

# Interpolación aplicada a la determinación del Crecimiento Microbiano

Iván Vaca Poquioma<sup>1,2</sup>      Nils Murrugarra Llerena<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Sociedad de Estudiantes de Ciencia de la Computación

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Trujillo-Perú

nils@seccperu.org,    ivan@seccperu.org

## Resumen

*En el presente paper presentaremos una aplicación de la interpolación a la biotecnología, la cual consiste en interpolar una ecuación, por la cual se determina el número de células de un microorganismo en un tiempo dado, disminuyendo el grado de error ocasionado por la temperatura, el medio de cultivo, la rapidez de adaptación de las células, etc, para la creación de determinados productos. Nuestro problema es obtener de manera más exacta el tiempo en el cual existe una cantidad  $n$  de células y para ello se requiere de un conteo manual en los primeros datos.*

## 1. Introducción

El tratamiento de las bacterias y de los microorganismos es una de las revelaciones del último milenio y como conjunto se llama Biotecnología (Microbiología Industrial), debido a que abarcado todos los ámbitos de la vida del ser humano, ello se ve reflejado en el uso y aplicación que se da en la: Medicina(vacunas), Industria Alimenticia(yogurt), Industria Cervecera, Enología, etc. Para ello es indispensable saber de qué manera y en qué momento se necesitan los microorganismos. La manera y el momento están determinadas por los factores para la elaboración de productos (temperatura, ph, nutrientes, etc) y el tiempo necesario que necesita ser determinado en cada fase del crecimiento Microbiano.

Identificar el tiempo en las fases del crecimiento microbiano es importante gracias a que en cada fase las bacterias adquieren ciertas características celulares que hacen que presenten propiedades diferentes, y todo ello influye a que en cada fase se pueda aprovechar sus propiedades para elaborar diferentes productos, motivo por el cual determinamos la cantidad de microorganismos necesarios en un tiempo dado con respecto a la fase exponencial (que se trata en el presente paper) con la Interpolación de Newton.

Continuaremos con la sección 2 en el que se muestra trabajos previos. En las siguientes secciones se mostrara el Crecimiento Microbiano (sección 3), Interpolación crecimiento microbiano (sección 4), experimentos y resultados (sección 5), discusión de experimentos (sección 6), nuestras conclusiones (sección 7) y por ultimo presentamos nuestras referencias.

## 2. Trabajos Previos

No se conoce ninguna investigación que nos permita determinar el tiempo exacto u aproximado, en cual podemos saber que el cultivo de un determinado microorganismo (bacteria u hongo) llega a una respectiva fase del crecimiento microbiano de manera que nos permita identificar la aproximación del tiempo para obtener un cultivo adecuado para la producción de un determinado producto. La única manera con que se cuenta es el uso de una ecuación [Brock, Madigan, 1997] la que nosotros interpolaremos.

### 3. Crecimiento Microbiano

Antes de comenzar debemos hablar de las fases que presenta, las cuales son: (1) la *fase latencia* en la que el microorganismo se adapta a las nuevas condiciones y pone en marcha su maquinaria metabólica para poder crecer activamente. La duración de esta fase es variable y en general es mayor cuanto más grande sea el cambio en las condiciones en las que se encuentra el microorganismo. (2) La *fase exponencial* es en la que se da todo el crecimiento, la estudiaremos con más detalle en los siguientes párrafos. (3) La *fase estacionaria* en la que no hay aumento neto de microorganismos, lo que no significa que no se dividan algunos, sino que la aparición de nuevos individuos se compensa por la muerte de otros. (4) La *fase de muerte* en la que el número de microorganismos vivos disminuye. En la figura 1 podemos apreciar un gráfico referente a las fases mencionadas:

