

Artículo de Revisión

MODELOS MATEMÁTICOS EN LA CINÉTICA ENZIMÁTICA. UNA REVISIÓN

A REVIEW OF MATHEMATICAL MODELS IN ENZYME KINETICS

Maritza Paola Maisincho Asqui ^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-4632-4946>
María Hipatia Delgado Demera ² <https://orcid.org/0000-0002-5815-8981>
Carlos Alfredo Cedeño Palacios ³ <https://orcid.org/0000-0002-2698-9254>

¹ Estudiante de Maestría Académica con Trayectoria de Investigación en Ingeniería Química. Instituto de Posgrado. Universidad Técnica de Manabí, Av. Urbina y Che Guevara, Portoviejo, Manabí, Ecuador.

² Departamento de Ciencias Veterinarias. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Técnica de Manabí, Av. Urbina y Che Guevara, Portoviejo, Manabí, Ecuador.

³ Departamento de Procesos Químicos. Facultad de Ciencias Matemáticas, Físicas y Químicas. Universidad Técnica de Manabí, Av. Urbina y Che Guevara, Portoviejo, Manabí, Ecuador.

Recibido: Septiembre 16, 2021; Revisado: Octubre 12, 2021; Aceptado: Octubre 31, 2021

RESUMEN

Introducción:

A nivel industrial la utilización de enzimas se ha ido incrementando a medida que se han optimizado sus procesos de producción, estabilización y condiciones operativas de la mano de la minimización de los costos asociados a su uso y de la sustentabilidad ambiental. El uso de la modelación matemática ha sido un factor clave para este avance, por lo que es un área de gran interés científico.

Objetivo:

Conocer el estado del arte en esta área del conocimiento, resaltando los hallazgos más exitosos y promisorios publicados recientemente.

Materiales y Métodos:

Se realizó una búsqueda sistemática de publicaciones recientes de alto impacto entre el 2015 y el 2021 en bases de datos reconocidas internacionalmente, y se llevó a cabo un análisis cualitativo/comparativo de los enfoques y contribuciones de la literatura seleccionada.

Resultados y Discusión:

Se evidenció que la mayoría de los modelos matemáticos desarrollados parten de la ecuación cinética de Michaelis-Menten pero las simplificaciones asumidas, las condiciones operativas evaluadas y los métodos utilizados para la resolución de estos



Este es un artículo de acceso abierto bajo una Licencia *Creative Commons* Atribución-No Comercial 4.0 Internacional, lo que permite copiar, distribuir, exhibir y representar la obra y hacer obras derivadas para fines no comerciales.

* Autor para la correspondencia: Maritza P. Maisincho, Email: marymaisincho@gmail.com



sistemas, definen la singularidad y complejidad de cada investigación, lo que hace compleja su comparación o implementación de manera estandarizada.

Conclusiones:

En todos los casos, los modelos planteados se ajustaron a resultados experimentales o se observó concordancia al utilizar diferentes métodos de resolución matemática, lo que puede aportar valiosa información en la mejora de procesos y en el diseño de equipos, minimizando costos y tiempo de experimentación, a través de estrategias más amigables con el medio ambiente.

Palabras clave: cinética; enzimas; Michaelis-Menten; modelación; modelos matemáticos.

ABSTRACT

Introduction:

Industrially, the use of enzymes has increased over time, as their production processes, stabilization and operating conditions have been optimized. Meanwhile associated with their use are minimized with environmental sustainability. The use of mathematical modeling has been a key factor in this advance, making it an great scientific interest area.

Objective:

To know the state of the art in this area of knowledge, highlighting the most successful and promising findings at present.

Materials and Methods:

A systematic search of recent high-impact publications between 2015 and 2021 was carried out in internationally recognized databases. A qualitative/comparative analysis of the approaches and contributions of the selected literature was carried out.

Results and Discussion:

It was evidenced that most of the mathematical models was developed from the Michaelis-Menten kinetic equation, but the simplifications assumed, the operating conditions and the mathematical methods used to solve these systems define the singularity and complexity of each investigation, which makes complex their comparison or implementation in a standardized way.

Conclusions:

In all cases, the proposed models were adjusted to experimental results or they agreed when different mathematical resolution methods were used. These results can provide valuable information for processes improvement and for equipment design, minimizing costs and time of experimentation and being more friendly to the environment.

Keywords: kinetics; enzyme; Michaelis-Menten; Modeling; Mathematical Models.

1. INTRODUCCIÓN

A nivel industrial la utilización de enzimas se ha ido incrementando a lo largo del tiempo, a medida que se han optimizado sus procesos de producción, estabilización y condiciones operativas, de la mano de la minimización de los costos asociados a su uso

y de la sustentabilidad ambiental. En el caso de la industria es frecuente, que la utilización de enzimas sea considerada recién cuando se ha agotado el arsenal de reacciones químicas disponibles para un objetivo dado, aunque el uso de enzimas conlleva numerosas ventajas (Olkiewicz y col., 2021). Esto se debe, a que en muchos casos se desconocen enzimas con las actividades requeridas. Por tal razón, el descubrimiento y la explotación de nuevos tipos de enzimas, el mejoramiento de sus propiedades, y la optimización de sus procesos (Capparelli y Lodeiro, 2017), se han convertido en nuevos retos de la modelación matemática.

En la actualidad, son principalmente utilizadas en aplicaciones técnicas, para la catálisis de procesos relacionados a la industria alimentaria, cosmética, farmacéutica, síntesis química, investigación y desarrollo (Capparelli y Lodeiro, 2017), o más recientemente en la química verde, como la producción de biocombustibles (Gojun y col., 2019; Olkiewicz y col., 2021). A pesar de ello, algunas áreas, como los procesos a gran escala con enzimas inmovilizadas apenas está comenzando (Narayanan y col., 2017).

El modelado matemático es un proceso clave para describir el comportamiento de las redes biológicas (Kim y col., 2018) y es una herramienta de gran importancia para describir y predecir el comportamiento de un bioproceso (Marasović y col., 2017), primero a escala de laboratorio, para luego escalar a nivel piloto o industrial (González, 2018). La matematización transforma el modelo real en un modelo matemático que consta de determinadas ecuaciones. Trabajar matemáticamente (calcular, resolver ecuaciones, etc.) produce resultados matemáticos, que se interpretan en el mundo real como resultados reales (Veeramuni, 2019).

