



UNIVERSIDAD
DE PIURA

REPOSITORIO INSTITUCIONAL
PIRHUA

MODELACIÓN Y ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS APLICADOS AL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE CACAO PIURANO

Christian Chávez-Rodríguez

Piura, marzo de 2017

FACULTAD DE INGENIERÍA

Departamento de Ingeniería Mecánico-Eléctrica

Chávez, C. (2017). *Modelación y estimación de parámetros aplicados al proceso de fermentación de cacao piurano* (Tesis para optar el título de Ingeniero Mecánico-Eléctrico). Universidad de Piura. Facultad de Ingeniería. Programa Académico de Ingeniería Mecánico-Eléctrica. Piura, Perú.



Esta obra está bajo una licencia

[Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

[Repositorio institucional PIRHUA – Universidad de Piura](#)

UNIVERSIDAD DE PIURA

FACULTAD DE INGENIERÍA



“Modelación y estimación de parámetros aplicados al proceso de fermentación de cacao piurano”.

Tesis para optar por el título de
Ingeniero Mecánico-Eléctrico

Christian Miguel Chávez Rodríguez

Asesor: PhD. William Ipanaqué Alama

Piura, Marzo del 2017

A mis padres, a quienes debo mi formación profesional. A mi hermana a quien agradezco el estímulo moral. A mi asesor por su apoyo incondicional en el desarrollo de esta.

Prólogo

En el Laboratorio de Control Automático se llevan a cabo líneas de investigación relacionadas al desarrollo de la agroindustria de la región a través de innovación en los campos de la automatización y control automático, con la finalidad de para automatizar procesos de la industria y generar un impacto positivo en la población. Esta investigación corresponde al proyecto denominado “Estudio Teórico Experimental de Aplicaciones de Sistemas Embebidos o Empotrados en Tiempo Real para el Proceso de Fermentación del Cacao”, el cual forma parte de los avances de innovación de alto impacto que se encuentra realizando de Universidad de Piura en su labor a favor del desarrollo agrícola de la región. El principal objetivo del grupo de investigación del cacao siempre ha sido la posibilidad de contribuir con el desarrollo del ámbito científico en el país al explorar un campo poco abarcado desde el punto de vista matemático y apoyar a la emergente industria piurana que tiene en el tratamiento del cacao desde su siembra hasta su venta un medio de subsistencia. De esta manera, este aporte ha iniciado el camino hacia un valor agregado en sus productos y tener en el futuro una mejor calidad de vida.

Para modelar un proceso tan complejo como la fermentación del cacao, se ha formulado de dos formas: una para fermentadores batch, la cual está basada en espacios de estado e incluye la influencia de las ecuaciones cinético-químicas correspondientes a las reacciones y a los desarrollo microbiológico más relevantes durante el proceso de fermentación; otra para fermentadores de tambor rotatorio, de la cual el balance másico y energético depende de manera primordial de la geometría y velocidad de rotación del tambor rotatorio, así como de la definición de parámetros físicos que influyen en la transferencia energética y permite demostrar la evolución del sistema a través del tiempo que transcurre durante el proceso de fermentación del cacao.

En procesos químicos se suelen presentar problemas inherentes al control y a la toma de datos experimentales en procesos químicos, los cuales consisten en conocer la

concentración de compuestos en un estado determinado del proceso, debido a dificultades de medición y al alto costo que estos involucran debido a que en la zona no se poseen laboratorios especializados para la medición de ácidos, microorganismos, entre otros. Para la fermentación del cacao se han formulado técnicas para la estimación de los compuestos químicos generados a partir del modelo matemático del proceso de fermentación. Se desarrollan dos alternativas de solución: mediante observadores asintóticos y mediante el Filtro de Kalman Extendido.

Al abordar estos problemas de una manera técnica, se podrá proseguir con la línea de investigación y así llegar a controlar el proceso de fermentación del cacao de una manera accesible.

Resumen

La presente tesis desarrolla la modelación matemática para el proceso de fermentación del cacao tomando en cuenta los gases producidos en la fermentación, los cuales permitirán estimar el estado de los componentes internos que determinan la calidad del grano al culminar el proceso de fermentación del cacao, y mediante un control de flujos de entrada de azúcares en el fermentador, se podría llevar la concentración de los componentes más relevantes a niveles requeridos según la literatura y finalmente, se obtendrá un cacao de mejor calidad.

Una vez estudiado el modelo, se comparan los resultados de este con las muestras obtenidas de mediciones en cajones de fermentación. A partir de estos resultados se tendrá un mejor conocimiento del comportamiento de la fermentación, con la finalidad de beneficiar en un futuro mediante el control automático del proceso. De esta manera se espera mejorar la rentabilidad del cultivo del cacao, y así favorecer económicamente a los agricultores de la zona emprendedores de diversas regiones de Piura donde se llevan a cabo procesos de fermentación y secado del cacao.

Índice General

Introducción.....	1
Capítulo 1. Marco Teórico	3
1.1. Aspectos generales de la fermentación en estado sólido.....	3
1.1.1. Ventajas y desventajas de la fermentación en estado sólido.....	4
1.1.2. Tipos de biorreactores.....	6
1.2. Aplicación de fermentación en estado sólido en la industria	12
1.3. Aspectos generales sobre el proceso de fermentación de cacao	13
1.4. Variables más importantes durante la fermentación de cacao	19
1.5. Fermentación en estado sólido en la industria cacaotera	25
1.5.1. Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (Theobroma cacao L.) Tipo Nacional.....	25
1.5.2. Evaluación de la calidad comercial del grano de cacao (Theobroma cacao L.) usando dos tipos de fermentadores	27
1.5.3. Análisis químico del cacao criollo porcelana (Theobroma cacao L.) en el sur del lago de Maracaibo	31
1.5.3. Influencia de varios factores sobre características del grano de cacao fermentado y secado al sol.....	38
1.5.4. Características químicas del cacao criollo.....	41
1.5.5. Efecto de tiempo transcurrido entre la cosecha y el desgrane de la mazorca de cacao tipo forastero de Cuyagua sobre características del grano de fermentación	44
1.5.6. Efecto de los tratamientos post-cosecha sobre la temperatura y el índice de fermentación en la calidad del cacao criollo porcelana (Theobroma Cacao L.) en el sur del lago de Maracaibo	48
1.6. Control de procesos de fermentación.....	51
Capítulo 2. Modelación matemática del proceso de fermentación del cacao.....	61
2.1. Análisis por componentes principales	61
2.2. Cinética de las reacciones químicas ocurridas durante la fermentación del cacao.....	65
2.3. Balance de masa en proceso de fermentación del cacao.....	69
2.3.1. Balances de masa en fermentadores de estado sólido	73

2.3.2. Aplicación a fermentador tipo Batch.....	77
2.3.3. Aplicación a fermentador tipo tambor rotatorio	86
2.4. Balance de energía en proceso de fermentación de cacao:	90
2.4.1. En fermentador de tipo cajón.....	92
2.4.2. En fermentador de tipo tambor rotatorio	93
2.5. Validación de modelo de fermentación de cacao	100
2.5.1. Experimentos en cajón de fermentación [50].....	101
2.5.2. Comparación entre modelo y resultados experimentales.	106
2.6. Discusión.	111
Capítulo 3. Estimación de estados en proceso de fermentación de cacao	113
3.1. Observadores asintóticos	114
3.1.1. Conceptos básicos	114
3.2. Filtro de Kalman extendido	121
3.2.1. Conceptos básicos	122
3.3. Discusión	129
Capítulo 4. Aplicación de estimación de estados a proceso de fermentación de cacao	131
4.1. Observadores asintóticos	131
4.2. Filtro de Kalman extendido	138
4.3. Discusión	148
Capítulo 5. Conclusiones.....	151
Referencias	153
Anexos.....	157
Anexo 1: Código modelo matemático del biorreactor en Ecosimpro.....	157
Anexo 2: Segundo código de modelo matemático en Ecosimpro.	160
Anexo 3: Código de Observador Asintótico.	162
Anexo 4: Código de Estimador de estado mediante Filtro extendido de Kalman.....	167

Introducción

La producción local de cacao ha desarrollado poca innovación en los últimos años, ya que es un proceso rutinario con poca industrialización. Principales productores de cacao de alta calidad, como lo son Brasil, Ghana, Colombia, Ecuador, México, entre otros, han realizado investigaciones de distintas índoles sobre el proceso de fermentación y secado, sobre los factores que afectan la fermentación (clima, altitud, tipo de fermentador, tiempo de fermentación, tiempo de aguante, entre otros), los compuestos químicos producidos y los principales compuestos que son producidos, sobre las distintas variedades de granos de cacao, entre otros.

La presente investigación profundizará y desarrollará la modelación matemática del proceso de fermentación del cacao, basado en balance de masa y energía en el recipiente de fermentación, para los cuales se evalúan cajones de fermentación, igual manera, se evaluará el comportamiento frente a flujos de azúcares, con la finalidad de observar el desarrollo de los ácidos y obtener una forma de controlar las concentraciones de los compuestos internos en el grano de cacao. Se explorarán mejoras en el modelo matemático y se proponen estimadores u observadores de estados para estimar compuestos no medibles directamente durante la fermentación. La estimación de estados de procesos químicos es realmente importante debido a la dificultad de la observabilidad de los compuestos químicos en su totalidad durante el desarrollo químico del proceso.

A partir de conocer el estado actual de cada compuesto químico que cumpla un rol importante, se podrá llevar a cabo un control de estos con la finalidad de mejorar la calidad final del grano de cacao mediante el control del ambiente de la sala de fermentación o la inclusión de flujos de entrada en el recipiente de fermentación, con la finalidad de beneficiar económicamente a los agricultores de la zona y mejorar la rentabilidad del cultivo del cacao.

Capítulo 1

Marco Teórico

1.1. Aspectos generales de la fermentación en estado sólido

La fermentación en estado o medio sólido (Solid State Fermentation, o abreviadamente como SSF) es aquella que se lleva a cabo en substratos o matriz sólidos con bajos niveles de humedad, pero la suficiente para que se lleve a cabo el crecimiento y metabolismo de los microorganismos propios de los procesos de fermentación, como levaduras o bacterias. Según Viniegra-González (1997) es “un proceso microbiológico que ocurre comúnmente en la superficie de materiales sólidos que tienen la propiedad de absorber y contener agua, con o sin nutrientes solubles”. En el SSF se reproducen procesos naturales en la fermentación, por lo que el sustrato tiene que proporcionar el sustento para el desarrollo de todas estas actividades, pero controlando parámetros para obtener el producto en las condiciones deseadas. [3]

Este tipo de fermentación se ha venido utilizando desde la antigüedad, como en la producción de hongos para fines alimenticios; en Japón para el koji, vino, sake, salsa de soja y vinagre; en Europa: para la elaboración de quesos camembert y roquefort. Fue usado en 1900 para la producción de enzimas; en 1940 para producir penicilina, pero empezó a ser usado con gran interés desde mediados de 1970 en más campos. Durante los últimos 20 años, se han desarrollado modelos teóricos, lográndose un mejor conocimiento en el diseño, operación y escalamiento de biorreactores. En la actualidad se usan biorreactores de este tipo en la industria química, alimentaria y farmacéutica. [3]

Otro tipo de fermentación es la sumergida (Submerged fermentation o SmF), se caracteriza por poseer un 95% de humedad mientras que en la SSF varía entre 40% y 80%. Los productos de las fermentaciones en SmF y SSF pueden diferir por la variación del medio de desarrollo, debido a esto puede también variar el pH entre los dos tipos. Se han realizado estudios en los que resulta más económico y rentable, el uso de SSF comparado al de SmF para la producción de penicilina.