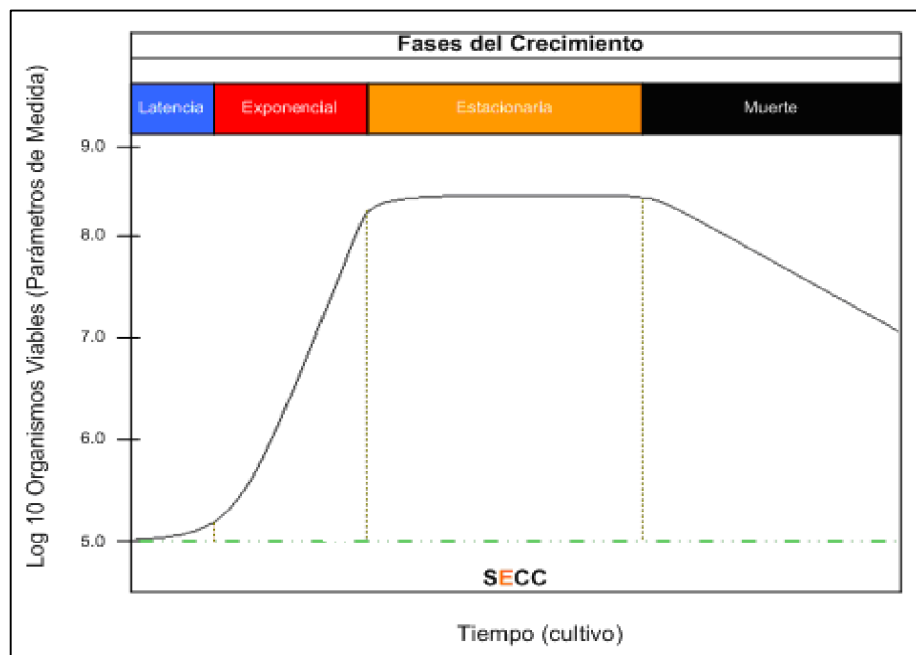


Figura 1: Gráfica de las Fases de Crecimiento Celular

La gráfica anterior ha sido obtenida de [Peral, 1993] y [Brock, Madigan, 1993]. Pág. 151

Es importante conocer la cinética de crecimiento de los cultivos microbianos porque es necesario poder predecir cómo va a evolucionar un cultivo, cómo va a ir consumiéndose el substrato y cómo se va a ir acumulando el producto de una fermentación.

Las células aisladas cultivadas en un volumen finito de medio de cultivo apropiado van utilizando los nutrientes que tienen disponibles con la mayor eficiencia y rapidez que pueden, sintetizando sus propios componentes celulares y dividiéndose en cuanto han podido duplicar su masa y su material genético. El tiempo que tarda una célula en hacer todo lo anterior es lo que conocemos como *tiempo de generación* y puede variar desde 15 a 20 minutos o varias horas, este

tiempo no es el mismo bajo todas las condiciones, también depende en gran medida de los nutrientes presentes en el medio de cultivo. Cada vez que transcurre un tiempo de generación, el número de células se duplica, siguiendo, por tanto, un incremento exponencial (fase exponencial).

$$2 \rightarrow 2^2 \rightarrow 2^3 \rightarrow 2^4 \rightarrow \dots \rightarrow 2^n$$

Entre los datos experimentales necesarios para calcular el tiempo de generación, figuran los siguientes:

- a. El número de bacterias iniciales.
- b. El número de bacterias al final de un intervalo dado.
- c. El intervalo.

Para simplificar esto, examinemos la situación hipotética siguiente. Una bacteria es sembrada en un medio y en cuanto transcurre el tiempo de generación tendremos 2 células; al cabo de otra generación, serán 4 células y, al final de la tercera, 8. Cada generación sucesiva y suponiendo que no mueren células, duplicara la población. La relación entre el número de células y generaciones se puede expresar en una serie de ecuaciones, donde:

B=Número de Bacterias sembradas en un medio, o la cuenta de bacterias en el tiempo cero.

b=Número de bacterias al final de un período.

t=Periodo o tiempo.

T=Tiempo de generación.

n=Número de generaciones.

Log=logaritmo de base 10(logaritmos comunes)

(Los logaritmos se utilizan con frecuencia para representar gráficamente o expresar de otra manera las poblaciones bacterianas).

Empezando como una célula, la población b al final de un periodo dado puede expresarse así:

$$b=1*2^n \quad (1)$$

En donde  $2^n$  es la población bacteriana después de la n-sima generación. Aunque en condiciones prácticas, el número de bacterias B que se introducen al medio en el tiempo cero, no es una sino al parecer varios miles, por lo que la formula ahora es como sigue:

$$b=B*2^n \quad (2)$$

Resolviendo la ecuación (2) para n, tenemos:

$$\log b = \log B + n * \log 2$$

$$n = \frac{\log b - \log B}{\log 2} \quad (3)$$

Si ahora sustituimos el valor del  $\log 2$ , que es 0.301, en la ecuación anterior se tendrá:

$$n = 3.3 * \log \frac{b}{B} \quad (4)$$

De este modo, mediante la ecuación (4) podemos calcular el número de generaciones que han tenido lugar, a condición de que se sepa la población inicial B y la población b después del tiempo t.