La naturaleza no lineal de las reacciones enzimáticas y la gran cantidad de parámetros que involucra, han causado problemas importantes con respecto a la simulación eficiente de esas reacciones (Rajendran y col., 2017), (Meena y col., 2010). La estimación precisa de los principales parámetros cinéticos enzimáticos como K_m (constante de Michaelis) y V_{max} (Velocidad inicial máxima) derivados de la ecuación de Michaelis-Menten es imprescindible en la biología moderna ya que muchas de las reacciones enzimáticas pueden ser modeladas con esta ecuación (Marasović y col., 2017), la cual ha sido utilizada ampliamente por más de un siglo para estimar los parámetros cinéticos enzimáticos a partir de las curvas del avance de la reacción (Choi y col., 2017; Ingalls, 2018; Herrera y col., 2019). La linealización de ecuaciones cinéticas es una práctica ampliamente establecida para determinar estos parámetros en la catálisis química y enzimática, aunque con frecuencia puede dar estimaciones engañosas. El uso de técnicas de ajuste por mínimos cuadrados no lineales también se usa regularmente, pero puede ser poco fiable cuando se tienen valores atípicos (Marasović y col., 2017). Nuevos métodos y estrategias de mayor robustez han sido desarrollados en los últimos años, con el fin de aumentar el ajuste de los parámetros experimentales con los modelos formulados.

Por ello, en la presente investigación se recopiló una gran cantidad de investigaciones con el objetivo de conocer el estado del arte en esta área del conocimiento, resaltando los hallazgos más exitosos y promisorios publicados recientemente, y de tanta importancia para los procesos químicos, biológicos, bioquímicos, sus industrias relacionadas y las áreas de desarrollo a futuro, y así seguir avanzando en las técnicas, procedimientos y tecnologías, que emplean la modelación matemática como

herramienta para la minimización de tiempo y costos operativos, con un mínimo impacto al medio ambiente, y la evaluación, diseño y seguimiento de las reacciones enzimáticas a escala experimental, piloto e industrial.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una búsqueda sistemática de publicaciones recientes entre los años 2015 y 2021 en bases de datos reconocidas: ScienceDirect, PudMed, Scopus, SciELO, Redalyc y Google Scholar, teniendo en cuenta los artículos que tuvieran en algún campo las palabras claves de esta investigación, en inglés: Enzyme kinetics, Mathematical Models, Modeling, Michaelis-Menten, y español: Cinética enzimática, Modelos Matemáticos, Modelación, Michaelis-Menten. Utilizando adicionalmente los operadores booleanos “y” u “o” (Martínez, 2014). A partir de estas publicaciones se elaboró el presente artículo de revisión, y para los trabajos más específicos, una tabla resumen con la información más relevante de cada investigación: referencia, tipo de proceso y reacción, condiciones de operación evaluadas en la investigación, modelo(s) matemático(s), procesamiento de los datos y resultados. Utilizando estos datos, se llevó a cabo un análisis cualitativo/comparativo de los enfoques y contribuciones de la literatura seleccionada, y así verificar el estado del arte de la aplicación de modelación matemática en la cinética enzimática.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Procesos y condiciones operativas

Los procesos que involucran reacciones enzimáticas son muy variados, y aún más, las diversas condiciones operativas que pueden establecerse para lograr obtener los resultados esperados. Una de las características que resulta común en las investigaciones en el área de la modelación matemática en general, y particularmente en la cinética enzimática, es la simplificación de los sistemas (bastante complejos, como los planteados en el trabajo de Orbegoso, (2016)) asumiendo la invariabilidad de algunos parámetros (constantes), sistemas continuos, semi-continuos o por lotes en estado estacionario, balances de masa considerando reactores y mezclas ideales, distribución homogénea del biocatalizador dentro del reactor, desactivación de la resina despreciable, entre muchas otras variables (Narayanan y col., 2017; da Silva y col., 2020), lo que origina que un pequeño cambio de condiciones genere una investigación y resultados completamente diferentes, para un mismo sistema de reacción, lo que puede evidenciarse en las investigaciones citadas en la Tabla 1.

Tabla 1. Resumen de algunos estudios recientes de la modelación matemática para la cinética enzimática

Referencia	Proceso y reacción	Condiciones de operación evaluadas	Modelo(s) matemático(s)	Procesamiento de los datos	Resultados
Albernas-Carvajal y col., (2016)	Cinética de la obtención de etanol mediante sacarificación y fermentación simultánea del bagazo.	Los experimentos se desarrollaron empleando un diseño factorial completo 2 ³ . Variables: temperatura y carga enzimática y concentración de sólidos.	Expresión cinética propuesta por Phillippidis y col., (1992) Ecuaciones diferenciales.	Resolución del sistema de ecuaciones diferenciales mediante el algoritmo de Runge-Kutta-Fehlberg (RKF).	El valor del etanol obtenido experimentalmente y determinado por método cromatográfico es similar al valor del etanol obtenido por el algoritmo (RKF).
Amaya y Téllez, (2020)	Síntesis de galactooligosacáridos (GOS) en la elaboración de una bebida láctea fermentada simbiótica utilizando β -galactosidasa	Diferentes concentraciones iniciales de lactosa. Diferentes relaciones enzima/lactosa.	Modelo de Monod. Balances de reacción.	MATLAB. Análisis estadístico: bondad de ajuste y residuos. Análisis estadístico con el Software IBM SPSS STATICS 25 [®] . Prueba no paramétrica (U de Mann Whitney) para analizar los datos de aceptación. Pruebas de preferencia con estadístico binomial acumulado.	Modelo de Monod, para ajustar los datos experimentales. La validación experimental de la reacción enzimática dio como resultado un porcentaje de error de 19,7% en el contenido de GOS con respecto al calculado a partir del modelo propuesto.
Calderon (2017)	Fermentación microaerófila de bacterias de la especie <i>Lactobacillus</i> y del género <i>acidophilus</i>	Fermentación de piña madurada, con el microorganismo <i>Lactobacillus acidophilus</i> . durante 120 horas, 37°C y 150 rpm	Se estudiaron ocho modelos cinéticos no estructurados.	Los parámetros se estimaron a partir del ajuste de los datos experimentales mediante regresiones no lineales.	Los modelos de Haldane y Amrane y Prigent fueron los que mejor se ajustaron a los datos experimentales.
Faraji y col., (2018)	Biosíntesis de lignina	Modelos matemáticos para álamo negro (<i>Populus trichocarpa</i>), alfalfa (<i>Medicago truncatula</i>), pasto varilla (<i>Panicum virgatum</i>) y el pasto <i>Brachypodium distachyon</i>	Sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias. Análisis de balance de flujo. Método de minimización del ajuste metabólico.	Simulación en Monte Carlo.	Se observan distintas características reguladoras, espaciales y topológicas. La vía de biosíntesis de lignina propuesta no es capaz de explicar los datos de laboratorio específicos de cada planta, por lo que debe tenerse en cuenta la necesidad de un modelo específico para cada una.
Gallegos (2020)	Fermentación ácido-láctica mediante un	Diferentes temperaturas y pH variable.	Modelo matemático con enfoque termodinámico	Método numérico de Euler implícito resuelto a partir del	El modelo termodinámico describe adecuadamente el