Se pueden usar desechos agroindustriales como sustratos sólidos, gracias a su interacción con microorganismos, lo que puede ser una solución a problemas medioambientales. Si se tienen partículas de sustrato de tamaño pequeño, estas proporcionarán un área superficial extensa para el desarrollo microbiano, pero no muy diminutas debido a que se ocasionaría una aglomeración del sustrato que desacelera el crecimiento; por otro lado, si se tienen partículas de mayor tamaño, proveerán una mejor aireación, pero una superficie que limita el ataque microbiano; por lo que la elección del sustrato es un tema importante en la fermentación en estado sólido. [3]

1.1.1. Ventajas y desventajas de la fermentación en estado sólido

La fermentación se lleva a cabo en biorreactores, los que tienen que proporcionar las condiciones necesarias para el óptimo desarrollo del proceso. Durante las últimas décadas, el diseño de biorreactores ha avanzado lentamente debido a problemas de operación, transporte y escalamiento, la obtención de productos finales con pureza alta y la estimación de biomasa, los cuales son los desafíos de la SSF durante los últimos años. Con el desarrollo de la ingeniería bioquímica se han diseñado biorreactores cuya transferencia de calor y masa es monitoreada durante el proceso. Otra dificultad en el proceso es la relacionada con la separación de la biomasa, que es necesaria para realizar estudios acerca de la cinética bioquímica. Se han preparado métodos indirectos de estimación de concentraciones, estimación de DNA, análisis por procesamiento de imágenes en un SSF, obtenidas por estereomicroscopios y cámaras digitales, medición de cambios en el peso luego del secado, evolución de contenido de CO₂, pero aún no son del todo exactos. [2][8]

Para llevar a cabo la modelación de un sistema se necesita que hallar las expresiones matemáticas que lo validen y establezcan parámetros que caractericen el proceso y permitan controlarlo. Los modelos existentes de procesos mediante SSF, describen la conversión y difusión de sustratos, así como el consecuente crecimiento microbiano sin incorporar factores que también afectan la SSF, por lo que fallan en explicar la formación de productos durante y al finalizar el proceso. La modelación ha sido limitada por la dificultad de medir las concentraciones de microorganismos y compuestos, pero una vez estos parámetros sean hallados, se lleva a cabo el escalamiento, diseño y control de biorreactores. Finalmente, el desarrollo de modelos en SSF se centra en: encontrar la representación de actividad microbiana y su patrón cinético, así como termodinámico, estudiar la transferencia de calor y masa en sistemas sólidos heterogéneos y la selección del mejor tipo de fermentador. A continuación, se muestran ventajas y desventajas del SSF.

Ventajas del SSF:

- Se usan volúmenes menores de masa fermentativa lo que implica una menor inversión.
- Es más eficiente y logra productividad mayor que con el sustrato líquido.
- Debido al bajo contenido de humedad, hay un menor riesgo de contaminación por cuerpos no deseados como bacterias y levaduras.
- La instrumentación tecnológica implicada en el proceso es de bajo costo.
- Se favorece a las etapas de aireación (mejor circulación de oxígeno) en los procesos fermentativos debido al mayor contacto que tiene la masa fermentativa con el aire a comparación con la SmF.
- Es favorable para productos que requieran permanecer en fase sólida.
- Se reduce la necesidad de llevar un riguroso control de los parámetros del proceso fermentativo.
- Al tener un bajo nivel de líquidos, se reduce el impacto ambiental que genera el reactor. Además, la biomasa desechable puede ser aprovechada por ejemplo como alimento animal.

Desventajas del SSF

- Puede presentar problemas en el control o medición del pH o la temperatura si es que se utiliza en un medio heterogéneo debido a que al ser una masa heterogénea tiene pobres capacidades de mezclado, lo que no sucede con el SmF porque al ser homogéneo, es más manipulable.
- Sólo puede ser aprovechada con microorganismos adaptable a bajos niveles de

agua.

- La velocidad de las reacciones químicas y desarrollo de los microorganismos es menor, por lo que los procesos tienen una mayor duración.
- Las temperaturas pueden alcanzar mayores rangos, lo que afecta el crecimiento de microorganismos porque se sabe que a mayores temperaturas se va deteniendo el crecimiento de estos y se altera el metabolismo.
- Presenta dificultades en el escalamiento.
- En ciertas ocasiones, los productos adquieren menos pureza, incrementando los costos para mejorarlo.
- Los movimientos de las partículas del estado sólido pueden causar un impacto negativo en estas. Para procesos que involucran poblaciones de hongos, el crecimiento de estos puede ser afectado por este motivo.

1.1.2. Tipos de biorreactores

En el diseño de los biorreactores, se debe asegurar la homogeneidad del sistema y las condiciones adecuadas para que se lleve a cabo la fermentación. Es importante el modo en que se va a producir la transferencia de calor y oxígeno durante la fermentación, por lo que se suele clasificar por su modo de mezclado (sin mezclado, mezclado intermitente o mezclado continuo) y el modo de aireación (forzado o no forzado), siguiendo algunos criterios de diseño:

- Por las mismas características de la SSF, se debe tener un reactor preparado para un periodo operativo prolongado.
- Debe permitir de aireación y mezclado según lo requiera el metabolismo de la masa fermentativa.
- Para una mayor eficiencia, se debe requerir un consumo mínimo de energía.
- Debe permitir, según el diseño, la adición de nutrientes y el control del pH durante el proceso de fermentación.
- Se debe tener un sistema para poder mantener la temperatura deseada, ya que las reacciones bioquímicas de los procesos que se llevarán a cabo son generalmente exotérmicas.
- No se debe permitir la contaminación con agentes externos o se debe disminuir su acción.

Se estudian biorreactores de bandeja, tambor rotatorio, lecho empacado, columna de lecho fijo o a nivel de laboratorio las cajas petri y los matraces como el Erlenmeyer, estos últimos no cuentan con aireación ni agitación forzada. [3]

Se clasifican en:

- Biorreactor tipo bandeja: Son aquellos de aireación no forzada y sin mezclado. Es el tipo más simple de biorreactor y se fabrican con materiales como madera, bambú, metal protegido o de plástico. Es frecuentemente usado para la producción de alimentos fermentados tradicionales en Asia como el tempeh, miso, koji, y salsa de soja; para producción de enzimas como la lipasa, xilanasa y exo-poligalacturonasa, o para la producción de etanol. En laboratorios se suele usar para este tipo de biorreactores instrumentos simples como placas petri, vasos, bolsas plásticas, frascos Erlenmeyer. [3]

Su diseño se basa en colocar cajas separadas entre ellas para facilitar la aireación. La altura del sustrato en la bandeja puede estar entre 5 a 15 cm. La parte superior de las bandejas se encuentra abierta y posee perforaciones en los lados laterales para facilitar la aireación. [2][4]

La temperatura y humedad pueden ser controladas, circulando flujos de aire caliente o frío e introduciendo aire húmedo o saturado respectivamente. La circulación de aire permite acelerar la transferencia de calor entre la superficie del sustrato y el aire externo, dependiendo del coeficiente de transferencia de calor que depende a su vez de la velocidad del flujo de aire. Esto permite que el proceso se lleve a cabo de una mejor manera que agitándose, ya que de así se podría dañar la masa fermentativa.

Se ha determinado experimentalmente que la altura máxima del lecho debe ser 5 cm, así permitiría la aireación entre la superficie del sustrato y el lecho de cada bandeja adecuadamente. Para el escalamiento no se debe aumentar la altura del lecho, sino se debe incrementar el área de las bandejas o incrementar el número de estas, que es lo que se suele realizar a nivel industrial.

La principal desventaja de este reactor es que requiere de numerosas bandejas y un amplio volumen, lo que hace a estos fermentadores costosos. [2][5]

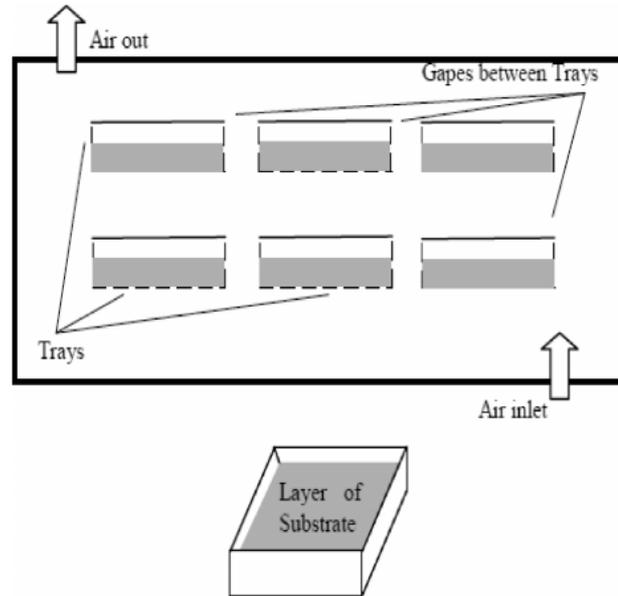


Figura 1. Esquema de biorreactor de bandeja. Fuente [4].

- Biorreactor tipo lecho empacado: Este tipo opera en aireación forzada. Se suele usar en procesos en los que no se desea mezclar el sustrato por sus efectos adversos en el crecimiento microbiológico o en la estructura física al final del producto y para el cultivo de microorganismos.

La temperatura y la concentración de oxígeno en el flujo de aire cambiarán a lo largo de la trayectoria hasta la salida del flujo. El principal problema de estos reactores es la alta temperatura que puede alcanzar. En estos reactores la temperatura y la altura del lecho del sustrato son directamente proporcionales, mientras que el flujo de aire decrece excepto en la parte inferior del sustrato. Se ha hallado también que el gradiente de temperatura es el parámetro que afecta más al crecimiento de los microorganismos [4]. Por otro lado, los gradientes de temperatura y el flujo de aire ocasionarán la evaporación de líquidos en el sustrato, lo que es imposible de evitar, pero se puede subsanar con el ingreso flujos de aire no saturado para airear el sustrato del biorreactor.

Este tipo de biorreactores tienen una operación estática (sin mezclado), lo que puede ocasionar problemas durante la transferencia de calor y masa entre el lecho del sustrato y los muros del biorreactor, debido a la posibilidad de crecimiento de organismos como hongos dentro del reactor que pueden impedir el flujo de aire e incrementar las caídas de presión.

Finalmente, para el uso de estos biorreactores a larga escala se puede aumentar el ancho o la altura del lecho del sustrato, pero teniendo en cuenta que menores diámetros permitirán

una mejor eliminación del calor y que para lograr un óptimo enfriamiento a larga escala debe haber un espaciado adecuado como se hace en los biorreactores de bandeja. Por otro lado, se pueden usar otra variedad de estos biorreactores conocida como Zymatis, que es recomendable cuando sea necesario que el sustrato permanezca estático. [4]

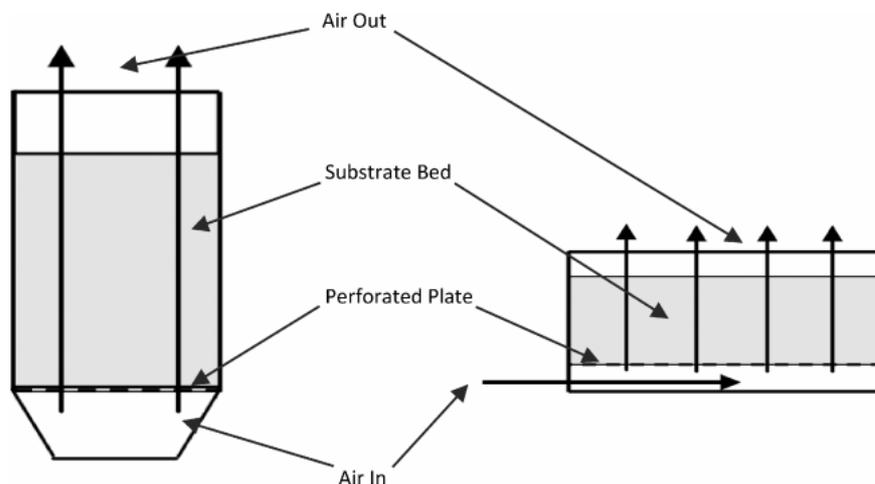


Figura 2. Esquema de un biorreactor de lecho empacado. Fuente [4].

