terminado; y el “ $output$ ” es una estructura de salida que contiene información sobre los resultados de la optimización. En el término derecho de la expresión, el signo negativo de “ f ” significa que se está buscando un máximo global; y los otros términos corresponden a las matrices y vectores definidos en la simulación.

A continuación se muestran los valores del término $exitflag$ que se pueden obtener:

- 1, cuando la solución converge a un único valor.
- 0, cuando la solución no converge.
- -1, cuando la función de salida termina el algoritmo.
- -2, cuando no se ha encontrado un punto factible.

2.1. Definición de restricciones de balances de masa por elementos

La determinación de la concentración molar de los compuestos involucrados en el diseño y la obtención de la mayor cantidad de biomasa posible se realizó a partir de asumir estado estacionario y de realizar balances de masa por elementos. Mediante este procedimiento se obtiene un sistema de ecuaciones lineales donde las filas linealmente independientes representan los balances de masa de los elementos mayoritarios C, H, O y N, y las columnas representan los compuestos de las reacciones. Entonces, se construye la matriz estequiométrica normalizada compuesta por cuatro filas y 8 columnas.

Como la cantidad de compuestos es mayor que la cantidad de ecuaciones de balance de masa planteadas el sistema es indeterminado, lo que conlleva a que se plantee otro grupo de restricciones.

2.1.2. Restricciones de carácter energético

Para definir la restricción energética se tuvo en cuenta el coeficiente de respiración el cual representa la relación entre la velocidad específica de formación de CO_2 y la velocidad específica de consumo de O_2 . Esta relación para *E. coli* según (5) está dada por la ecuación (2.3) que se muestra a continuación.

$$0,75 \leq \frac{q_{CO_2}}{q_{O_2}} \leq 1,75 \quad (2.3)$$

2.1.3. Restricciones de carácter termodinámico

Para el desarrollo de la restricción de carácter termodinámico se analizaron los rendimientos energéticos de la biomasa (ε_b) y ácido acético formados (ε_a), así como la fracción de energía evolucionada en forma de calor metabólico (ε). Según, la suma de estos tres términos es igual a uno (por la primera Ley de la Termodinámica), tal y como se muestra en la ecuación (2.4).

$$\varepsilon_b + \varepsilon_a + \varepsilon = 1 \quad (2.4)$$

Los rendimientos de la biomasa y ácido acético formados representan el aporte de estos productos respecto a la energía del sustrato. Las ecuaciones para el cálculo de estos rendimientos son las ecuaciones presentadas a continuación (6).

$$\varepsilon_b = \frac{\gamma_b \cdot d}{\gamma_{glc} \cdot a} \quad (2.5)$$

$$\varepsilon_a = \frac{\gamma_a \cdot g}{\gamma_{glc} \cdot a} \quad (2.6)$$

La fracción de energía que se intercambia en forma de calor metabólico (ε) se calcula por la ecuación 2.7

$$\varepsilon = \frac{4 \cdot b}{\gamma_{glc} \cdot a} \quad (2.7)$$

Los rendimientos como la fracción de energía evolucionada están en función de los coeficientes estequiométricos representados en las ecuación 2.3, y de los grados de reducción de cada una de las sustancias.

La ecuación 2.8 constituye la expresión tomada de (6) para el cálculo de los grados de reducción de la biomasa, ácido acético y el sustrato respectivamente. Los términos nC, nH, nO, nN representan el número de átomos de carbono, hidrógeno, nitrógeno y oxígeno de las fórmulas químicas normalizadas para las sustancias analizadas.

$$\gamma_{b,a,glc} = 4 \cdot (nC) + (nH) - 2 \cdot (nO) - 3 \cdot (nN) \quad (2.8)$$

Para el cálculo de los coeficientes estequiométricos y teniendo en cuenta que se desean fijar el rendimiento energético global y las pérdidas de energía, se analizan valores de concentración de glucosa y biomasa obtenidos de manera experimental.