	enfoque Termodinámico con <i>Lactobacillus delbrueckii</i>		propuesto por Heijnen para las dos rutas metabólicas que puede seguir el <i>Lactobacillus delbrueckii</i> bajo condiciones anaerobias y de saturación. Modelo con enfoque termodinámico basado en el concepto de pseudo estados de reacción. Coeficiente de actividad de la glucosa determinado por el método modificado UNIFAC	uso del complemento de Visual Basic de MS Excel.	crecimiento del <i>Lactobacillus delbrueckii</i> frente a limitación de glucosa, pero no es capaz de describir adecuadamente la influencia de la generación y acumulación de ácido láctico en la inhibición del crecimiento del <i>Lactobacillus delbrueckii</i> para la fermentación ácido láctica.
Gojun y col., (2019)	Síntesis de biodiesel catalizado por lipasas extraídas de <i>Thermomyces lanuginosus</i> (Lipolasa L100) con sustratos de aceite de girasol comestible y metanol	Diferentes reactores (plástico y vidrio) Configuraciones de alimentación al reactor. Tiempo de residencia. Concentración de metanol. Concentración de enzimas.	Modelo 2D para la transesterificación. Se consideró: convección en la dirección del flujo (x), difusión en dos direcciones (x e y) y cinética de Michaelis-Menten. Ecuaciones: Enzima, aceite, ácidos grasos y metanol en las fases acuosa y grasa. Coeficiente de difusión estimado con la correlación empírica de Young.	Estimación de parámetros cinéticos: Análisis de regresión no lineal. Estimación de los valores numéricos ajustando el modelo cinético a los datos experimentales: Software SCIENTIST. Simulación y verificación del modelo del reactor: Códigos de Mathematica 10. Resolución de ecuaciones diferenciales parciales. Software COMSOL Multiphysics 4.3b.	El modelo matemático propuesto predijo de manera adecuada la transesterificación catalizada por enzimas. La simulación del modelo matemático indica que el tiempo de residencia es el parámetro de proceso más significativo.
Grytsay (2016)	Metabolismo de la aterosclerosis	Se estudia el funcionamiento del sistema sanguíneo polienzimático prostaciclina-tromboxano y la influencia de un nivel de “colesterol malo”, es decir, lipoproteínas de baja	Se construyó el modelo matemático del proceso metabólico de la entrada del “colesterol malo” a la sangre	Método numérico. Construyeron curvas cinéticas para los componentes del sistema, los diagramas de bifurcación periódica de fase, los atractores para varios modos y la sección transversal de Poincaré y la imagen de un atractor extraño.	Los resultados obtenidos aclaran el proceso metabólico de la homeostasia y generan conclusiones sobre las conexiones estructural-funcionales que afectan la aparición de aterosclerosis en los vasos sanguíneos.

		<p>densidad (LDL). Se analizó la influencia de la concentración de moléculas de grasa en la hemostasia de la sangre en los vasos sanguíneos.</p>		<p>Calcularon los espectros completos de los índices de Lyapunov, las divergencias, las entropías KS, los horizontes de previsibilidad y las dimensiones de Lyapunov de la fractalidad de atractores extraños.</p>	
<p>Ismail y col., (2017)</p>	<p>El biosensor amperométrico constó de un electrodo y una capa relativamente delgada de una enzima que se aplicó sobre la superficie del electrodo.</p>	<p>Espesor de la enzima (difusión). Efecto del número de Damkohler sobre la densidad de corriente, la concentración de sustrato y la concentración de producto.</p>	<p>Ecuación de Michaelis-Menten. El modelo desarrollado se basa en una ecuación de difusión no estacionaria que contiene un término no lineal relacionado con la reacción enzimática.</p>	<p>El modelo matemático se resolvió analítica y numéricamente y se simuló en el software MATLAB® v2016b utilizando la función pdepe del solucionador de ecuaciones diferenciales parciales.</p>	<p>El modelo numérico se validó con datos de una publicación anterior que consideró un biosensor amperométrico.</p>
<p>Khemacheewakul y col., (2021)</p>	<p>Proceso de biotransformación por lotes de (R) - fenilacetilcarbinol (PAC) utilizando piruvato descarboxilasa de <i>Candida tropicalis</i> en tampón de fosfato</p>	<p>Se analizó el efecto activador del tampón de fosfato.</p>	<p>Seis ecuaciones diferenciales ordinarias originadas de seis ecuaciones cinéticas.</p>	<p>Subrutinas personalizadas en Microsoft Visual Basic para Aplicaciones (VBA) 6.3 para Microsoft EXCEL. Parámetros: minimización de la suma de cuadrados residual total (RSST). Criterio de búsqueda de convergencia de menos del 1% de RSST. Se calcularon el error cuadrático medio y el coeficiente de determinación (R²).</p>	<p>Nuevo modelo matemático que incorpora el efecto de activación, usando tampón de fosfato, pudo predecir y validar los sistemas de biotransformación por lotes de PAC razonablemente bien y podría allanar el camino para modelajes en procesos más complejos.</p>
<p>Liang y col., (2019)</p>	<p>Hidrólisis enzimática en la producción de etanol celulósico</p>	<p>Hidrólisis enzimática de la celulosa a largo plazo (>48 h). Condiciones de reacción: concentración inicial de sustrato, de producto, alimentación de enzima y tiempo. Se analizó las relaciones entre los parámetros en el modelo HCH-1 y la conversión del sustrato.</p>	<p>Modelo HCH-1 (Holtzapfle-Caram-Humphrey-1) modificado para describir la hidrólisis de celulosa enzimática integrada. Comparación del modelo de HCH-1 modificado con los propuestos en la bibliografía.</p>	<p>Simulación gráfica. Métodos numéricos. Análisis de sensibilidad. Diferentes rutinas del programa MATLAB.</p>	<p>El modelo de HCH-1 predijo adecuadamente la hidrólisis de celulosa en 10 días para diversas condiciones experimentales. Al comparar con los modelos de la literatura se obtuvo que el modelo de HCH-1 modificado proporcionó el mejor ajuste.</p>