El tiempo de reproducción G es igual a t (que es el tiempo que transcurre entre b y B) dividido entre el número de generaciones n, ó

$$G = \frac{t}{n} = \frac{t}{3.3 * \log(b/B)} \quad (5)$$

La anterior información fue extraída de [Peral, 1993] y [Brock, Madigan, 1993].

#### 4. Interpolación crecimiento microbiano

Siendo el método de interpolación, la que se ajusta a estos tipos de caso debido que tenemos puntos discretos los cuales provienen de una ecuación cuyo resultado son diferidos por los agentes reactores del crecimiento bacteriano, que permiten su cambio e irregularidad. Todo ello conlleva a que utilicemos un método que nos permita encontrar nuevos puntos aproximados a partir de puntos discretos reales.

Analizaremos qué método es el ideal para obtener una ecuación polinomial adecuada y por ende una respuesta para los nuevos puntos que se intentan hallar en el crecimiento bacteriano y por ello analizamos cada polinomio que se origina de su respectiva interpolación:

- **Polinomio de Lagrange:** Por ser un método que se ajusta a todos los a todos los puntos que son utilizados, esto genera que el polinomio sea alto porque los números de puntos suelen ser muchos, por consiguiente su coste computacional también es alto.
- **Polinomio de Neville y Aitken:** Actúa con un cambio entre el análisis entre diferentes puntos, pero de igual manera el polinomio suele ser muy alto, teniendo el mismo problema como el método de Lagrange.
- **Polinomio de Hermite:** Nos ofrece el mismo camino que el polinomio de de Lagrange con una añadidura, lo cual descartamos por tiempo de procesamiento, porque además éste método provoca que los polinomios resultantes sean de mayor grado que el polinomio de Lagrange.

- **Polinomio de Newton:** Su método de diferencias divididas permite que el polinomio se asemeje mucho a la función, sobretodo al comportamiento real de los puntos discretos. Además el tiempo de procesamiento con respecto cantidad de puntos discretos que se pueden analizar, suele ser entre todos los métodos, el que ofrece mejor rendimiento.

La aplicación que proponemos consta en interpolar una ecuación que tenga como componentes en el eje x: números de células y en el eje y el tiempo en el cual se tienen el número de células  $x(i)$  para lo cual nos será de ayuda la formula (5).

Usamos la interpolación para disminuir el grado de error ocasionado por la temperatura, medio de cultivo, rapidez de adaptación de las células, etc.

Para la interpolación usaremos el algoritmo de Newton, descrito en Algoritmo 1.

---

**Algoritmo 1** Interpolación por Newton (m, x, y, z)

---

**Requiere:**  $m(n^\circ \text{ de punto}) \geq 0$ , x(arreglo en abscisas), y(arreglo en ordenadas), z(valor a evaluar)

**Asegurar:** obtener valor de función interpolada teniendo en cuenta x e y.

**Para**  $i \in 1$  **hasta** m

vector(i)  $\leftarrow$  y(i)

**Fin-Para**

**Para**  $k \in 1$  **hasta** m-1

**Para**  $i \in m$  **hasta** k+1 **con paso** -1

vector(i)  $\leftarrow$  (vector(i)-vector(i-1))/(x(i)-x(i-k));

**Fin-Para**

**Fin-Para**

r  $\leftarrow$  vector(m);

**Para**  $i \in m-1$  **hasta** 1 **con paso** -1

r  $\leftarrow$  r\*(z-x(i))+vector(i);

**Fin-Para**

---

## 5. Experimentos y Resultados

A continuación analizaremos el algoritmo con datos reales de un análisis de laboratorio de una investigación realizada. Tomemos en cuenta los datos los datos del cuadro 1, los que usaremos para nuestro método de interpolación, los que fueron tomados de un microorganismo en un colonia de *Sacchromyces Cerevisiae*, y el agente reactor Airlift, en un bioproceso efectuado a pH: 4.0, en una temperatura:  $22 \pm 1$  °C. En éste cuadro veremos dos columnas una determinada por el tiempo expresadas en horas (h) y el número de células.