Tabla 1. Concentraciones de glucosa y biomasa transformados en 24 h, T=37°C, 180 min⁻¹

Reactivos	Concentración (g/L)
Glucosa	5,00
Biomasa	1,54

Teniendo en cuenta la ecuación 2.8, se analiza que en virtud de la segunda ley de la termodinámica siempre una fracción de la energía transferida en el proceso se disipa en forma de calor debido al

carácter irreversible de los procesos reales El 30% de la energía del sustrato será disipada en forma de calor al medio de cultivo.(7)

$$4 \cdot b \geq 0,3 \gamma_{\text{glc}} \cdot a \quad (2.9)$$

$$0 \geq -4 \cdot b + 0,3 \gamma_{\text{glc}} \cdot a \quad (2.10)$$

2.1.4. Definición de límites superiores e inferiores

En el desarrollo del procedimiento matemático se hace necesario la definición del intervalo límite de concentraciones de los reactivos involucrados en el análisis estequiométrico. En el caso de los límites superiores de la mayoría de los reactivos analizados, se tuvo en cuenta la composición del medio de cultivo estudiado. Sin embargo, para definir los límites inferiores se consideró el valor obtenido de ácido acético según (8) y los demás igual a cero. Considerando la normalización, los valores de concentración fueron afectados por el número de átomos de carbono correspondientes a cada reactivo involucrado en el estudio.

3. Resultados y Discusión

3.1. Estimación de la velocidad de producción de biomasa

La expresión correspondiente a la velocidad de crecimiento de la biomasa depende del patrón de crecimiento de los microorganismos, el cual se determina experimentalmente. El microorganismo de interés es *E. coli*, la cual presenta un patrón de crecimiento exponencial. Se inició la fermentación con una concentración celular de 0,358 uDO y se alcanzó una concentración final de 3,3 uDO pasadas las 17 horas que se fijaron para la realización del estudio.

En la curva que describe el comportamiento del crecimiento celular en el medio MDG (Figura 1) no se aprecia la fase de adaptación de las células, esto pudo deberse a que la primera toma de muestra se realizó 1,5 h después de comenzado el experimento, por lo que dicha fase pudo haberse desarrollado antes de esa hora. La fase de crecimiento exponencial se aprecia desde el inicio con la inoculación del cultivo extendiéndose aproximadamente 8 horas. Posteriormente se observa la fase estacionaria, donde están igualados el crecimiento y muerte celular por la falta de nutrientes y el alto contenido de desechos propios de la fermentación celular.

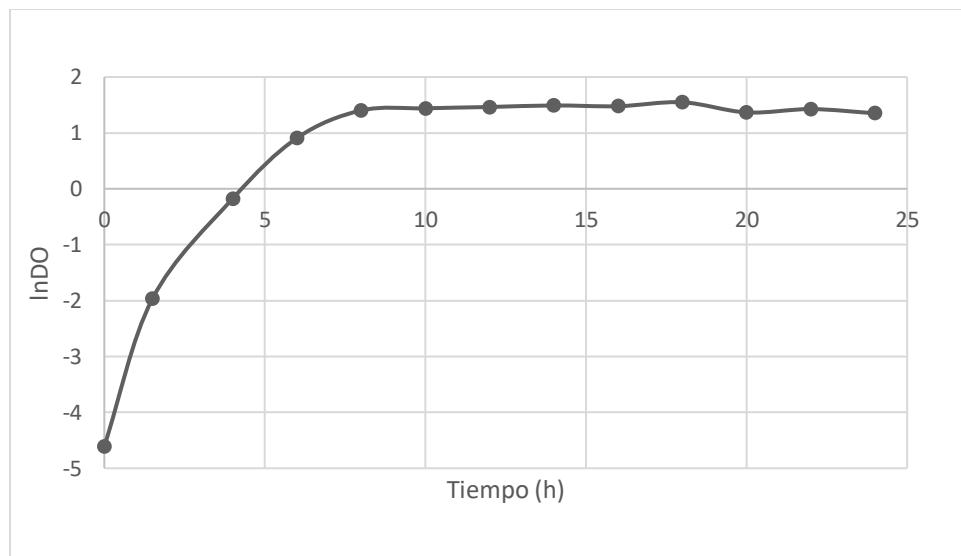


Figura 1. Comportamiento de la cinética de crecimiento en el medio de autoinducción MDG.