<p>Méndez (2016)</p>	<p>Producción de polihidroxicanoatos empleando la bacteria <i>Burkholderia cepacia</i> B27 a partir de ácidos grasos</p>	<p>Se evaluaron dos tipos de trenes de inóculo, uno para los experimentos a escala matraz y por otro lado el correspondiente a los desarrollados en biorreactor a escala laboratorio. Variación en la concentración de aceite vegetal. Variación en la concentración de sulfato de amonio.</p>	<p>Ecuación de Monod. Balances de masa. El efecto inhibitorio de los sustratos fue representado por la ecuación propuesta por Luong.</p>	<p>Los parámetros de las ecuaciones del modelo matemático fueron estimados por la minimización de la suma de las diferencias cuadráticas (SDC). El programa de búsqueda para la estimación de los parámetros cinéticos fue desarrollado en Matlab®. Para evaluar la validez del modelo se estimó la precisión de los datos simulados con el método de coeficientes de eficiencia Nash–Sutcliffe.</p>	<p>Se desarrolló un modelo matemático cuyo ajuste teniendo en cuenta el efecto inhibitorio y limitante de los sustratos, fue satisfactorio</p>
<p>Ramos-Sánchez y col., (2018)</p>	<p>Producción de células por una cepa de <i>Aspergillus niger</i> en fermentación sólida</p>	<p>Variación de temperatura. Diferentes intervalos de tiempo.</p>	<p>Ecuaciones cinéticas para: crecimiento celular, síntesis de nueva biomasa, consumo de sustrato, síntesis de la enzima. Balances de masa.</p>	<p>Ajuste no lineal de los parámetros mediante MATLAB.</p>	<p>El modelo es perfectamente aplicable para describir la cinética de la producción de células bajo ciertas condiciones</p>

3.2. Parámetros, ecuaciones y medición

En la mayoría de los estudios que involucran la modelación y simulación de cinéticas enzimáticas se ejecuta, implícita o explícitamente, un procedimiento metodológico similar, que ha sido muy bien esquematizado por Manheim y col., (2019), en cinco pasos: (i) selección del o de los modelo(s) cinético(s) y recolección de datos experimentales, (ii) Calibración del o de los modelo(s) cinético(s), (iii) Comparación de los modelos y selección del mismo, (iv) prueba de hipótesis y análisis de correlación y (v) análisis de sensibilidad global.

Las ecuaciones y/o parámetros tomados en cuenta frecuentemente para la modelización de biorreactores enzimáticos son: difusión, coeficientes y velocidad de transferencia de masa interna y externa, volumen y área superficial de las partículas, coeficiente de partición, conversión del reactante límite, concentración de los compuestos, sustancias o elementos involucrados en la reacción (necesarios para el cálculo de los coeficientes de transferencia de masa) y sus concentraciones iniciales, así como la ecuación de velocidad de reacción (cinética de Michaelis-Menten o Monod), que dependerá del tipo de mecanismo en estudio, la velocidad de reacción máxima directa e indirecta y constantes como la de Michaelis-Menten, inhibición y equilibrio de reacción, como se puede evidenciar en las publicaciones de da Silva y col., (2020), Narayanan y col., (2017), Ismail y col., (2017), Senthamarai y Ranjani, (2018), entre otros autores.

Una técnica muy empleada para los complejos sistemas de reacciones enzimáticas es la simplificación de los modelos matemáticos, donde se transforma el sistema original a otro, que involucraría un número menor de parámetros o variables (Akgül y col., 2020).

Un caso particular que se ha estudiado en años recientes son los modelos de redes metabólicas. La presencia de una enzima específica en el genoma implica que una célula tiene la capacidad metabólica de la biotransformación correspondiente (Saa y Nielsen, 2017; Sriyudthsak y col., 2016). A pesar que los sistemas bioquímicos se encuentran entre las áreas de aplicación más antiguas del modelado matemático, el repertorio de opciones a lo largo de más de cien años ha ido en crecimiento, por lo que aún queda mucho por investigar (Voit, 2017).

3.3. Modelación matemática y resolución

El modelado matemático de procesos enzimáticos juega un papel importante en los sistemas bioquímicos y biológicos. Estudiar y analizar el comportamiento dinámico de tales modelos a menudo necesita algunas técnicas para lograr la reducción del mismo (Akgül y col., 2020).

Al analizar matemáticamente la cinética enzimática se generan a menudo expresiones algebraicas complejas, incluso en los procesos más simples. Dicho sistema, en general no lineal, puede transformarse en uno lineal con la condición de que la concentración inicial de la enzima sea mucho mayor que la concentración del sustrato. Las ecuaciones no lineales pueden resolverse mediante el método de transformación diferencial y las características relacionadas a la dinámica enzimática pueden expresarse mediante ecuaciones diferenciales (Fan y col., 2018), las que han sido utilizadas tradicionalmente (Kang y col., 2017). La resolución de estos sistemas utilizando el método de cálculo tradicional para realizar el cálculo inferencial, tomaría demasiado tiempo y esfuerzo, por lo que el álgebra computarizada resulta una técnica poderosa que ayuda a lidiar con

estas expresiones tan complejas.