- Biorreactor de tambor rotatorio y tambor agitado: El lecho de este Biorreactor es mezclado continua o intermitentemente, y el aire fluye a través de la cabecera de la cama, pero no forzadamente. Tiene un diseño cilíndrico. El tambor rotatorio gira alrededor de un eje central para mezclar el lecho, mientras que el tambor agitado incluye álabes o paletas alrededor de un eje central que gira dentro del tambor, lo que logra que las partículas del sustrato sean transportadas a la superficie y se facilite el intercambio de calor, agua y oxígeno entre el lecho del sustrato y los espacios sin este. El crecimiento de microorganismos en rotación intermitente es considerado más uniforme que en la fermentación en bandeja. [4]

El tambor se encuentra parcialmente lleno del sustrato y el aire puede fluir por el espacio libre, por lo que se limita la altura del lecho del sustrato para permitir la transferencia de oxígeno y dióxido de carbono, y evitar la acumulación del calor generado durante las fermentaciones en el sustrato.

Con el mezclado intermitente se logra mayor uniformidad que con la fermentación con bandejas y crecen menos organismos indeseables, como micelios. El rendimiento de estos biorreactores depende del intercambio de agua que se evapora y la transferencia de calor entre el sustrato y el espacio vacío.

En el biorreactor rotatorio, para bajas velocidades es recomendable el uso de deflectores para un adecuado mezclado. Para el diseño con deflectores, se prefiere los de forma circular a los rectos debido a que el sustrato es mezclado más uniformemente.

Un problema de la fermentación rotatoria es que es más lenta si la velocidad de giro aumenta. Para solucionar este problema se usan velocidades de rotación muy altas o se incorporan deflectores. [4]

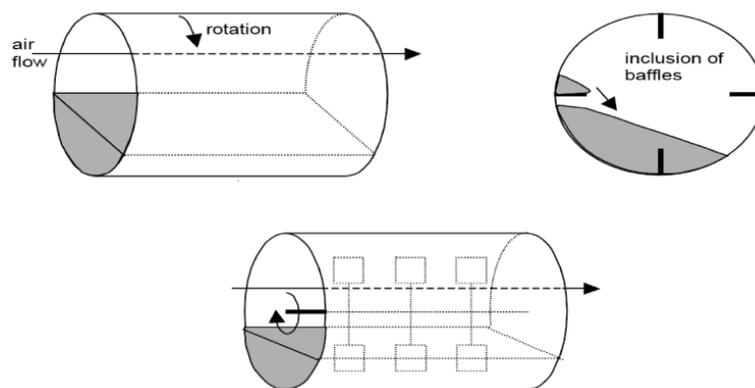


Figura 3. Esquema de biorreactor de tambor rotatorio y de tambor agitado. Fuente [4].

- Biorreactor mezclado y fuertemente aireado: En este grupo, el lecho de los biorreactores es agitado y el aire fluye forzosamente través de este. Puede ser operado de dos maneras: con mezclado continuo o intermitente. La elección de qué tipo de mezclado usar depende de la sensibilidad de los microorganismos al tipo de mezclado y a las propiedades de las partículas del sustrato. El beneficio de tener mezclado y aireación forzada a la vez es que se evitan los gradientes de temperatura y humedad que ocurren en otros reactores. El mezclado posibilita la adición de agua en el lecho y reduce la necesidad de usar un sistema de enfriamiento para el sustrato. [4]
- Biorreactores de aireación forzada y de mezclado continuo: La eficiencia de la aireación depende del grado de mezclado alcanzado en la agitación, por lo que se han diseñado diversos modelos de reactores de este tipo. Algunos de estos biorreactores han sido diseñados con entradas de aire a lo largo de una sección del reactor, existen diversos modelos de este tipo.
- Biorreactores de aireación forzada y de mezclado intermitente: Estos reactores tienen un diseño similar a los de lecho empacado, con la adición de un tipo de agitación

que puede ser mecánica o con flujos de aire. Algunos de los reactores que son usados para mezclado continuo pueden ser usados como intermitentes, pero deben tener los sistemas de aireación adecuados que permitan abastecer al lecho del sustrato cuando permanezcan estáticos.

Con este tipo de reactor se previenen las caídas de presión que pueden ser altas en el lecho, se permite la adición de agua al lecho para un mezclado más uniforme y puede ser usado para microorganismos (como hongos filamentosos) que puedan tolerar mezclado continuo. Estudios basados en el análisis de modelos de parámetros distribuidos se ha demostrado que si se usan estrategias de control se mejora la producción en el biorreactor, como por ejemplo el hecho que se pueda controlar la temperatura y humedad del lecho manipulando la temperatura del flujo entrante de aire. Sin embargo, el control de la temperatura y humedad del flujo ingresante es más complicado que simplemente mantener la humedad del biorreactor al 100% y generar caídas de humedad en la salida del flujo para reponer el agua.

Por otro lado, se han investigado métodos para predecir la humedad de la masa fermentativa tomando medidas al ingreso y salida de la temperatura del flujo de aire, así como herramientas para toma de decisiones sobre el momento adecuado para la adición de líquidos al sustrato y la cantidad de estos durante el mezclado.

En conclusión, este tipo de biorreactor es preferible con respecto a los demás para la transferencia de calor y masa por la amplia variedad de métodos con los que se puede controlar el proceso, pero a su vez, es complejo y requiere un mayor detalle en su modelación. [4]

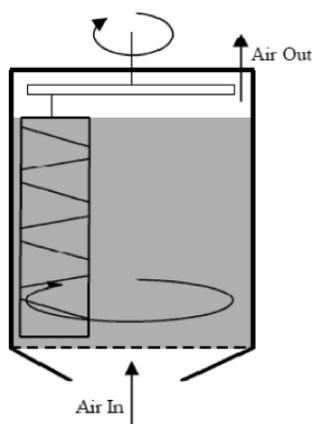


Figura 4. Esquema de biorreactor agitado y aireado. Fuente [4].

1.2. Aplicación de fermentación en estado sólido en la industria

Es usado en la industria de bioprocesos como la biodegradación de compuestos peligrosos (biorremediación), en la desintoxicación biológica de residuos agroindustriales, la bioconversión de biomasa, el enriquecimiento nutricional de cultivos y así darle valor agregado, para producir antibióticos, alcaloides, compuestos para el crecimiento de plantas, enzimas (como la amilasa, pitasa, inulinasa, lipasa, proteasa, lactosa y celulosa), ácidos orgánicos (como el ácido láctico, ácido cítrico y bioetanol), biopesticidas, compuestos aromáticos, para productos de alto costo en la industria biofarmacéutica, para pigmentos, producción de esporas, cultivo de levaduras, en las refinerías para producir biocombustibles. En la actualidad es usado en Japón para la producción de enzimas industriales; en Brasil se usa para mejorar la producción agrícola, productos como etanol, proteínas unicelulares (SPC), hongos, enzimas, ácidos orgánicos, aminoácidos, metabolitos secundarios, entre otros.

En la industria se puede usar para:

- Sabores: Para producirlos mediante biosíntesis y bioconversión microbiana, como con hongos y bacterias que producen compuestos aromáticos (alcoholes, acetatos, pirazinas).
- Producción de enzimas: Se ha evaluado que el SSF es el mejor sistema para producir enzimas y otros productos termolábiles, debido a que presenta un buen ambiente para el desarrollo de levaduras. Se sabe que las enzimas son los productos más importantes para el ser humano que pueden ser obtenidos de fuentes microbiológicas. Se pueden desarrollar enzimas como Amilasa, fructosiltransferasa, enzimas hidrolíticas, lipasa, xylanasa, y pectinasa.

Para la producción de enzimas se puede llevar a cabo con el desarrollo de microorganismos como: *Aspergillus niger*, con la que se pueden obtener hasta 19 tipos de enzimas; familias de hongos como la *Trichoderma* spp. y *Aspergillus* spp, son usadas para la producción de enzimas hidrolíticas; especies de *Rhizopus* y *Aspergillus* pueden ser usadas para producir enzimas amilolíticas; para la producción comercial de amilasas. [6]

- Producción de ácidos orgánicos: Han sido utilizados como aditivos y conservantes, como los ácidos lácticos (industria alimentaria y textil).

- Procesos fermentativos alimenticios: Como para la producción de vino; fermentación del cacao, el cual, a través de levaduras, bacterias lácticas y acéticas, se producen ácidos y otros compuestos fundamentales para sus propiedades finales; el ang-kak o “arroz rojo” involucra el cultivo del hongo *Monascus purpureus* en el arroz cocido, en cual le produce al arroz un pigmento de coloración rojo oscuro [5].
- Producción de ácido cítrico: Es uno de los ácidos orgánicos más usados en la industria alimentaria (alrededor del 70% de producción de este ácido), farmacéutica (12%) y otras aplicaciones (18%). Puede obtenerse con síntesis químicas o en fermentaciones.
- Para la reutilización de residuos agroindustriales: Los residuos agroindustriales son generalmente considerados como los mejores sustratos para procesos de fermentación en estado sólido incluyendo para producción de enzimas. Se suelen usar como sustrato al bagazo de la caña de azúcar, salvado de trigo, salvado de arroz, salvado de maíz, cáscara de arroz, casco de soya, hampas sagú, residuos de plátano, pulpa de manzana, cáscara de cacao, pulpa de remolacha, almidón, entre otros [6].
- Producción de biogás a partir de sustratos: Pueden ser sustratos ricos en carbono (pajas y tallos) como remolacha azucarera, yuca seca, raíces de yuca o cascarillas de cacao; o ricos en nitrógeno (excretas)
- Para darle un valor agregado a productos: enriquecimiento nutricional de cultivos o cultivos-residuos por biotransformación, producción de alimentos, enzimas, pigmentos, antibióticos, plaguicidas biológicos, ácidos orgánicos fermentados, biopulping y compuestos de sabor.

1.3. Aspectos generales sobre el proceso de fermentación de cacao

Es el fruto de un árbol de tipo eterculiáceo y es denominado *Theobroma cacao* L. Se presenta en forma de mazorcas que poseen entre 30 a 40 granos o semillas de cacao que se encuentran distribuidas uniformemente y esterilizadas, y cada una de estas mazorcas pesa entre 200 a 1 kg.

Son conocidas tres variedades de cacao: Forastero, Criollo y Trinitario.

- **Criollo** (*Theobroma ovalifolium*): se lo diferencia por ser un árbol débil y de poco fruto. Su almendra emana un aroma suave y escaso por su bajo contenido de taninos. Se lo reconoce como un cacao de calidad superior (fino/aroma) reservado para la

elaboración de los más exquisitos y delicados chocolates. Presenta un periodo de fermentación de entre 2 a 3 días de fermentación. Susceptible a enfermedades. [7]

- **Forastero** (*Theobroma cacao* L.) es el más cultivado a nivel mundial, resiste múltiples enfermedades. originario de la Amazonía, es altamente resistente y sus almendras poseen cáscara gruesa y aroma suave. Presenta un periodo de fermentación de entre 5 días. [7]
- **Trinitario** (*Theobroma de Celian*) es una variedad híbrida entre forastero y criollo. Posee características similares al forastero y como su nombre lo indica es procedente de Trinidad.

Las propiedades organolépticas del cacao en su estado último dependen diversos factores como el genotipo, área geográfica (por países, regiones, etc.), condiciones climáticas (estaciones), método de fermentación: modo (cajones, a montones), duración, temperatura, humedad, días de aguante, frecuencia de remoción, tostado, secado, entre otros. Por esto se sabe que es un complejo proceso hasta llegar al consumidor.

En el grano del cacao se encuentran dos partes diferenciables que son el mucílago y el cotiledón, los cuales se encuentran separado por una membrana o cáscara.



Figura 5. Mazorcas de cacao con semillas. Fuente [7].

El mucílago es también llamado pulpa, es rico en agua, carbohidratos y otras fuentes nutritivas que favorecerán el desarrollo de microorganismos durante la fermentación. Pasado un tiempo los compuestos conformados en esta parte pasan al cotiledón para continuar la fermentación en la fase aerobia. Presenta un pH de 3 a 3.5, principalmente por la presencia de ácido cítrico, nivel que es adecuado para el crecimiento microbiano. En el cotiledón se encuentran los precursores el sabor a chocolate (polifenoles, polisacáridos, lípidos, entre otros) y sus niveles de humedad son bajos.