A través del análisis del gráfico de crecimiento celular es posible calcular la velocidad de crecimiento celular máxima mediante el cálculo del valor de la pendiente en la fase exponencial de crecimiento celular, dando un resultado de $0,52 \text{ h}^{-1}$ aproximadamente.

3.2 Obtención del modelo matemático a partir de cálculos estequiométricos

Para llevar a cabo los cálculos estequiométricos, son de vital importancia las fórmulas químicas normalizadas correspondientes a los compuestos que intervienen en el estudio. La tabla 2 muestra la composición elemental y la masa molar normalizadas de los compuestos tomados en consideración en el diseño incluyendo la biomasa.

Tabla 2. Fórmulas químicas y masas molares normalizadas a un átomo de carbono de los principales compuestos que conforman el medio de cultivo a diseñar

Compuestos	Fórmula química normalizada				Masa molar (g/mol)
	C	H	N	O	
Glucosa	1,00	2,00	0,00	1,00	30,00
Oxígeno	0,00	0,00	0,00	2,00	32,00
Amoníaco	0,00	3,00	1,00	0,00	17,03
Biomasa	1,00	1,79	0,20	0,50	24,59

Dióxido de carbono	1,00	0,00	0,00	2,00	44,00
Agua	0,00	2,00	0,00	1,00	18,00
Ácido acético	1,00	2,00	0,00	1,00	30,00

La ecuación estequiométrica normalizada queda:



3.2.1. Construcción de la matriz estequiométrica asociada a los balances de masa por elementos

A partir de las consideraciones analizadas anteriormente, y teniendo en cuenta que se desea conocer la concentración en el medio de cada reactivo y producto, se realizan balances de masa por elemento y se obtiene un sistema de cuatro ecuaciones linealmente independientes con 8 columnas que constituyen las composiciones normalizadas.

Los balances de masa por elemento para la construcción de la matriz estequiométrica se muestran en las siguientes ecuaciones, donde las incógnitas son los coeficientes a, b, c, d, e, f y g que se asocian con cada columna de la matriz.

$$\text{C: } 0 = -a + d + e + g \quad (3.2)$$

$$\text{H: } 0 = -2a - 3c + 1,79d + 2f + 2g \quad (3.3)$$

$$\text{N: } 0 = -c + 0,2d \quad (3.4)$$

$$\text{O: } 0 = -a - 2b - 0,5d + 2e + f + g \quad (3.5)$$

A continuación se presenta la matriz estequiométrica normalizada asociada a los balances de masa (ecuaciones 3.2 a 3.5). En la matriz se toman en cuenta los signos correspondientes a un reactivo (negativo) o producto (positivo) de acuerdo con la ecuación estequiométrica.

Matriz asociada a los balances de masa por elemento como restricciones de igualdad

	Glucosa	O_2	Amoníaco	Biomasa	Dióxido de carbono	Agua	Ácido acético
C	-1,00	0,00	0,00	1,00	1,00	0,00	1,00
H	-2,00	0,00	-3,00	...	1,79	2,00	2,00
N	0,00	0,00	-1,00	0,20	0,00	0,00	0,00
O	-1,00	-2,00	0,00	0,50	2,00	1,00	1,00

3.2.2. Definición de restricciones de carácter energético y termodinámico

La matriz contiene 8 incógnitas (en las columnas) que son los coeficientes estequiométricos de cada reactivo involucrado y producto formado, sin embargo, tiene solo cuatro filas linealmente

independientes. Esto indica que se debe buscar información adicional sobre los metabolitos que intervienen en el proceso. Para esto se establecen las ecuaciones, de acuerdo a lo descrito en el capítulo anterior, que describen las restricciones de carácter energético y termodinámico.