El uso de ecuaciones diferenciales ordinarias permite analizar varios aspectos de la dinámica enzimática, como la estabilidad asintótica. Sin embargo, ignora las fluctuaciones del sistema de reacción enzimática debido al ruido intrínseco y, en cambio, se centra en la dinámica promediada (Kang y col., 2017). Por ello, Lok y col., (2015), Kang y col., (2017), Choi y col., (2017) y Akgül y col., (2020), entre otros autores, proponen aproximaciones a partir de un enfoque alternativo de sistema de reacción estocástica en un contexto de estado cuasi estacionario (QSSAs, por sus siglas en inglés).

En este sentido, Burke (2018) menciona que reconocidos investigadores, han contribuido de manera significativa en el campo del modelaje matemático de la cinética enzimática bajo la suposición QSSA expandiéndola a diferentes condiciones operativas. Por otra parte, las soluciones gráficas también son muy empleadas, sobre todo para la estimación de los parámetros K_m y V_{max} derivados de la ecuación de Michaelis-Menten. Algunos de estos modelos de linealización son: gráfico de Lineweaver-Burke (empleado por Ariyawansa y col., (2018) en su investigación), gráfico de Eadie-Hofstee y gráfico de Hanes-Wolfe. Estas gráficas resultan muy ilustrativas y útiles para analizar el comportamiento de las enzimas, pero comparten un problema: los datos transformados generalmente no satisfacen los supuestos de regresión lineal (Marasović y col., 2017). De allí que recientemente Marasović y col., (2017) proponen un estimador robusto de regresión no lineal basado en la función modificada bponderada de Tukey, el cual permite ajustar un modelo a los datos experimentales, para que los resultados sean más resistentes a los valores extremos y relativamente consistentes.

Da Silva y col., (2020), resolvieron los algoritmos por métodos iterativos, reportando un buen ajuste entre los datos experimentales y el modelado. Narayanan y col., (2017) utilizan el método de descomposición de Adomian modificado, para resolver el modelo no lineal de un biocatalizador enzimático inmovilizado, indicando que dichos resultados analíticos son más descriptivos, fáciles de visualizar y permite optimizar los parámetros cinéticos obtenidos. Resultados similares obtuvieron Saranya y col., (2016), quienes desarrollaron por primera vez según su conocimiento, un modelo matemático para una celda de combustible de glucosa enzimática sin membrana con transferencia directa de electrones.

Alrabaiah y col., (2020), analizaron la existencia de soluciones semianalíticas para un modelo de cinética enzimática propuesto, mediante herramientas de la teoría del punto fijo. Este autor y sus colaboradores obtuvieron estos resultados con la ayuda de la transformada de Laplace y el método de descomposición de Adomian.

Algunos softwares de álgebra informática, como MAPLE, MACSYMA, REDUCE y SCRATPAD pueden ser utilizados para la resolución matemática de este tipo de ecuaciones (Fan y col., 2018). En el mismo orden de ideas, Dale y col., (2020), Ismail y col., (2017) y Djaalab y col., (2019), utilizaron MATLAB como herramienta en la programación y simulación de la ecuación cinética de Michaelis-Menten.

Finnigan y col., (2019), utilizaron una secuencia de comandos de Phyton en su investigación. Choi y col., (2017), trabajaron con paquetes del software “R” para ejecutar una inferencia bayesiana basada en el modelo QSSA.

Como se observa en algunas de las publicaciones resumidas en la Tabla 1, las

simulaciones de Monte Carlo son cada vez más utilizadas para evaluar las incertidumbres en este tipo de investigaciones, en este sentido, Krausch y col., (2019), muestra por qué las simulaciones de Monte Carlo brindan una descripción más precisa de la incertidumbre de estos parámetros, y en segundo lugar, proponen un método muy robusto y sencillo para encontrar diseños experimentales óptimos utilizando simulaciones de este tipo, el que, aunque es computacionalmente costoso, es un método es fácil de implementar y paralelizar.

3.4. Desafíos actuales y futuros

A pesar de los grandes avances en esta área de investigación muchas de las reacciones enzimáticas siguen teniendo un costo de producción proyectado significativo, como, por ejemplo, para la conversión biológica de biomasa en combustibles y productos químicos, lo que motiva a seguir investigando para mejorar las tecnologías actuales a fin de reducir costos y maximizar la producción (Lischeske y Stickel, 2019).

Obut y Bahar (2019), indican que las reacciones de oxidación/reducción catalizadas por enzimas con transferencia de electrones a través de un circuito podrían utilizarse para la producción de energía electroquímica y otras aplicaciones. Por lo que, actualmente, ya están disponibles comercialmente como es el caso de Sivasamy y col., (2016).

Recientemente, los avances en la bioquímica sintética han dado como resultado una gran cantidad de reacciones enzimáticas hipotéticas “novedosas” que no se corresponden con genes que codifican proteínas, por lo tanto, se les consideran “huérfanos”. Un gran número de enzimas metabólicas conocidas, también son huérfanas, lo que deja importantes lagunas en los mapas de la red metabólica. Por ello, Hadadi y col., (2019), han desarrollado el método computacional BridgIT, el cual identificó enzimas potenciales de reacciones huérfanas y casi todas las transformaciones bioquímicas teóricamente posibles.

En el campo de la salud, la modelación matemática se está usando para investigar los mecanismos homeostáticos, las interacciones gen-ambiente y el mapeo genotipo-fenotipo, lo que a futuro podrá permitir acceder a una medicina más precisa y personalizada (Nijhout y col., 2015). Drew (2021), planteó un modelo para la evolución sistémica de sustancias psicoactivas y su estado de unión a receptores neuronales. Sus resultados pudieran ayudar para el control de una adicción.

Actualmente, en la Universidad de Princeton, Princeton University, (2020) se encuentran estudiando, mediante modelación matemática, el comportamiento de las enzimas sobre las células. Esta es un área de gran importancia que debe seguir desarrollándose, y que, en un futuro, seguramente mejorará y aumentará de forma radical la esperanza de vida del ser humano.