En los granos frescos del cacao no se percibe el aroma y el sabor del cacao, estos surgen luego de los procesos fermentación, secado y tostado. Durante la fermentación se producen

los precursores del cacao, en la etapa del tostado, los precursores reaccionan conformando las propiedades sensoriales características del chocolate.



Figura 6. Cajones de cacao en pleno proceso de fermentación. Fuente: Smilja Lambert, Mars. Inc. [7]

El proceso de fermentación del cacao es una sucesión de distintos procesos bioquímicos, microbiológicos, enzimáticos en serie y en paralelo que producen los precursores del sabor, aroma a cacao. Las fermentaciones suelen prologarse entre 6 y 7 días [9] y se suele realizar en un medio sólido en cajones de madera (bandejas) o tambores rotatorios. Tiene dos finalidades principales:

- Eliminar el mucílago: Se realiza a medida que avanza la fermentación y principalmente en la primera fase (anaerobia). Esto facilita la manipulación, secado de la almendra o muerte del embrión.
- Producción de componentes volátiles como el ácido acético y generación de calor: Esto provoca la muerte de las almendras y el desarrollo de los precursores aromáticos.

La fermentación del grano de cacao se da en dos fases principales: Anaerobia y Aerobia:

- Anaerobia: Es llamada así debido a que debido a que se lleva a cabo en el mucílago, que posee una gran cantidad de agua con diversos reactivos y microorganismos los cuales interactúan en la descomposición, se tiene un contacto leve de cada parte interna del grano con oxígeno y el aire porque se encuentra cubierta por la pulpa. Se lleva a cabo durante las primeras 48 horas. Con el alto contenido de agua presente las levaduras actúan durante las primeras 24 horas formando etanol, luego por las condiciones en que se encuentran se forman bacterias lácticas (a partir del primer día) y acéticas (a partir del

segundo día). Estas bacterias ayudan a descomponer los carbohidratos y el ácido cítrico ya presentes en el mucílago. El pH inicial en la pulpa es 3.6, lo que se debe al ácido cítrico, junto con los bajos niveles de oxígeno, lo que favorece a la reproducción de levaduras.

Durante esta etapa el mucílago rodea al cotiledón en una capa que lo protege de la penetración de ácidos y de la difusión de algunos compuestos indeseables como la teobromina, cafeína y polifenoles. Los microorganismos ingresan debido a que el agricultor extrae los granos de las mazorcas contaminándolas [9].

Las levaduras mediante una reacción exotérmica (aumentan levemente la temperatura de la masa fermentativa), metabolizan los carbohidratos (azúcares) en el mucílago, aceleran procesos de degradación de la pectina y producen ácidos orgánicos volátiles principalmente etanol, junto con dióxido de carbono. También degrada el ácido cítrico (lo que incrementa el pH de 3.5 a 4.2 aproximadamente). Las enzimas pectinolíticas rompen células de la pulpa generando líquidos (del 12 al 15 % en granos húmedos y de pH 3.4 a 3.8). El exudado producido es inicialmente rico en azúcares y finalmente contiene en su mayoría alcoholes y ácido acético. Algunas cepas producen pectinasas, acetato isopropílico, acetato etílico, 1-isopropanol, alcohol isoamílico, 2,3-butanediol, dietilo succinato y alcohol fenetílico. Finalmente, las levaduras desaparecen a partir del segundo día [8] y sólo se han encontrado cepas ocasionalmente al final de la fermentación. A medida que el pH va aumentando, disminuye el porcentaje de levaduras.

Las bacterias lácticas se desarrollan desde el primer día de fermentación [9]. Predominan una vez que parte del mucílago fue exudado y las levaduras comienzan a declinar su crecimiento. Conforme a su crecimiento, consumen glucosa, fructosa y ácido cítrico (reduciendo el pH) para producir ácido láctico. Entre éstas y las bacterias acéticas producirán ácido acético, y en un bajo porcentaje los ácidos oxálico, fosfórico, succínico y málico. Las bacterias homolácticas mediante la vía de las hexosas monofosfato (reacción de oxidación irreversible seguidas de reacciones de interconversión reversibles entre azúcares-fosfato) producen el 50% de ácido láctico. Las heterolácticas actúan mediante la vía Embden Meyerhof, que es un tipo de glucólisis (una vía metabólica encargada de oxidar la glucosa para obtener energía para la célula). [8] La presencia de ácido láctico no es deseable en el producto final, sin embargo, prevalece, siendo uno de los componentes cuya concentración se desea controlar. Se ha reportado una mayor producción de ácido

láctico durante el quinto día de fermentación. Las reacciones de las bacterias lácticas si aumentan considerablemente la temperatura.

A medida que se van llevando a cabo las reacciones antes explicadas, el mucílago va disminuyendo su tamaño hasta desaparecer, mientras que ingresan al cotiledón ácidos (láctico, acético, oxálico, fosfórico, cítrico, entre otros), así como otros compuestos como teobromina y cafeína.

- Aerobia: Esta etapa se caracteriza porque el oxígeno participa de los cambios químicos de una manera más activa (penetra sobre el tejido), debido a que se ha eliminado el mucílago y el cotiledón reacciona con el oxígeno. Durante todo el proceso de fermentación se hacen remociones, que es el cambiar de cajón o mover la masa fermentativa con la finalidad de que la fermentación sea uniforme en todos los granos, ya que la temperatura más alta se alcanza en el centro de la masa fermentativa; las remociones se suelen hacer cada 24 o 12 horas. Gracias a la aireación, se homogeneiza el tratamiento, se evita el aglutinamiento de habas, se inhibe el crecimiento de hongo sobre las partes más aireadas y se favorece la producción de ácido acético, que luego se descompone en dióxido de carbono y agua.

El cacao toma un color parduzco al finalizar esta etapa. En esta etapa se forman la mayor parte de compuestos saporíferos por reacciones bioquímicas y enzimáticas dentro del cotiledón, como las pirazinas que representan el 40% de fracción aromática del chocolate.

El incremento de aireación puede ser nocivo al provocar la aparición de sabores indeseables en las habas por el desarrollo de bacterias del género bacilos y hongos filamentosos a 45°C y pH 3.5 a 5.

Esta etapa se caracteriza por ser en la que se desarrollan las bacterias del ácido acético desde el segundo al sexto día. Las bacterias acéticas oxidan el etanol, ácido cítrico y carbohidratos para producir ácido acético y acetato etílico. Las reacciones por estas bacterias son altamente exotérmicas y aumentan la temperatura hasta 50°C. El ácido acético que aparece en esta etapa es uno de los precursores del sabor astringente. Su concentración puede ser perjudicial en la calidad final del cacao, por lo que tiene que estar en ciertos rangos, esto causa un decrecimiento del pH de aproximadamente 6.5 a 4.5.

Si la fermentación se prolonga demasiado (más de 4 días según Schwan [9]), se forman bacterias aerobias del género Bacillus, las cuales producen ácidos orgánicos como el ácido láctico y 2,3 Butanodiol.

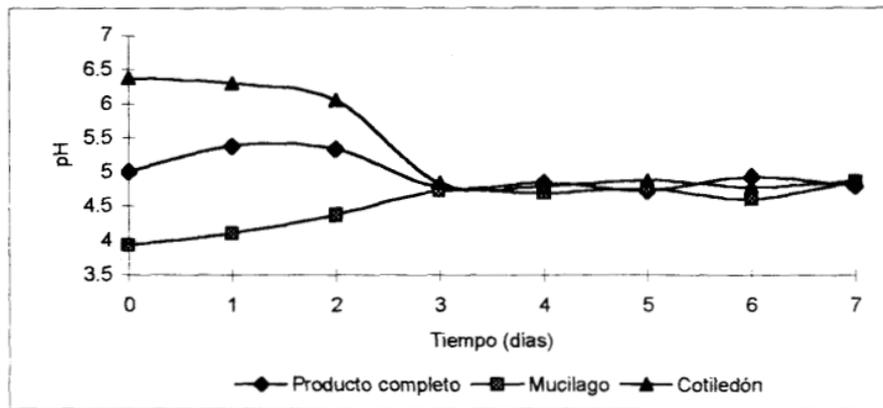


Figura 7. Variación del pH durante la fermentación de cacao en Tabasco, México. Fuente [8].

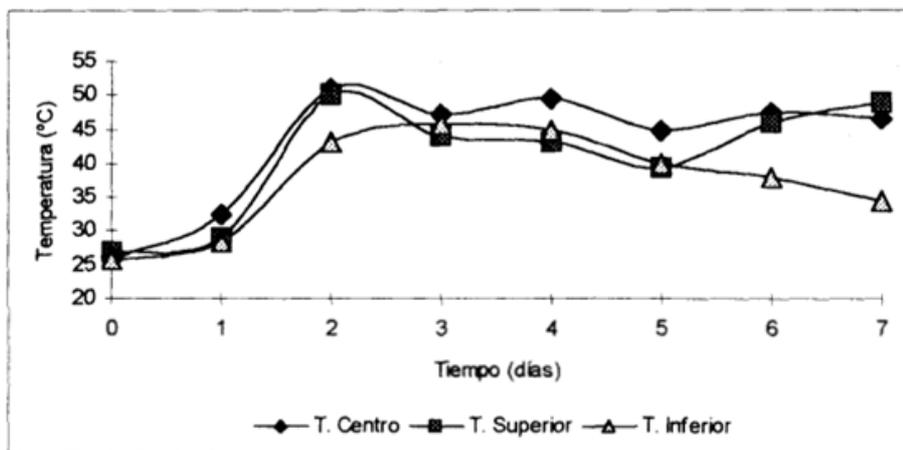


Figura 8. Variación de la temperatura durante la fermentación de cacao en Tabasco, México. [8].

- Secado: En esta etapa reaccionan los precursores de las propiedades sensoriales del cacao. La humedad del cacao puede descender del 45 al 7%, por lo que, al seguir existiendo líquidos, se siguen dando reacciones químicas que generan sabores como por ejemplo la oxidación de polifenoles, la cual reduce los sabores amargos y astringentes. Hay dos formas de realizar el secado, naturalmente o al sol y artificialmente o con máquinas para el secado. El secado solar es el más difundido por su facilidad y con este se logran altos niveles de calidad, durante este tipo de secado se evaporan distintos compuestos volátiles.

1.4. Variables más importantes durante la fermentación de cacao

Durante el proceso de fermentación del cacao se tienen diferentes factores a tener en cuenta como la humedad, la temperatura, el pH o acidez, las cuales durante el proceso de fermentación tienen un comportamiento similar en los lugares donde ha sido estudiado. A continuación, el comportamiento de los distintos parámetros durante el proceso de fermentación.

- **Humedad:** En las Figuras 9 y 10, se puede observar en ambos cuadros que, durante la fermentación, la humedad no tiene un descenso muy pronunciado, con un ligero aumento al último día quizás se deba a la metabolización de ácidos. Si se analiza la humedad en el mucílago, se tiene un punto de inflexión entre el 3 y el 5 día que se puede deber a la ruptura de la membrana que separa al mucílago y al cotiledón, además la humedad decrece al final del proceso. Durante la exudación, el líquido al inicio es rico en azúcares (primeras 36 horas), luego contiene altas cantidades de alcoholes y ácido acético [9].

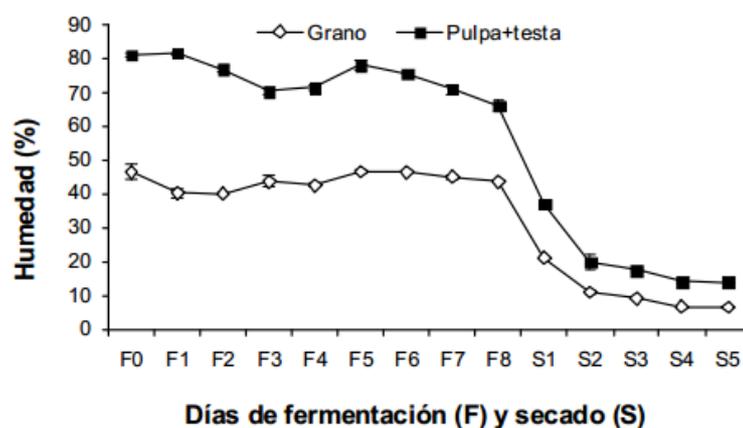


Figura 9. Variación de la humedad a medida que se lleva a cabo la fermentación y el secado. Fuente [10].