Tiempo	Nº de Células
0	$2.64 \cdot 10^5$
2	$1.84 \cdot 10^7$
4	$2.53 \cdot 10^8$
6	$2.95 \cdot 10^9$
8	$4.35 \cdot 10^{10}$
10	$9.13 \cdot 10^{12}$
12	$7.67 \cdot 10^{14}$
14	$8.98 \cdot 10^{14}$
16	$1.01 \cdot 10^{15}$
18	$1.85 \cdot 10^{16}$
20	$6.80 \cdot 10^{17}$
22	$2.06 \cdot 10^{18}$
24	$6.31 \cdot 10^{20}$
26	$8.33 \cdot 10^{21}$
28	$2.82 \cdot 10^{24}$

Cuadro 1. Datos usados para interpolación

Los datos obtenidos para la prueba de la importación fueron obtenidas de una Tesis “Producción de la Biomasa de la *Saccharomyces Cerevisiae*” – Universidad Nacional de Trujillo

Vamos a ver cómo el método de Newton, obtiene resultados muy cercanos a los datos reales, en éste caso sólo se requiere saber el comportamiento en la fase Logarítmica y Exponencial, porque son las fases en donde se trabajan para producir productos.

### *Fase Logarítmica*

Aquí vemos que en la Fig. 2, algunos segmentos de la curva de Crecimiento bacteriano, en éste caso que los valores reales muestran la curva de la fase Logarítmica, en la gráfica superior muestra a los valores reales de los datos de laboratorio con una curva azul, y en la gráfica inferior se muestra las el comportamiento que el polinomio de Newton arroja como resultado una curva de color verde semejante a la curva real, en la cual nos demuestra que los valores obtenidos por el método de diferencias divididas tiene un alcance cercano para la curva del crecimiento bacteriano.

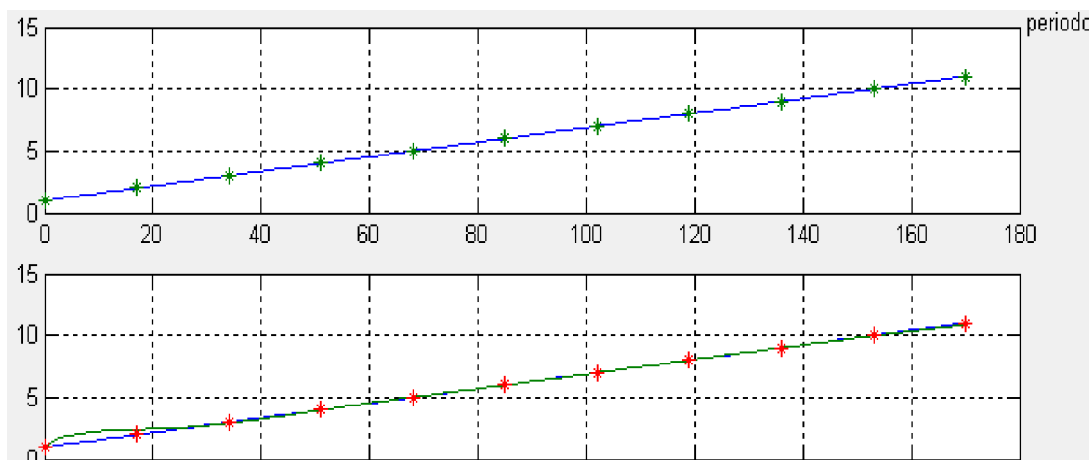


Figura 1: Se muestran las curvas de la Fase Logarítmica, en la parte superior la curva con valores reales y en la parte superior se muestra la curva con la Interpolación de Newton.

### Fase Exponencial

En la en ésta fase sucede lo mismo que en el caso anterior, en la parte superior muestra la curva azul que muestra los valores reales y en la parte inferior se muestra la curva generada por el Método de Interpolación de Newton (curva verde). Podemos apreciar que la curva es similar a la de la curva que está formada por los valores obtenidos en el laboratorio.