4. CONCLUSIONES

Se evidenció que la mayoría de los modelos matemáticos desarrollados parten de la ecuación cinética de Michaelis-Menten y de sus parámetros asociados, mecanismos de reacción, ecuaciones de transferencia de masa, difusión, coeficientes de partición, concentración de las sustancias o compuestos involucrados, conversión o grado de avance, entre otras variables. La singularidad y complejidad de cada investigación es consecuencia directa de las simplificaciones asumidas, las condiciones operativas

evaluadas y los métodos utilizados para la resolución de estos sistemas, lo que hace compleja su comparación o implementación de manera estandarizada. En la mayoría de los casos, las expresiones generadas son ecuaciones diferenciales ordinarias y para aquellos procesos donde estas ecuaciones no sean las más adecuadas para describir el sistema se ha utilizado un enfoque alternativo de sistema de reacción estocástica en un contexto de estado cuasi estacionario. La resolución matemática de los modelos generados puede llevarse a cabo a partir de diferentes metodologías y utilizando software diseñados y comercializados para tal fin. A pesar de la gran diferencia metodológica entre las publicaciones analizadas, se puede concluir que, en todos los casos bajo estudio, los modelos planteados se ajustaron a resultados experimentales o se observó concordancia al utilizar diferentes métodos de resolución matemática. Estos resultados aportan una valiosa información en la mejora de procesos y en el diseño de equipos, minimizando costos y tiempo de experimentación a través de metodologías más amigable con el medio ambiente.

AGRADECIMIENTOS

Loa autores agradecen el apoyo de los Dr. Julio César Torres y Sheyla Ortiz de García en la elaboración de la presente investigación.

REFERENCIAS

- Akgül, A., Khoshnaw, S.H.A., & Abdalrahman, A., Mathematical modeling for enzyme inhibitors with slow and fast subsystems., Arab Journal of Basic and Applied Sciences, Vol. 27, No. 1, 2020, pp. 442-449. <https://doi.org/10.1080/25765299.2020.1844369>
- Albernas-Carvajal, Y., Pedraza, J., Corsano, G., Rodríguez, L., y González, E., Primera aproximación a la cinética de la obtención de etanol mediante sacarificación y fermentación simultánea del bagazo., Afinidad, Vol. 575, No. LXXIII, 2016, pp. 191-196. <https://raco.cat/index.php/afinidad/article/view/313859>
- Alrabaiah, H., Ali, A., Haq, F., & Shah, K., Existence of fractional order semianalytical results for enzyme kinetics model., Advances in Difference Equations, No. 443, 2020, pp. 1-13. <https://doi.org/10.1186/s13662-020-02897-2>
- Amaya, Y.P., y Téllez, S.Y., Modelación de la síntesis de Galacto-oligosacáridos (GOS) en la elaboración de una bebida láctea fermentada simbiótica utilizando β -galactosidasa., Tesis presentada en opción al título académico de Ingeniero de alimentos, Universidad de La Salle-Ciencia Unisalle, Colombia, 2020. https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/394/
- Ariyawansa, R.T.K., Basnayake, B.F.A., Karunarathna, A.K., & Mowjood, M.I.M., Extensions to Michaelis-Menten Kinetics for Single Parameters., Scientific Report, Vol. 8, No. 16586, 2018, pp. 1-11. <https://www.nature.com/articles/s41598-018-34675-2>
- Burke, M.A., Maini's Many Contributions to Mathematical Enzyme Kinetics: A Review., Journal of Theoretical Biology, Vol. 481, 2018, pp. 24-27. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022519318305939?via%3Dihub>

- Calderon, J.F., Ajuste de un modelo cinético para el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* en la fermentación de un sustrato complejo., Tesis presentada en opción al título académico de Ingeniero Químico, Fundación Universidad de América, Colombia, 2017.
<https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/6598/1/6121940-2017-2-IQ.pdf>
- Capparelli, A., y Lodeiro, A., Catálisis enzimática: fundamentos químicos de la vida., Editorial de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina, 2017, pp. 213-214.
<https://libros.unlp.edu.ar/index.php/unlp/catalog/book/690>
- Choi, B., Rempala, G.A., & Kim, J.K., Beyond the Michaelis-Menten equation: Accurate and efficient estimation of enzyme kinetic parameters., Scientific Report, Vol. 7, No. 17018, 2017, pp. 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17072-z>
- da Silva, M.V.C., Rangel, A.B.S., Aguiar, L.G., de Castro, H.F., & de Freitas, L., Continuous Enzymatic Synthesis of 2-Ethylhexyl Oleate in a Fluidized Bed Reactor: Operating Conditions, Hydrodynamics, and Mathematical Modeling., Ing. Eng. Chem. Res., Vol. 59, No. 44, 2020, pp. 19522-19530.
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.iecr.0c03504>
- Dale, R., Kato, N., & Wischusen, B., Modeling and analysis of the firefly luciferase reaction and a G-protein coupled receptor signaling pathway with ordinary differential equations increases self confidence in mathematical cell biology for novice graduate students., Letter in Biomathematics, Vol. 7, No. 1, 2020, pp. 3-13.
<https://lettersinbiomath.journals.publicknowledgeproject.org/index.php/lib/article/view/205>
- Djaalab, E., El Hadi, M., & Zougar, S., Mathematical modeling of the kinetics of a highly sensitive enzyme biosensor., Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis, No. 126, 2019, pp. 49-59. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11144-018-1516-8>
- Drew, D.A., A Mathematical model for the effect of enzymes on metabolism of pharmacologically active substances., Applied Mathematics, Vol. 12, No. 1, 2021, pp. 1-17. <https://doi.org/10.4236/am.2021.121001>
- Fan, C., Li, P., & Xue, Y., Application of differential equations in enzyme kinetics., Chemical Engineering Transactions, Vol. 71, 2018, pp. 883-888.
<https://doi.org/10.3303/CET1871148>
- Faraji, M., Fonseca, L.L., Escamilla-Trevino, L., Barros-Rios, J., Engle, N., Yang, Z.K., Tschaplinski, T.J., Dixon, R.N., & Voit, E.O., Mathematical models of lignin biosynthesis., Biothechnol Biofuels, Vol. 11, No. 34, 2018, pp. 1-17.
<https://doi.org/10.1186/s13068-018-1028-9>
- Finnigan, W., Cutlan, R., Snajdrova, R., Adams, J.P., Littlechild, J.A., & Harmer N.J., Engineering a seven enzyme biotransformation using mathematical modelling and characterized enzyme parts., ChemCatChem, Vol. 11, No. 15, 2019, pp. 3474-3489.
<https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cctc.201900646>
- Gallegos, C.D., Determinación de los parámetros cinéticos en la Fermentación ácido-láctica mediante un enfoque Termodinámico. Caso de estudio: *Lactobacillus delbrueckii*., Tesis presentada en opción al título académico de Ingeniero Agroindustrial, Escuela Politécnica Nacional, Ecuador, 2020.