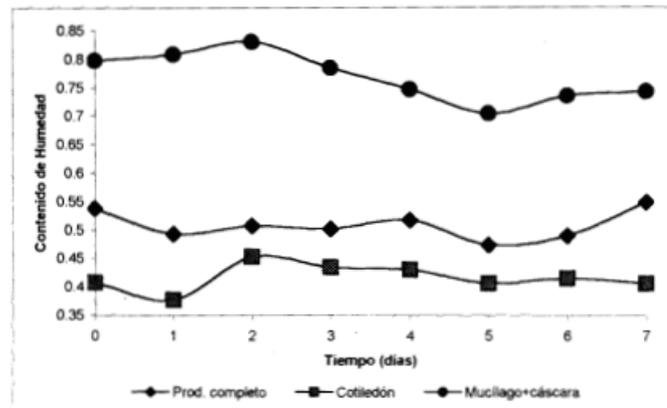


Figura 10. Variación de la humedad a lo largo del tiempo de fermentación.

- pH y acidez:** El mucílago inicia la fermentación con un bajo pH (entre 3.5 y 4) o alta acidez debido al contenido de ácidos como el cítrico que posee antes de la fermentación. Debido a la degradación, producción y pérdida de ácidos, el pH aumenta durante el proceso [8]. Lo contrario ocurre en el cotiledón, que posee una concentración inicial baja de ácidos y aumenta a medida que la fermentación (los ácidos pasan a través de la membrana que separa a las dos partes del grano); el pH pasa de aproximadamente 6.5 a 4.5 [11]. La variación del pH en el producto completo se debe a los alcoholes y ácidos que actúan durante la fermentación, especialmente el ácido acético y el láctico, que cambian con mayor magnitud el pH en el grano debido a sus altas concentraciones, especialmente al finalizar la fermentación porque representan más del 90% de los ácidos y se han encontrado altas correlaciones entre estos con el pH y la acidez titulable.

Con respecto a la influencia del pH en los microorganismos, para el desarrollo inicial de las levaduras el pH debe estar en un rango de 3.5 a 4. Por otro lado, para el desarrollo de bacterias acéticas y lácticas, el pH debe estar entre 4 y 4.5.

Un cacao bien fermentado debería tener un pH entre 4.7 y 5.2, mientras que uno de pobre calidad tendrá entre 5.5 y 5.8.

Finalmente, en la Figura 12 se aprecia que la acidez que aporta el ácido acético aumenta progresivamente como resultado de las reacciones químicas que se llevan a cabo en el grano.

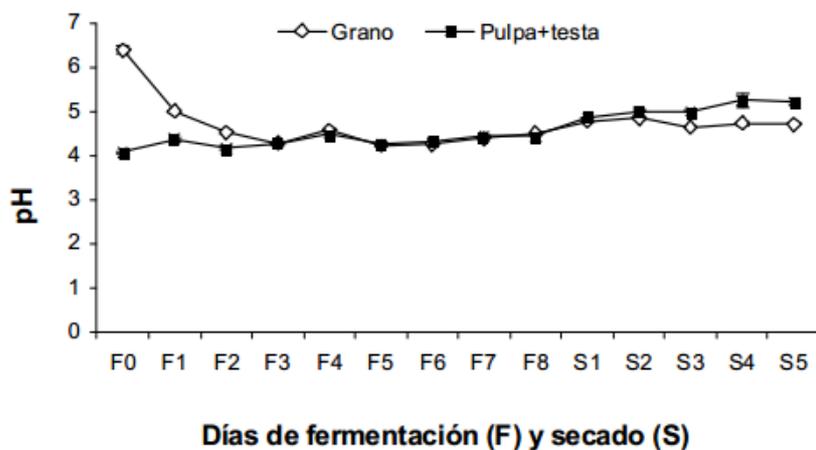


Figura 11. Variación del pH a medida que se realiza el proceso de fermentación y secado.

Fuente [8].

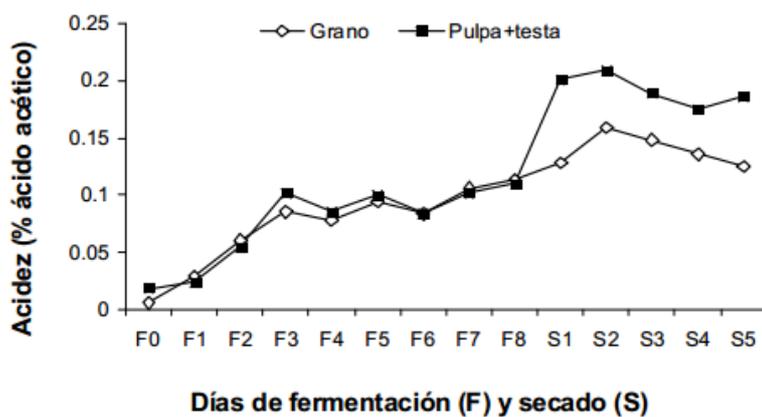


Figura 12. Variación de la acidez a medida que se lleva a cabo la fermentación y el secado.

Fuente [8].

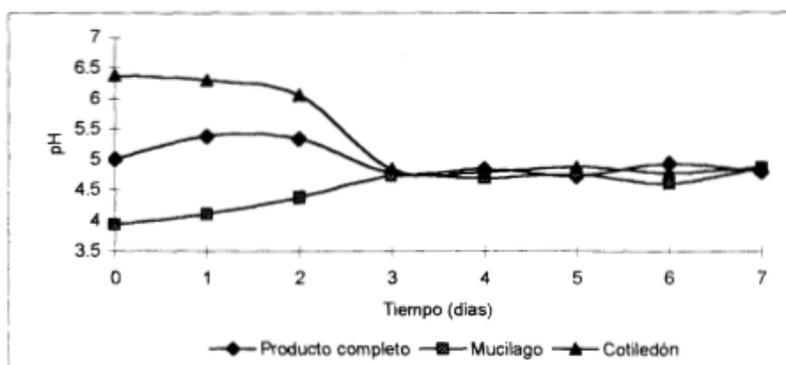


Figura 13. Variación del pH a medida que se realiza la fermentación. Fuente [10].

- Temperatura: Se observa en la Figura 14 que la temperatura va en aumento hasta alcanzar los 50°C, esto se debe a las reacciones exotérmicas que se llevan a cabo durante la fermentación, especialmente las que involucran al ácido acético (por oxidación del etanol) y el láctico; el primer pico de temperatura en 50°C coincide en la generación de ácido acético por bacterias acéticas. Además, se aprecia que la temperatura en la parte central del reactor fue la mayor que en las demás partes periféricas debido a la transferencia de calor entre la masa fermentativa, las cajas de madera y los alrededores. Se plantea la hipótesis consistente en que la temperatura inferior es la menor en el gráfico por las perforaciones en las partes inferiores para facilitar el exudado de líquidos durante el proceso fermentativo.

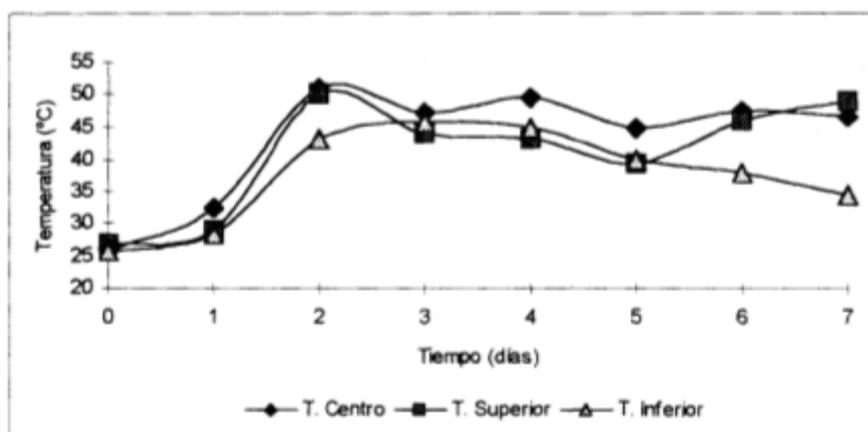


Figura 14. Perfiles de temperatura medidos por sensores posicionados en el centro y en las partes superiores e inferiores de los cajones. Fuente [8].

- Compuestos químicos: Los compuestos varían por las reacciones bioquímicas que se llevan a cabo durante la fermentación, como la hidrólisis o inversión de la sacarosa que decrece su concentración (hasta ciertos niveles de humedad y temperatura que desactivan el metabolismo de la enzima invertasa [20]) para producir otros azúcares residuales (ilustración 13), siendo finalmente la concentración de azúcares reducida en general porque se metabolizan en ácidos y alcoholes (ver Figura 12 y 13).

También se ha detectado la formación de etanol a partir de azúcares (Figura 12) y posterior aumento de ácido acético, siendo el compuesto de mayor abundancia entre los mostrados.

Los ácidos son importantes ya que matan al germen, evitan la germinación del grano, solubilizan los compuestos fenólicos que intervendrán en las propiedades aromáticas. Inicialmente el ácido con mayor presencia es el cítrico, pero luego reacciona con microorganismos y su concentración al finalizar el proceso es baja. La concentración de ácido láctico es la mayor entre los ácidos volátiles mostrados (Figura 14) al finalizar la

fermentación, sin embargo, su contenido excesivo es indeseable ya que elimina parte del sabor del chocolate. Otros ácidos como el málico, succínico (que se forma a partir del ácido pirúvico) y oxálico, no presentan cambios importantes durante la fermentación y su concentración permanece relativamente estable luego de su aparición.

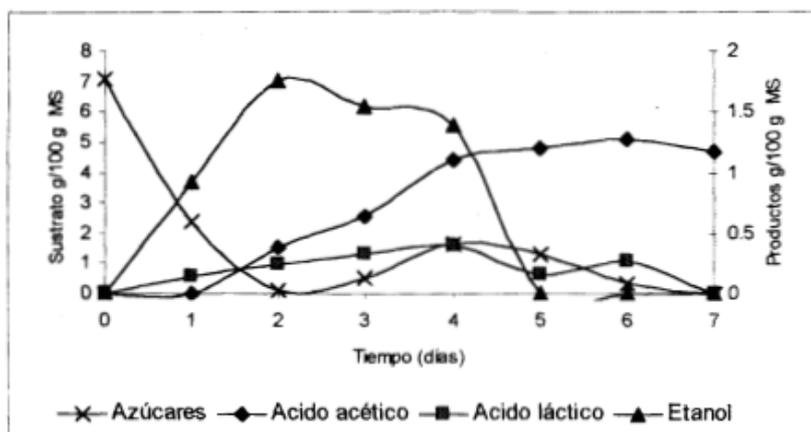


Figura 15. Variación de la composición de azúcares, ácido láctico y etanol durante la fermentación. Fuente [8].

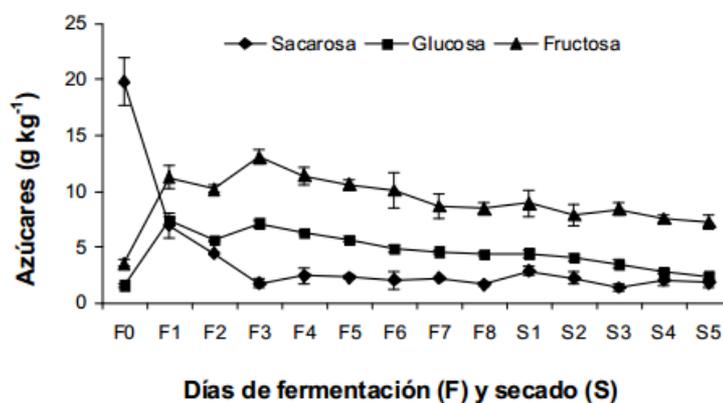


Figura 16. Variación de la composición de azúcares durante la fermentación. Fuente [10].