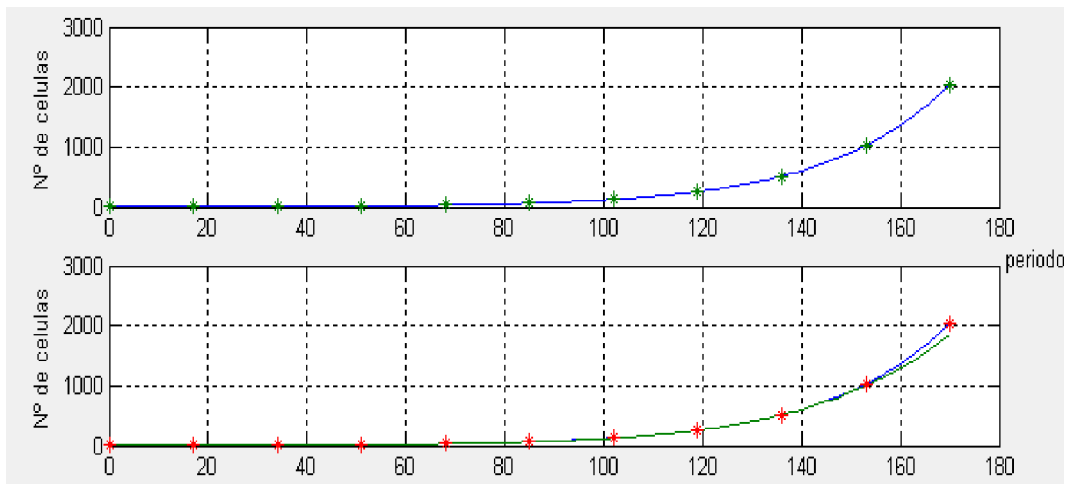


Figura 2: Se muestran las curvas de la Fase Logarítmica, en la parte superior la curva con valores reales y en la parte superior se muestra la curva con la Interpolación de Newton.

El método nos muestra como resultado el siguiente gráfico, que nos permite divisar el comportamiento del crecimiento bacteriano de la *Sacchomyces Cerevisiae*:

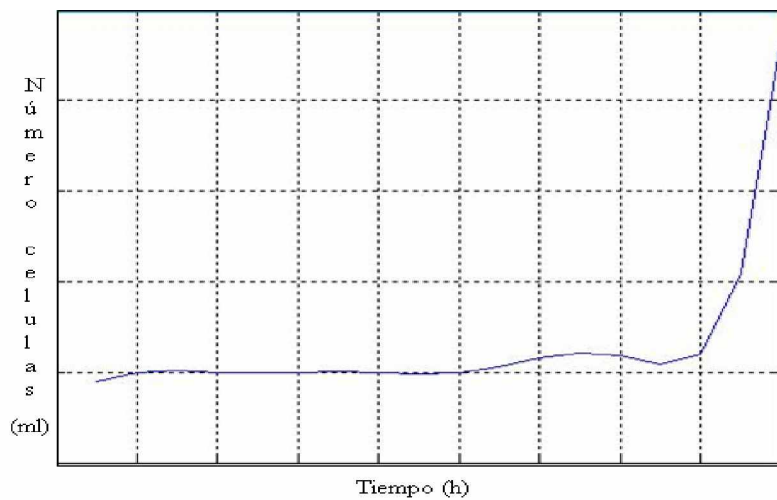


Figura 3: Gráfico de la Función con datos experimentales tomados del cuadro 1

## **6. Discusión de los Experimentos**

Como resultado de nuestro experimento arrojé el dibujo mostrado en la figura 2, el cual representa teniendo en cuenta la figura 1; la fase de latencia y exponencial. Pero esta figura 2 presenta pequeños altibajos que vienen a hacer el grado de error al que tiene la función experimental.

Este grado de error viene ser dado por el medio de cultivo, temperatura, etc. Pero gracias a la interpolación este problema es solucionado.

## **7. Conclusiones**

Con el método de interpolación logramos disminuir cierto grado de errores y con la aplicación de la interpolación a partir de valores previos es posible que ésta vaya determinando su comportamiento variable, logrando obtener una función más acorde a la realidad y con un método que nos permite determinar la cantidad de células y el tiempo en que se obtendrán.

La fórmula usada en la fase exponencial puede generar cierto margen de error, el cuál puede ser contrarrestado usando la interpolación, y esto debido a que los primeros valores obtenidos por el método experimental son inestable por misma adaptación que sufren los microorganismos la los factores de crecimiento.

La interpolación es usada para obtener resultados más veraces al minimizar el error en la función usada.

En la figura 2 nos muestra tanto los datos del análisis que las bacterias se adecuan al ambiente (temperatura, ph, etc), como también se refleja en la gráfica que emite la interpolación, que muestra la adaptabilidad de las microorganismos a su ambiente y por ello el crecimiento es irregular hasta que logran la adaptabilidad y en base a ello surge una reproducción continua es en donde la fase exponencial muestra como crece.

## **Referencias**

- [Nakamura, 1997] S. Nakamura (1997). Análisis numérico y visualización gráfica con MATLAB. Prentice Hall.
- [Brock, Madigan, 1997] Brock, M. Madigan(1997). Biología de los microorganismos. Prentice Hall.
- [Brock, Madigan, 1993] Brock, M. Madigan(1993).Microbiología. Prentice Hall.
- [Peral, 1993] T. Peral (1993), Introducción a la microbiología, Acribia.