La ecuación 3.6 y 3.7 constituye el desarrollo de la razón 3.5 como una restricción de carácter energético.

$$-qCO_2 + 0,75 qO_2 \leq 0 \quad (3.6)$$

$$-1,50 qO_2 + qCO_2 \leq 0 \quad (3.7)$$

Para el desarrollo de las restricciones termodinámicas se calculan los grados de reducción de la biomasa, ácido acético y el sustrato. A continuación se muestran en la tabla 3 los grados de reducción calculados de cada uno de estos componentes.

Tabla 3. Grados de reducción de glucosa, ácido acético y biomasa

Metabolito	Grado de reducción
Glucosa	4,00
Biomasa	4,19
Ácido acético	4,00

La primera restricción termodinámica constituye el desarrollo de la ecuación 2.5:

$$\frac{\gamma_b \cdot d}{\gamma_{glc} \cdot a} + \frac{\gamma_a \cdot g}{\gamma_{glc} \cdot a} + \frac{4 \cdot b}{\gamma_{glc} \cdot a} = 1 \quad (3.8)$$

$$1,047 \frac{d}{a} + \frac{g}{a} + \frac{b}{a} = 1 \quad (3.9)$$

Teniendo en cuenta la ecuación 2.12 la segunda restricción termodinámica queda expresada:

$$0 \geq -4 \cdot b + 1,2 \cdot a \quad (3.10)$$

3.2.3. Definición del intervalo límite de concentraciones

Para la determinación del intervalo límite de concentraciones de los compuestos se analizan las siguientes consideraciones. En el caso de los límites superiores: la concentración superior de glucosa es igual a 0,166 mol/L y para el amoníaco 0,388 mol/L, normalizados a un átomo de carbono.

Para la estimación de los límites inferiores se tiene en cuenta que la concentración mínima de ácido acético reportada por (8) es igual a 0,03 mol/L

3.3. Simulación de los cálculos estequiométricos en MATLAB 8.5

Dentro de la gran variedad de problemas de optimización existe un tipo que puede ser formulado mediante relaciones lineales, y para la solución del mismo se desarrolló la teoría de la programación lineal.

La programación lineal permite la solución de problemas en los que la función objetivo y las restricciones son funciones lineales de las variables independientes, y la solución de los mismos debe encontrarse en algún lugar del contorno de las restricciones (9). Esta teoría, como parte de una estrategia de optimización, posibilita la obtención de la solución óptima de problemas indeterminados.

En esta investigación, la cantidad de restricciones formuladas es menor que el número de metabolitos a analizar por lo que el sistema de ecuaciones es indeterminado y se acude a la programación lineal como herramienta clave para la realización de los cálculos estequiométricos y el diseño de un medio de cultivo. Para el desarrollo de este procedimiento se utiliza la función *linprog* de MATLAB 8.5 y se sigue la metodología presentada en el capítulo anterior.

Luego de plantear la matriz y las restricciones como funciones lineales, se define la maximización de la concentración de biomasa como función objetivo, como se muestra en la ecuación 3.11, donde el número 4 indica la columna donde se ubica la concentración de biomasa en la matriz estequiométrica.

$$z = -1 \cdot x(4) \quad (3.11)$$

Posteriormente se define la matriz Aeq, la cual representa todos los componentes del lado izquierdo de las restricciones de igualdad. Además, estas restricciones fueron igualadas a cero, lo que indica la aparición del vector beq. A continuación se presenta la matriz Aeq.