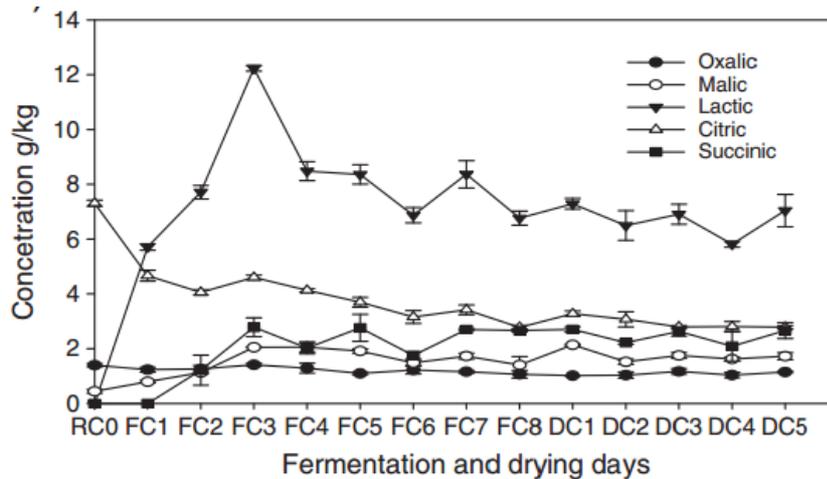


Figura 17. Variación de la composición de ácidos no volátiles durante la fermentación.

Fuente [12].

- Ácido acético: También llamado ácido metilcarboxílico o ácido etanoico. Su fórmula es $C_2H_4O_2$. Su punto de fusión es $16.6^\circ C$ y su punto de ebullición es $117.9^\circ C$. Se puede obtener por síntesis y fermentación mediante la carbonilación del metanol (reacción de CO con metanol), oxidación del acetaldehído, oxidación del etileno, fermentación oxidativa, fermentación anaeróbica. Entre sus numerosas aplicaciones se encuentran la apicultura (control de larvas y huevos de polillas de cera), en la industria química, en el revelado de fotografías en blanco y negro, en la medicina, para limpieza de manchas y como vinagre.
- Ácido láctico: o lactato en su forma ionizada. Es un ácido carboxílico que desempeña un importante rol en diversos procesos bioquímicos como en la fermentación láctica. Es posible obtenerlo a partir de la fermentación láctica, que puede ser mediante la lactosa con bacterias lácticas o *Lactobacillus* o mediante el almidón, glucosa o sacarosa usando también *Lactobacillus*; o a partir de síntesis en el laboratorio. Entre sus aplicaciones se encuentra en el uso cosmético (como alternativa de suavizante a la glicerina), en la industria alimentaria (como regulador de acidez), también como alimento para niños, como purgante, como aditivo en alimentos y fragancias, como materia prima para síntesis orgánica y biopolímeros, entre otros.
- Etanol: También conocido como alcohol etílico. A condiciones normales de presión y temperatura presenta un aspecto incoloro e inflamable, cuyo punto de ebullición es los $78.4^\circ C$. Es el principal producto de bebidas alcohólicas como el vino, a cerveza, entre otros. Se puede obtener mediante el proceso de destilación. Sus principales usos radican en

la industria de bebidas, la industria farmacéutica (medicamentos o cosméticos), como disolvente, como anticongelante, como desinfectante, como componente de diversos productos de la industria química, finalmente como combustible industrial o doméstico, ya que ayuda a la reducción de la emisión de gases de efecto invernadero.

1.5. Fermentación en estado sólido en la industria cacaotera

1.5.1. Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (Theobroma cacao L.) Tipo Nacional. [13]

Se evaluó el proceso de fermentación en diferentes tipos de fermentación del cacao y con diferentes tiempos entre estos. Este estudio se realizó en Manabí-Ecuador.

La finalidad fue observar que la calidad del grano al concluir la fermentación dependió fuertemente del tiempo de fermentación, del tipo de fermentador utilizado y del material de este.

Se estudiaron fermentaciones de cacao proveniente de tres parcelas ecuatorianas que cultivaban cacao de tipo Nacional. Se experimentaron con cuatro formas de fermentación de cacao [13]:

1. En sacos de cabuya.
2. En montones.
3. En cajas de madera.
4. En tinas plásticas.

Para evaluar el tiempo de fermentación, se llevaron a cabo fermentaciones en:

1. Dos días.
2. Tres días.
3. Cuatro días.
4. Cinco días.

Las variables físicas del grano de cacao analizado fueron la coloración interna del grano, las estrías, entre otros, de los granos de cacao. Se analizaron previo corte longitudinal de 100 granos secos, Se tomaron en cuenta tres tipos [13]:

1. Grano fermentado: De coloración marrón o marrón rojiza, con estrías profundas que demuestran una óptima fermentación.
2. Granos violetas: Presentan una coloración violeta intensa, que demuestran una fermentación aún en proceso.
3. Granos pizarrosos: De coloración gris negruzco o verdoso. Evidencian un inadecuado grado de madurez al momento de la cosecha.

Las pruebas que se realizaron para analizar los granos fueron:

1. Análisis de Varianza (Prueba de Tukey).
2. Porcentajes de granos fermentados (prueba de corte).
3. Porcentajes de granos violetas (prueba de corte).
4. Porcentaje de granos pizarrosos (prueba de corte).
5. Pruebas químicas: Se analizó contenido de Polifenoles, alcoholoides y ácido volátil.

Se obtuvieron finalmente los siguientes resultados:

Tabla 1. Resultados según el tipo de fermentador. Fuente: [13]

Tipo de Fermentador.	% de granos fermentados.
Saco de Yute.	El porcentaje de granos fermentados se mantuvo por debajo del 70 %
Montón.	
Caja de Madera.	Alcanzo el mayor porcentaje de granos fermentados con 73.3%. Menor porcentaje de granos violetas.
Tina Plástica.	

Tabla 2. Resultados según el tiempo de fermentación. Fuente [13]

Tiempo de fermentación	% de granos fermentados.
2 días.	Los granos no han sufrido cambios significativos.
3 días.	Se observó un incremento considerable de granos fermentados.

4 días.	Se consiguió mayor tendencia a los cambio de coloración interna del grano de violeta a marrón los cuales son indicativos de un grano bien fermentado que ha adquirido los precursores de sabor y aroma.
5 días.	Se consiguió mayor tendencia a los cambio de coloración interna del grano de violeta a marrón

Con respecto a los resultados de las variables químicas, se obtuvo lo siguiente:

- Polifenoles: Estos contribuyen a las características organolépticas del grano y dependen del tiempo de la fermentación
- Acido volátil: Relacionada con el ácido acético y depende de su concentración a lo largo del tiempo de la fermentación.
- Alcoholoides: Como la teobromina y cafeína, su concentración también varía a lo largo del tiempo de fermentación, siendo al final reducida su composición en el grano fermentado al 10% y al 4.6% respectivamente.

1.5.2. Evaluación de la calidad comercial del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) usando dos tipos de fermentadores. [14]

Se llevaron análisis de dos tipos distintos de fermentadores (cajones de madera y cestas plásticas) a distintas frecuencias de remoción con la finalidad de evaluar la calidad final del grano de cacao al terminar la fermentación y el secado. Se fermentaron granos de tipo trinitario con un tiempo de fermentación.

Las frecuencias de remoción estudiadas fueron [14]:

Para cajones de madera:

- FR1: A 24, 48 y 72 horas de iniciada la fermentación.
- FR2: A 24 y 48 horas de iniciada la fermentación.
- FR3: A 48 y 96 horas de iniciada la fermentación.

Para cestas plásticas:

- FR1: A 24, 48, 72 y 96 horas de iniciada la fermentación.
- FR2: A 24 y 48 horas de iniciada la fermentación.
- FR3: A 48 y 96 horas de iniciada la fermentación.

Tabla 3. Condiciones de estudio. Fuente [14]

Tipo de fermentador	Frecuencias de remoción		Variables analizadas
Cajones de Madera tipo (Tabebuia tentaphyla L).de forma rectangular. (50 Kg)	FR1	24, 48 y 72 horas.	<ul style="list-style-type: none"> • Contenido de humedad. • Cenizas. • pH. • Acidez total titulable. • Testa. • Dimensiones Promedio. • Prueba de corte.
	FR2	24 y 48 horas.	
	FR3	48 y 96 horas.	
Cestas Plásticas con capacidad de 50Kg.	FR1	24, 48, 72 y 96 horas.	
	FR2	24 y 48 horas.	
	FR3	48 y 96 horas.	

Las pruebas se realizaron en el interior de un cuarto cerrado, construido con paredes de bloque y techos de acrolit con dimensiones 3,84 m x 5,65 m x 3,90 m (largo x ancho x alto), usado para la fermentación y a la misma hora con un higrómetro y un termómetro respectivamente. La temperatura y % HR promedio osciló de $31,58 \pm 0,36$ °C a $57,02$ °C $\pm 1,02$ % durante los cinco días que duró la fermentación. [14]

Se obtuvieron finalmente los siguientes resultados:

Tabla 4. Resultados de estudio. Fuente [14]

Tipo de Fermentador	Frecuencias de Remoción	Peso 100 granos de cacao Seco.	Promedio	Porcentaje de granos fermentado	Promedio
Cajón de Madera	FR1	151,39 g	157.45 g	89%	84%
	FR2	147.44 g		79%	
	FR3	157.45 g		84%	

Cestas Plásticas	FR1	146.28 g	148.89 g	83%	83%
	FR2	151.18 g		84%	
	FR3	149.20 g		82%	

Se puede observar que se tiene un mayor porcentaje de granos bien fermentados y secos en cajas de madera, aunque no hay una diferencia demasiado apreciable. Tampoco se han observado variaciones en las dimensiones del grano. Por lo que se concluye que de ambas formas se obtiene un buen fermentado del grano de cacao.

Se analizó también la calidad del grano de cacao mal fermentado para los dos métodos de fermentación:

Tabla 5. Resultados de defectos en granos mal fermentados. Fuente [14]

Índices Físicos	Tipo de Fermentador	Frecuencia de Remoción			Promedio
		FR 1	FR 2	FR 3	
Granos insuficientemente fermentados	Cajones de Madera	11%	21%	16%	16%
	Cestas Plásticas	17%	16%	18%	17%
Granos Quebrados	Cajones de Madera	2%	1%	1%	1%
	Cestas Plásticas	1%	1%	1%	1%
Granos Achatados	Cajones de Madera	1%	1%	1%	1%
	Cestas Plásticas	2%	1%	1%	2%
Granos Pizarrosos	Cajones de Madera	3%	2%	3%	3%
	Cestas Plásticas	1%	4%	3%	3%

Como se observa en los resultados, no se sigue apreciando una diferencia remarcable entre el uso de cestas plásticas y cajones de madera. Se puede denotar que la fermentación es

más afectada por los días de fermentación, la temperatura del ambiente, el tipo de grano de cacao y su estado previo a la fermentación y el secado.

Tabla 6. Resultados para distintas variables analizadas. Fuente [14]

Índices Físicos	Tipo de Fermentador	Frecuencia de Remoción			Promedio
		FR 1	FR 2	FR 3	
Humedad (%)	Cajones de Madera	6.4	7.29	6.7	6.81
	Cestas Plásticas	6.16	6.42	6.16	6.25
Cenizas (%)	Cajones de Madera	2.83	3.34	3.1	3
	Cestas Plásticas	2.9	2.83	3.21	3.16
pH	Cajones de Madera	5.49	5.4	5.24	5.37
	Cestas Plásticas	5.61	5.56	5.59	5.59
Acidez Total (%)	Cajones de Madera	0.45	0.48	0.62	0.52
	Cestas Plásticas	0.37	0.35	0.65	0.46

Se obtuvieron los resultados mostrados en la Tabla 6.