- <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/20712>
- Gojun, M., Pustahija, L., Tušek, A.J., Šalić, A., Valinger, D., & Zelić, B., Kinetic Parameter Estimation and Mathematical Modelling of Lipase Catalysed Biodiesel Synthesis in a Microreactor., *Micromachines*, Vol. 10, No. 11, 2019, pp. 759-776. <https://www.mdpi.com/2072-666X/10/11/759>
- González, E.A., Aislamiento y caracterización de cepas de *Bacillus spp* productoras de enzimas proteolíticas, y propuesta de un proceso de producción de hidrolizado proteico a Escala Piloto, utilizando el extracto crudo enzimático obtenido., Tesis presentada en opción al grado científico de Máster en Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Nicaragua, 2018. <https://repositorio.unan.edu.ni/12703/>
- Grytsay, V.I., A mathematical model of the metabolic process of atherosclerosis., *Ukr. Biochem. J.*, Vol. 88, No. 4, 2016, pp. 75-84. http://ukrbiochemjournal.org/wp-content/uploads/2016/09/Grytsay_4_16.pdf
- Hadadi, N., Mohammadi, H., Miskovica, L., Seijoa, M., & Hatzimanikatis, V., Enzyme annotation for orphan and novel reactions using knowledge of substrate reactive sites., *PNAS*, Vol. 116, No. 15, 2019, pp. 7298–7307. <https://www.pnas.org/content/116/15/7298>
- Herrera, A.A., Prieto, R., Calva, G., y Padrón, A., Cinética enzimática y el modelo de Michaelis-Menten. Una revisión crítica., *SOMI XXXIV Congreso de Instrumentación*, Vol. 6, No. 1, 2019, pp. 1-10. https://www.researchgate.net/publication/337403079_Cinetica_enzimatica_y_el_modelo_de_Michaelis-Menten_Una_revision_critica
- Ingalls, B., *Mathematical Modelling in Systems Biology: An Introduction.*, Editorial de la Universidad de Waterloo, 2018, pp. 1-424. <https://www.math.uwaterloo.ca/~bingalls/MMSB/>
- Ismail, I., Oluleye, G., Oluwafemi, I.J., Omofuma, O.I., & Olufemi, A.S., Mathematical modelling of an enzyme-based biosensor., *International Journal of Biosensors & Bioelectronics*, Vol. 3, No. 2, 2017, pp. 265-268. <http://medcraveonline.com/IJBSBE/IJBSBE-03-00062.pdf>
- Kang, H-W., KhudaBukhsh, W.R., Koepl, H., & Rempala, G.A., Quasi-steady-state approximations derived from the stochastic model of enzyme kinetics., *Arxiv*, Vol. 1, No. 8, 2017, pp. 1-25. <https://arxiv.org/pdf/1711.02791.pdf>
- Khemacheewakul, J., Taesuan, S., Nunta, R., Techapun, C., Phimolsiripol, Y., Rachtanapun, P., Jantasakulwong, K., Porninta, K., Sommanee, S., Mahakuntha, C., Chaiyaso, T., Seesuriyachan, P., Reungsang, A., Ngan Trinh, N.T., Wangtueai, S., Sommano, S.R., & Leksawasdi, N., Mathematical model with phosphate activation effect validates batch (R)-phenylacetylcarbinol biotransformation process utilizing *Candida tropicalis* pyruvate decarboxylase in phosphate buffer., *Sci. Rep.*, Vol. 11, No. 1, 2021, pp. 1-17. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91294-0>
- Kim, O.D., Rocha, M., & Maia, P., A Review of Dynamic Modeling Approaches and Their Application in Computational Strain Optimization for Metabolic Engineering., *Frontiers in Microbiology*, Vol. 9, No.1690 2018, pp. 1690-1712. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.01690/full>
- Krausch, N., Barz, T., Sawatzki, A., Gruber, M., Kamel, S., Neubauer, P., &

- Bournazou, M.N.C., Monte Carlo Simulations for the Analysis of Non-linear Parameter Confidence Intervals in Optimal Experimental Design., *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, Vol. 7, No. 122, 2019, pp. 1-16. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00122>
- Liang, C., Gu C., Raftery, J., Karim, M.N., & Holtzapple, M., Development of modified HCH-1 kinetic model for long-term enzymatic cellulose hydrolysis and coarison with literature models., *Biotechnol Biofuels*, Vol. 12, No. 34, 2019, pp. 1-13. <https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13068-019-1371-5>
- Lischeske, J.J., & Stickel, J.J., A two-phase substrate model for enzymatic hydrolysis of lignocellulose: application to batch and continuous reactors., *Biotechnology for Biofuels*, Vol. 12, No. 299, 2019, pp. 1-15. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1633-2>
- Lok, M.K., Krycer, J.R., Burchfield, J.G., James, D.E., & Kuncic, Z., A generalised enzyme kinetic model for predicting the behaviour of complex biochemical systems., *FEBS Open Bio*, Vol. 5, No. 1, 2015, pp. 226-239. <https://doi.org/10.1016/j.fob.2015.03.002>
- Manheim, D.G., Detwiler, R.L., & Jiang, S.C., Application of unstructured kinetic models to predict microcystin biodegradation: Towards a practical approach for drinking water treatment., *Water Research*, Vol. 149, 2019, pp. 617-631. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135418309357?via%3Dihub>
- Marasović, M., Marasović, T., & Miloš, M., Robust Nonlinear Regression in Enzyme Kinetic Parameters Estimation., *Hindawi Journal of Chemistry*, Vol. 2017, ID No. 6560983, 2017, pp. 1-12. <https://doi.org/10.1155/2017/6560983>
- Martínez, J., La revisión de los artículos científicos como procedimiento esencial para lograr calidad en la comunicación científica., *Rev. Med. Electrón.*, Vol. 36, No. 1, 2014, pp. 60-74. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135418309357?via%3Dihub>
- Meena, A., Eswari, A., & Rajendran, L., Mathematical modelling of enzyme kinetics reaction mechanisms and analytical solutions of non-linear reaction equations., *J Math Chem*, Vol. 48, 2010, pp. 179-186. <https://doi.org/10.1007/s10910-009-9659-5>
- Méndez, D.A., Modelamiento matemático y optimización del proceso de producción de polihidroxialcanoatos empleando la bacteria Burkholderia cepacia B27 a partir de ácidos grasos., Tesis presentada en opción al título académico de Magister en Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia, Colombia, 2016. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/57458>
- Narayanan, K.L., Meena, V., Rajendran, L., Gao, J., & Subbiah, S.P., Mathematical analysis of diffusion and kinetics of immobilized enzyme systems that follow the Michaelis – Menten mechanism., *Applied and Computational Mathematics*, Vol. 6, No. 3, 2017, pp. 143-160. <https://www.sciencepublishinggroup.com/journal/paperinfo?journalid=147&doi=10.11648/j.acm.20170603.13>
- Nijhout, H.F., Best, J.A., & Reed, M.C., Using mathematical models to understand