Matriz Aeq asociada a las restricciones de igualdad

	Glucosa	O ₂	Amoníaco	Biomasa	Dioxido de carbono	Agua	Ácido acético
C	-1,00	0,00	0,00	1,00	1,00	0,00	1,00
H	-2,00	0,00	-3,00	...	1,79	0,00	2,00
N	0,00	0,00	-1,00	0,20	0,00	0,00	0,00
O	-1,00	-2,00	0,00	0,50	2,00	1,00	1,00
RT	-4,00	4,00	0,00	4,19	0,00	0,00	4,00

Una vez definida la matriz de las restricciones de igualdad, se define la matriz de las restricciones de desigualdad (A).

Matriz A asociada a las restricciones de desigualdad

	Glucosa	O ₂	...	Dioxido de carbono	...
RT	0,30	-1,00	...	-	...
RE	-	-1,50	...	1,00	...
RE	-	0,75	...	-1,00	...

Posteriormente se definieron los vectores lb y ub con magnitud igual a 7x1.

Al contar con todos los elementos necesarios se procede a realizar la simulación, a partir de la expresión 2.2. Se obtuvo un valor de exitflag igual a uno, lo que indica que la solución converge a un único valor. En la tabla 4 se muestran los coeficientes estequiométricos de los compuestos transformados.

Tabla 4. Cantidadas de sustancias de los compuestos transformados en 24 h, T=37°C, 180 min⁻¹

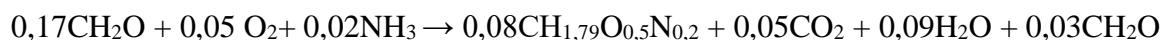
Compuestos	Coeficiente estequiométrico (mol)	
Glucosa	a	0,17
Oxígeno	b	0,05
Amoníaco	c	0,02
Biomasa	d	0,08
Dióxido de carbono	e	0,05
Agua	f	0,09
Ácido acético	g	0,03

Una vez obtenidos los valores de los coeficientes estequiométricos, se obtienen los rendimientos energéticos para la biomasa, ácido acético y la fracción de energía intercambiada .Los resultados se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Rendimientos energéticos

Metabolito	Rendimiento energético
Biomasa	0,58
Ácido acético	0,18
Fracción de energía	0,30

Con los resultados anteriores es posible plantear la ecuación estequiométrica del crecimiento de la biomasa.



3.4. Comparación de la cantidad de biomasa obtenida de forma experimental y por simulación

La cantidad de biomasa reportada de forma experimental fue de 1,54 g/L, sin embargo, mediante la simulación se obtuvo 2,02 g/L. Las diferencias pueden estar dadas por pérdidas de energía en el proceso y otras reacciones metabólicas que no se tuvieron en cuenta.

Se procede a calcular el porcentaje de error:

$$\%error = 1 - \frac{\text{masa de biomasa experimental}}{\text{masa de biomasa por simulación}} * 100$$

$$\%error = 1 - \frac{1,54}{2,02} * 100$$

$$\%error = 23,76$$

El modelo obtenido tiene un error mayor del 20 % con respecto a los resultados experimentales, lo cual puede estar dado a la simplicidad del sistema, las estimaciones realizadas y los datos tomados de la bibliografía. Para un mejor ajuste es necesario la realización de nuevos ensayos en los que se pueda determinar concentración de fuente de carbono y ácido acético en el tiempo.

3.5. Cálculo de la cantidad necesaria de la fuente de nitrógeno

La ecuación 3.1 utilizada para el balance de masa toma como fuente de nitrógeno el amoniaco, pero la fuente real que brinda los requerimientos de nitrógeno es el sulfato de amonio. Por esta razón es necesario calcular la cantidad de este compuesto que se necesita para la producción de biomasa.