- **Humedad:** Con respecto a la humedad, se obtuvo que en los cajones de madera se alcanzó un mayor porcentaje de humedad que en las plásticas. La humedad en ambos casos se encuentra entre 6 y 8 %, el cual es el rango adecuado en el que se debe concluir la fermentación del cacao.
- **Cenizas:** En este caso tampoco se encontraron diferencias apreciables en muestras de cacao ya fermentadas, por lo que se comprueba que no hay demasiada variación entre el uso de material de madera y plástico.
- **pH:** Se obtuvo que se alcanzó ligeramente menor pH en las cajas de madera. En general el pH se encuentra alrededor de 5 y 6 de pH, es decir es intermedio.

- Acidez: Se midió principalmente la concentración de ácido acético, ya que tener un exceso de este se traduce en un sabor astringente en el grano final, es decir de mala calidad. También se obtuvieron valores similares entre los dos materiales, alcanzándose una mayor acidez en los cajones de madera, por lo que en las cestas plásticas tiene menor cantidad de ácido acético, es decir un mejor producto final.

Finalmente, luego del análisis de los resultados obtenidos, se llega a la conclusión que, al comparar cajones de madera y cestas plásticas, se logran resultados similares. Las cestas plásticas por su bajo costo, durabilidad promedio y fácil manipulación durante la fermentación, puede ser usada en lugar de la madera para llevar a cabo el proceso de la fermentación.

1.5.3. Análisis químico del cacao criollo porcelana (*Theobroma cacao* L.) en el sur del lago de Maracaibo. [15]

En este estudio se evaluó la composición química del cacao de tipo Criollo-Porcelana tomándose en cuenta los siguientes factores: Análisis químico del cacao criollo porcelana (*Theobroma cacao* L.) en el sur del lago de Maracaibo [15]:

- Tipo de fermentador (TF).
- Frecuencia de remoción (FR).
- Aguante de la mazorca (AM).
- Tiempo de fermentación (TPF).

A partir de estas variables de estudio, se pudo comparar:

- pH
- Valores de acidez
- Porcentaje de taninos
- Azúcares reductores y totales.

La bibliografía citada en este artículo ofrece información acerca del descenso del pH en la pulpa. El cual es debido al metabolismo del ácido cítrico por acción de las levaduras que aparecen en la fase anaeróbicas, es decir, en etapas tempranas de la fermentación. Ya que

luego el etanol es oxidado a ácido acético mediante las bacterias acéticas, luego este continúa hacia el cotiledón.

También se cita que el contenido de los taninos es afectado por la remoción de la masa en fermentación. Si esta se realiza durante las primeras 48 horas el descenso de taninos es aminorado, sin embargo, si se da cada 24 horas, se acentúa hasta llegar a una reducción del 4.5 al 7.5% de taninos total durante el proceso de fermentación. [15]

Finalmente se tiene evidencia previa de la disminución de azúcares reductores y totales en la pulpa en el inicio de la fermentación (como numerosos procesos de fermentación que involucran azúcares), la cual es llamada fermentación alcohólica (se produce etanol). Por otro lado, en el cotiledón, la concentración de azúcares aumenta a lo largo del proceso fermentativo.

Para el estudio se usaron las siguientes condiciones iniciales:

Tabla 7. Condiciones de experimento. Fuente [15]

Tipo de Fermentador	Cuadrado
	Rectangular
Frecuencia de Remoción	12 horas
	24 horas
Aguante de la Mazorca	0 días
	5 días
Tiempo de Fermentación	0 horas
	24 horas
	48 horas
	72 horas
	96 horas

Se obtuvieron los siguientes resultados:

- **pH – Acidez:**

Tabla 8. Resultados de pH y acidez. Fuente [15]

Frecuencia de remoción	pH	Acidez (% Ácido cítrico)
12	5.43	0.95
24	5.53	0.81

Se observa en la Tabla 8 que el pH ha aumentado, así como la acidez ha disminuido si se usa 24 horas de frecuencia de remoción, por lo que se demuestra la hipótesis anterior. De estos datos se concluye que el pH aumenta con la frecuencia de remoción.

Tabla 9. Porcentaje de acidez según el fermentador. Fuente [15]

Tipo de Fermentador	Acidez (% Ácido cítrico)
Cuadrado	0.97
Rectangular	0.78

En la Tabla 9 que el porcentaje de acidez es mayor cuando se usa una caja cuadrada en comparación a una rectangular. Esto se debe a que en la cuadrada hay una mayor uniformidad en la fermentación por lo que los ácidos se generan con una mayor proporción.

Durante la fermentación se origina anhídrido carbónico el cual es perjudicial para el sabor del cacao por lo que se realiza la remoción de la masa cada cierto tiempo. De igual manera se indica que la concentración de ácido acético puede ser disminuida si se incrementa durante 24 a 30 horas, es decir al culminar la fermentación alcohólica, la temperatura en un rango de 55 a 65°C, sin embargo, este descenso debe ser controlado ya que el ácido acético influye en el valor del pH y es necesario para la correcta fermentación.

En la Tabla 10 se muestran resultados de pH y acidez durante el proceso de fermentación con condiciones iniciales de la mazorca (aguante de la mazorca) de 0 y 5 días. Se observa que, para 0 días de aguante, la fermentación produce ácidos, como el ácido acético y cítrico, que aumentan el porcentaje de acidez del grano y por lo tanto disminuyen el pH, habiendo al final un ligero aumento del pH y disminución de ácidos, por lo que indica que la fermentación ha terminado y están actuando bacterias indeseables. Finalmente, el proceso culmina con un pH entre 5 y 5.5, que es el intervalo adecuado para incrementar la potencia aromática del cacao.

Mientras que, para un periodo de aguante de la mazorca de 5 días, la fermentación ocurre de una manera más irregular, no llevándose a cabo el correcto desarrollo de ácidos e

incrementándose el pH, es decir que la fermentación concluye antes que, con 0 días de aguante, y finalmente concluye con un pH fuera del rango recomendado.

Tabla 10. Resultados ante la variación del aguante de la mazorca. Fuente [15]

Aguante de la Mazorca (días)	Tiempo de Fermentación (horas)	pH	Acidez (% ácido Crítico)
0	0	5.89	0.59
	24	5.48	0.75
	48	5.3	1.02
	72	5.12	1.25
	96	5.23	1.09
5	0	5.73	0.67
	24	5.4	0.83
	48	5.33	1.01
	72	5.54	0.85
	96	5.78	0.71

En la Tabla 11 se muestran valores de acidez y pH al culminar la fermentación, se aprecian similares conclusiones en comparación con la Tabla 10, es decir que en fermentadores cuadrados se desarrollan mejor los ácidos y que cuando se tiene un periodo de aguante de 5 días, la concentración de ácidos es menor, lo que favorece a evitar el sabor astringente en la mazorca.

Tabla 11. Resultados ante variación de tipo de fermentador y aguante de mazorca. Fuente [15].

Tipo de variable	Variable	pH	Acidez(%Ácido cítrico)
Tipo de fermentador	Cuadrado	4.08	1.88
	Rectangular	4.97	1.46
Aguante de la mazorca	0		1.83
	5		1.53

Finalmente, el autor indica que se logran mejores resultados para mazorcas almacenadas por cinco días, remociones cada 24 horas y tiempos de fermentación entre 48 y 72, ya que

de esta manera se logran niveles adecuados de acidez y pH que permiten el desarrollo de precursores de aroma.

- **Taninos:**

Se muestran los resultados obtenidos en las siguientes tablas:

Tabla 12. Resultados de porcentaje de taninos. Fuente [15]

Fracción	Tiempo de Fermentación (horas)	Taninos %
Cotiledón	0	0.51
	24	0.47
	48	0.41
	72	0.34
	96	0.29
Pulpa + testa	0	0.59
	24	0.53
	48	0.50
	72	0.38
	96	0.30

En la Tabla 12 se observa que en la tabla que los taninos en el cotiledón y en la pulpa + testa disminuyen a lo largo de la fermentación. Esto causa una reducción del sabor amargo y de la astringencia del grano.

Tabla 13. Resultados de taninos al variar frecuencia de remoción. Fuente [15].

Frecuencia de remoción (horas)	Aguante de la mazorca (días)	Taninos %
12	0	0.35
	5	0.41
24	0	0.45
	5	0.39

En la Tabla 13 se aprecia que cuando se tienen 0 días de aguante, el porcentaje de taninos tiende a aumentar, mientras que cuando se tiene un un aguante de la mazorca de 5 días, los taninos tienden a disminuir, lo que favorecería al producto final.

Tabla 14. Resultados del porcentaje de taninos al variar tipo de fermentador y la frecuencia de remoción. Fuente [15].

Tipo de Fermentador (cajón)	Frecuencia de remoción (horas)	Taninos %
Cuadrado	12	0.46
	24	0.45
Rectangular	12	0.42
	24	0.51

En la Tabla 14 se puede observar que el porcentaje de taninos tiende a disminuir cuando se realiza en un fermentador de tipo cajón cuadrado, lo que es favorable para la fermentación. Cundo la frecuencia de remoción varía en el cuadrado, el porcentaje de taninos no varía considerablemente, opuestamente a lo ocurrido en el cajón rectangular.

Tabla 15. Resultados del porcentaje de taninos al variar el tipo de fermentador y el aguante de la mazorca. Fuente [15].

Tipo de Fermentador (cajón)	Aguate de la mazorca (días)	Taninos %
Cuadrado	0	0.42
	5	0.49
Rectangular	0	0.50
	5	0.44

En la tabla 15 se observa la variación del porcentaje de taninos para a la fermentación en cajones cuadrados y rectangulares con distintos días de aguante de la mazorca. Para cajones cuadrados se observa que, al aumentar el aguante, el porcentaje de taninos se acrecienta, mientras que, en los cajones rectangulares, disminuye.

En general se observa que el porcentaje de taninos no varía de una manera apreciable en las condiciones probadas como para que sea un factor determinante en la elección del tipo de fermentador o de aguante de la mazorca o de la frecuencia de remoción.

- Azúcares reductores y totales:

De los estudios para determinar la variación del porcentaje de azúcares totales y reductores durante el proceso de fermentación del cacao, se halló lo observado en las tablas 16, 17 y 18.

Se puede observar claramente que si se tiene un periodo de aguante de cero días se favorece a la concentración de azúcares reductores y totales en la pulpa + testa, probablemente debido a que no se da tiempo a que se vaya realizando la fermentación al interior del grano y que estos azúcares se vayan convirtiendo en otros compuestos volátiles (Tabla 17). En la Tabla 16 se puede apreciar que, para fermentadores cuadrados, los azúcares reductores y totales alcanzan una mayor concentración, por lo que se debería fermentar en estos. Se observa que los azúcares totales reducen su concentración (Tabla 17) a medida que avanza la fermentación, debido a los procesos que se van realizando al interior de este.

Tabla 16. Resultados de azúcares reductores y totales ante variación del tipo de fermentador. Fuente [15].

Fracción	Tipo de Fermentador	Azúcares reductores %	Azúcares totales %
Cotiledón	Cuadrado	1.34	2.05
	Rectangular	0.93	1.63
Pulpa + Testa	Cuadrado	2.67	3.80
	Rectangular	2.31	3.52

Tabla 17. Resultados del azúcares reductores y totales ante variación del tiempo de fermentación. Fuente [15].

Fracción	Tiempo de Fermentación (horas)	Azúcares reductores%	Azúcares totales%
Cotiledón	0	1.60	2.34
	24	1.15	2.13

	48	1.05	1.75
	72	1.05	1.62
	96	0.82	1.30
Pulpa + testa	0	3.22	4.87
	24	3.16	4.34
	48	2.59	3.75
	72	2.05	2.97
	96	0.30	2.36

Tabla 18. Resultados de azúcares totales y reductores ante variación de frecuencia de remoción y aguante de la mazorca. Fuente [15].

Frecuencia de remoción (horas)	Aguante de la mazorca (días)	Azúcares reductores %	Azúcares totales %
12	0	1.60	2.58
	5	0.85	1.57
24	0	1.22	1.81
	5	0.86	1.37

Se observa que en general se mejora la calidad cuando se usan fermentadores cuadrados. El tener un periodo de aguante de cinco días disminuye el sabor astringente en el grano, ocasiona menores porcentajes de los azúcares al final de la fermentación, desfavorece el porcentaje de taninos, lo que mejora el producto final, por lo que se tiene que encontrar un periodo entre los 0 y cinco días de aguante en el que se equilibren estas ventajas y desventajas para lograr una mejor calidad del grano fermentado de cacao.