- metabolism, genes, and disease., BMC Biology, Vol. 13, No. 79, 2015, pp. 13-79. <https://bmcbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12915-015-0189-2>
- Obut, S., & Bahar, T., Glucose oxidase immobilized biofuel cell flow channel geometry analysis by CFD simulations., Turkish Journal of Chemistry, Vol. 43, 2019, pp.1486-1502. <https://dergipark.org.tr/en/pub/tbtkchem/issue/50801/662053>
- Olkiewicz, M., Tylkowski, B., Montornés, J.M., Garcia-Valls, R., & Gulaczyk, I., Modelling of enzyme kinetics: cellulose enzymatic hydrolysis case. Theoretical and Computational Chemistry., De Gruyter, Berlin, Boston., 2021, pp. 181-204. <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/9783110678215-006/html>
- Orbegoso, J.S., Modelamiento y simulación de sistemas reaccionantes complejos en fase heterogénea., Tesis presentada en opción al grado científico de Máster en Ingeniería Química, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú, 2016. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/5661>
- Philippidis, G., Spindler, D.D., & Wyman, C.E., Mathematical Modeling of Cellulose Conversion to Ethanol by the Simultaneous Saccharification and Fermentation Process., Applied Biochemistry and Biotechnology, Vol. 34/35, 1992, pp. 543-556. <https://doi.org/10.1007/BF02920577>
- Princeton University., Mathematical model reveals behavior of cellular enzymes., ScienceDaily. 13 Febrero 2020. Available in: www.sciencedaily.com/releases/2020/02/200213124224.htm
- Rajendran, L., Devi, M.C., Fernandez, C., & Peng, Q., Mathematical Modeling and Simulation of Nonlinear Process in Enzyme Kinetics in Advance Chemical Kinetics., Intech Open, London, 2017, pp. 1-213. <https://www.intechopen.com/chapters/57109>
- Ramos-Sánchez, L.B., Leon-Revelo, G., Cujilema-Quitio, M.C., Baryolo, L., Rosero Delgado, E., y Córdova, J., Modelo cinético para la producción de celulasas por una cepa de *aspergillus niger* en fermentación sólida., Centro Azúcar, Vol. 45, No. 2, 2018, pp. 1-13. <http://scielo.sld.cu/pdf/caz/v45n2/caz01218.pdf>
- Saa, P.A., & Nielsen, L.K., Formulation, construction and analysis of kinetic models of metabolism: A review of modelling frameworks., Biotechnology Advances, Vol. 35, No. 8, 2017, pp. 981-1003. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.09.005>
- Saranya, J., Rajendran, L., Wang, L., & Fernández, C., A new mathematical modelling using Homotopy perturbation method to solve nonlinear equations in enzymatic glucose fuel cells., Chemical physics letters., Vol. 662, 2016, pp. 317-326. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009261416307291?via%3DiHub>
- Senthamarai, R., & Ranjani, R.J., Solution of non-steady-state substrate concentration in the action of biosensor response at mixed enzyme kinetics., J. Phys., Conf. Series 1000, 2018, 012138, pp. 1-7. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1000/1/012138>
- Sivasamy, P., Palaniyandi, J.R., Thinakaran, I., & Lakshmanan, R., Enzyme kinetic modelling and analytical solution of nonlinear rate equation in the transformation of d-methionine into l-methionine in batch reactor using the new homotopy perturbation method., Quim. Nova, Vol. 39, No. 10, 2016, pp. 1184-1191. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20160155>
- Sriyudthsak, K., Shiraishi, F., & Yokota, M., Mathematical Modeling and Dynamic Simulation of Metabolic Reaction Systems Using Metabolome Time Series Data.,

Frontiers in Molecular Biosciences, Vol. 3, No. 15, 2016, pp. 1-15.
<https://doi.org/10.3389/fmolb.2016.00015>

Veeramuni, M., Complex boundary value problems of Nonlinear differential equations. Tesis presentada en opción al título académico de Doctor en Matemáticas., Madurai Kamaraj University, India, 2019.
<https://mkuniversity.ac.in/research/SYNOPSIS/P3935s.pdf>

Voit, E.O., The best models of metabolism., WIREs Syst. Biol. Med., Vol. 9, No. 6, 2017, pp. 1-17. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28544810/>

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no existen conflictos de interés.

CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

- Ing. Maritza Paola Maisincho Asqui. Llevó a cabo la revisión bibliográfica y la escritura del artículo.
- Dra.C. María Hipatia Delgado Demera. Colaboró con la revisión bibliográfica y la corrección del artículo.
- Dr.C. Carlos Alfredo Cedeño Palacios. Participó en la corrección del artículo.