$$\sigma NH_3 = \frac{14 + 1 \cdot 3}{14 \cdot 2 + 1 \cdot 8 + 32 + 16 \cdot 4}$$

$$\sigma NH_3 = 0,129$$

$$m(NH_3) = c \cdot MM(NH_3)$$

$$m(NH_3) = 0,02 \text{ mol} \cdot 17 \text{ g/mol}$$

$$m(NH_3) = 0,34 \text{ g}$$

Luego de obtener la fracción molar del amoniaco en el sulfato de amonio puede calcularse su masa mediante la ecuación 3.12:

$$m((NH_4)_2SO_4) = \frac{m(NH_3)}{\sigma(NH_3)} \quad (3.12)$$

$$m((NH_4)_2SO_4) = \frac{0,34 \text{ g}}{0,129}$$

$$m((NH_4)_2SO_4) = 2,64 \text{ g}$$

La masa real que se encuentra en el medio de cultivo es de 6,6 g y la que se necesita es de 2,64 g. Entonces:

$$m((NH_4)_2SO_4) \text{ exceso} = 6,6g - 2,64g$$

$$m((NH_4)_2SO_4) \text{ exceso} = 3,96g$$

A partir de este resultado se propone que el medio de cultivo contenga 2,64 g de sulfato de amonio como mínimo.

4. Conclusiones

En el presente trabajo se caracterizó el proceso de fermentación a escala de zaranda con un medio químicamente definido, alcanzando un crecimiento celular de 3,3 uDO, a las 17 horas de cultivo y con un valor de velocidad específica de crecimiento máxima ($\mu_{\text{máx}}$) de 0,52 h⁻¹. Se construyó la matriz estequiométrica normalizada asociada a los balances de masa compuesta por cuatro filas que representan los elementos mayoritarios C, H, O y N y 8 columnas que representan los compuestos de las reacciones. Se definieron las restricciones de carácter energético y termodinámico, así como los intervalos límites de concentraciones. Se comprobó que el medio de cultivo MDG tiene sulfato de amonio en exceso, por tanto, se propuso un medio que contenga 2,64 g/L de esta sal. El modelo matemático que permite optimizar la composición del medio de cultivo definido es $0,17CH_2O + 0,05 O_2 + 0,02NH_3 \rightarrow 0,08CH_{1,79}O_{0,5}N_{0,2} + 0,05CO_2 + 0,09H_2O + 0,03CH_2O$ con error de 23% aproximadamente .

Referencias

1. Velandia ML, Castellanos JE. Virus del dengue: estructura y ciclo viral. *Infectio*. 2011;15(1):33-43.
2. Guzmán MG, Vázquez S, Álvarez M, Pelegrino JL, Amores DR, Martínez PA, et al. Vigilancia de laboratorio de dengue y otros arbovirus en Cuba, 1970-2017. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2019;71(1):1-31.
3. Zhang H, Wang H, Liu M, Zhang T, Zhang J, Wang X, et al. Rational development of a serum-free medium and fed-batch process for a GS-CHO cell line expressing recombinant antibody. *Cytotechnology*. 2013;65(3):363-78.
4. Zhang Y. High cell density perfusion process development for antibody producing Chinese Hamster Ovary cells: KTH Royal Institute of Technology; (2017).
5. Vasilakou E, van Loosdrecht MCM, Wahl SA. Escherichia coli metabolism under short-term repetitive substrate dynamics: adaptation and trade-offs. *Microbial Cell Factories*. 2020;19(1):116.
6. Erickson L, Viesturs U. Application of Mass and Energy Balance Regularities to Product Formation. *Biotechnology and Bioengineering*. 1978;20:1595-621.
7. Dustet Mendoza JC, Izquierdo-Kulich E. Aplicación de balances de masa y energía al proceso de fermentación en estado sólido de bagazo de caña de azúcar con *Aspergillus niger*. 2004.
8. Luli GW, Strohl WR. Comparison of growth, acetate production, and acetate inhibition of *Escherichia coli* strains in batch and fed-batch fermentations. *Applied and environmental microbiology*. 1990;56(4):1004-11.
9. Glandt ED, Klein MT, Edgar TF. Optimization of Chemical Processes. Second ed. Engineering M-HC, editor: Advisory Board; 2001.