1.5.3. Influencia de varios factores sobre características del grano de cacao fermentado y secado al sol. [16].

En la presente investigación se evaluó los efectos de distintos factores sobre el proceso de fermentación para evaluar sus características físicas y químicas al concluir éste.

Se evaluaron los siguientes factores:

- Tipo:
 - Criollo
 - Forastero
- Almacenamiento del fruto previo a la fermentación
 - Periodo de aguante de 0 días después de la recolección.
 - Periodo de aguante de 5 días después de la recolección.
- Frecuencia de remoción
 - Sin remoción
 - Remoción cada 48 horas.
 - Remoción cada 24 horas.

El tiempo total de fermentación fue de 5 días, se secó por 4 días en una plataforma de cemento, se expuso al sol por 4 horas y 7 horas, el primer y segundo día respectivamente.

Para la realización de los experimentos y análisis se usaron los siguientes métodos experimentales denotados por la AOAC (1997). [16]

Tabla 19. Métodos experimentales usados. Fuente [16]

Variables	Método de la AOAC
Humedad	N° 931,04
pH	N° 970,21
Acidez Total Titulable	N° 942,15
Cenizas	N° 972,15
Grasas	N° 936,15
Proteínas	N° 970,20

Resultados

Se han obtenido los resultados observados en la Tabla 20 y 21. Con respecto a las características químicas se observa que la cantidad de humedad final es mayor en el cacao de tipo criollo y cuando se ha retardado la fermentación por cinco días (aguante de 5 días), de igual manera cuando se observa de los resultados que a menos frecuencia de remoción

de la masa, el caco tiene mayor humedad, lo que significa que aún no se han terminado de desarrollar los compuestos volátiles necesarios para la correcta fermentación del cacao.

Con respecto al pH se puede decir que en este experimento se obtiene un pH mayor al rango aceptado que varía entre 5 y 5.5 (aproximadamente mayor a 6 en casi todos los casos) por lo que se debe al tiempo de fermentación que le eligió (5 días) que ocasiona un desarrollo de ácidos volátiles en mayor proporción a lo adecuado, esto le da una calidad inferior al cacao. Cuando se usa cacao forastero el pH es mayor al final de la fermentación, lo que sucede también cuando se han almacenado los granos por cinco días y cuando se fermenta sin remoción, esto nos indica que estos factores deben ser los que debemos evitar en los experimentos que llevemos a cabo.

Con respecto al porcentaje de cenizas, se observa que estas aumentan cuando el cacao es criollo, ha tenido un periodo de aguante de 0 días, y no se remueve. Los taninos tienen una mayor presencia cuando el cacao es forastero, tiene 5 días de aguante (aunque la diferencia con 0 días es imperceptible), y su composición no varía con la frecuencia de remoción para este experimento.

Con respecto a las grasas, estas no varían demasiado tampoco. Las proteínas tienen una mayor concentración para el cacao criollo, cuando se tienen 0 días de aguante y no se remueve durante la fermentación.

Tabla 20. Resultados de características químicas del cacao fermentado. Fuente [16]

Factores		Características Químicas						
		Humedad %	pH	Acidez %	Cenizas %	Taninos %	Grasas %	Proteínas %
Tipos de Cacao	<i>Criollo</i>	5.20	6.00	0.73	3.21	0.81	54.49	16.26
	<i>Forastero</i>	4.50	6.20	0.65	3.20	1.27	54.08	14.32
Almacenamiento	<i>0 días</i>	4.29	5.98	0.74	3.62	1.00	55.15	16.82
	<i>5 días</i>	5.40	6.23	0.64	2.79	1.06	53.42	13.78
Frecuencia de remoción	<i>Sin remover</i>	5.13	6.13	0.68	3.26	1.00	54.59	15.66
	<i>C/48 horas</i>	4.86	6.10	0.68	3.24	1.08	53.77	15.05
	<i>C/24 horas</i>	4.55	6.07	0.70	3.10	1.01	54.50	15.18

Tabla 21. Resultados obtenidos de las características químicas de diferentes etapas del cacao. Fuente [16]

Cotiledón	Características Químicas				
	Humedad %	pH	Acidez %	Taninos %	Proteínas %
Fresco	39.69	5.86	1.35	1.13	17.45
Fermentado	44.58	5.98	0.75	1.01	17.79
Seco	4.55	6.07	0.70	0.82	15.17

Con respecto a sus características físicas (Tabla 22), se puede observar que los granos fermentados no dependen demasiado del tipo de cacao utilizado. Sí depende de los días de fermentación y de la frecuencia de remoción, siendo favorable cuando se tiene un aguante de 0 días y cuando se remueve cada 24 horas.

Tabla 22. Resultados de las características físicas del cacao fermentado. Fuente [16].

Factores		Características Físicas %				
		Pizarrosos	Múltiples	Violáceos	Negros	Fermentados
Tipos de Cacao	Criollo	3.44	2.61	13.94	4.33	72.50
	Forastero	8.11	7.39	12.00	2,94	72.67
Almacenamiento	0 días	7.67	6.17	12.94	1.28	73.39
	5 días	3.89	3.83	13.00	6.00	71.72
Frecuencia de remoción	Sin remover	3.50	4.50	16.00	2.83	69.83
	C/48 horas	5.83	5.08	10.25	4.08	73.75
	C/24 horas	8.00	5.42	12.67	4.00	74.17

1.5.4. Características químicas del cacao criollo. [17]

Se evaluó las características químicas del cacao de tipo criollo dependiendo de dos factores:

- Tiempo de fermentación
- Época de cosecha.

El cacao criollo utilizado fue proveniente de zonas agrícolas venezolanas, fueron fermentados durante cuatro días en cajones de madera de 60 cm³.

Se utilizaron los análisis químicos según los procedimientos de la AOAC (1997) [17] observados en la Tabla 23, teniendo especial cuidado para no alterar a los granos (congelados a 0°C durante el transporte y en cavas con hielo seco).

Tabla 23. Métodos utilizados para experimentos. Fuente [17]

Variables	Método de la AOAC
Humedad	N° 931,04
pH	N° 970,21
Acidez Total Titulable	N° 942,15
Cenizas	N° 972,15
Grasas	N° 936,15
Proteínas	N° 970,20

Resultados

Se ha obtenido que el porcentaje de humedad es mayor al principio de la fermentación (por la descomposición de los azúcares) y que esta no varía con los cambios de clima propios de distintas épocas en Venezuela. En la Tabla 25 se observa que la acidez obtenida la época 1, tiene niveles más bajos, es decir que indica una mejor calidad en estos climas, por lo que se debe encontrar un paralelo en Piura con estos para corroborar esta información. El tiempo de fermentación como se mencionó previamente, afecta a que la acidez vaya aumentando a medida que la fermentación se lleva a cabo.

Con respecto al porcentaje de grasas obtenidas (Tabla 26), se puede observar que el porcentaje de grasas aumenta con el tiempo de fermentación, lo que se explica por los procesos químicos al interior del grano.

Tabla 24. Porcentaje de humedad obtenido. Fuente [17]

Factores de estudio		Humedad %
Época de cosecha	Época 1	7.12
	Época 2	7.14
Tiempo de Fermentación	0 horas	--
	24 horas	---
	48 horas	7.74
	72 horas	6.97
	96 horas	7.05

Tabla 25. Resultados obtenidos al variar factores de estudio. Fuente [17]

Factores de estudio		pH	Acidez Total %	Acidez Volátil %
Época de cosecha	Época 1	5.7272	2.9871	1.2752
	Época 2	5.8098	3.8153	1.0944
Tiempo de Fermentación	0 horas	6.7092	1.7553	0.7668
	24 horas	6.0571	2.8232	0.9755
	48 horas	5.4517	4.1455	1.5738
	72 horas	5.3154	3.9918	1.4083
	96 horas	5.3092	4.2901	1.1996

Tabla 26. Resultados obtenidos al variar factores de estudio. Fuente [17]

Factores de estudio		Grasa %
Época de cosecha	Época 1	43.79
	Época 2	43.89
Tiempo de Fermentación	0 horas	41.66
	24 horas	43.36
	48 horas	43.93
	72 horas	45.45
	96 horas	44.80

Se concluye de este experimento que el tiempo de fermentación fue la única variable que influyo de las consideradas, lo que se debe ver en Piura, ya que en los tiempos actuales se tienen climas calurosos todo el año.

1.5.5. Efecto de tiempo transcurrido entre la cosecha y el desgrane de la mazorca de cacao tipo forastero de Cuyagua sobre características del grano de fermentación. [18]

En esta investigación se midieron los siguientes factores con la finalidad de evaluó la influencia del tiempo de aguante sobre las características físico-químicas del grano de cacao y el efecto de tiempo transcurrido entre la cosecha y el desgrane de la mazorca de cacao tipo forastero de Cuyagua sobre características del grano de fermentación.

- La temperatura. (Medida diariamente).
- Índice de fermentación. (de 0, 3 a 6 días).
- Humedad. (Pulpa + testa y Cotiledón).
- Taninos. (Pulpa + testa y Cotiledón).
- PH. (Pulpa + testa y Cotiledón).
- Acidez total titulable (Pulpa + testa y Cotiledón).

De investigaciones previas se tiene información que a mayor tiempo de aguante se beneficia el incremento de taninos en el cotiledón y se mejora el sabor en comparación con el tiempo de aguante nulo. Al haber un mayor tiempo de aguante se alcanzan mayores temperaturas en la fermentación, lo que logra que se forme bajos niveles de ácido láctico y ácidos volátiles en general. También se genera un ascenso lento de la temperatura, que provoca una sobre acidificación que se traduce en un mejor potencial de sabor. Por otro lado, la concentración de azúcares es menor en el grano, lo que puede no ser deseable en algunos casos.

Se usaron los siguientes métodos de la AOAC:

Tabla 27. Métodos experimentales utilizados. Fuente [18]

Variables	Método de la AOAC
Humedad	N° 931,04

pH	N° 970,21
Acidez Total Titulable	N° 942,15

Resultados:

En la Tabla 28 se puede apreciar que los días de aguante han influido en temperaturas superiores, ya que para aguante de 5 días la temperatura fue mayor, este se debe a las reacciones químicas que se llevan a cabo y a su carácter exotérmico, calientan más la masa fermentativa.

Tabla 28. Resultados de temperatura obtenida. Fuente [18]

Aguante de la Mazorca (Días)	Tiempo de Fermentación (días)	Temperatura °C Promedio
Aguante 0	0	29.0
	1	34.0
	2	37.7
	3	37.3
	4	34.3
	5	29.3
	6	29.3
Aguante 5	0	29
	1	33.7
	2	38.0
	3	43.3
	4	39.0
	5	35.0
	6	31.3

En la Tabla 29 se puede observar que los índices de granos fermentados para 5 días de aguante fueron mayores que para 0 días, esto sustenta la hipótesis que es preferible tener más días de aguante para que se vayan llevando a cabo las reacciones químicas antes de entrar al cajón.

Tabla 29. Resultados de índice de fermentación obtenido. Fuente [18]

Aguante de la Mazorca (Días)	Tiempo de Fermentación (días)	% Índice de Fermentación
Aguante 0	0	0
	2	64.25
	6	81.55
Aguante 5	0	5.02
	2	73.32
	6	88.51

En la Tabla 30 se observa la variación de humedad y taninos al cambiar el periodo de aguante. Como se observa los taninos estuvieron en mayores cantidades para aguante, lo que beneficia la calidad del grano, ya que los taninos le dan un sabor astringente. De igual manera se tuvo una mayor humedad para aguantes mayores, lo que se traduce en que los procesos químicos asociados para tiempos de aguante más largos ya se van llevando a cabo durante estos cinco días, por lo que cuando se tiene aguante de 5 días, hay una menor humedad en el grano y distinta composición interna en la pulpa y el cotiledón.

Tabla 30. Resultados de experimentos realizados. Fuente: [18]

Fracción	Aguante de la Mazorca (Días)	Tiempo de Fermentación (días)	% Humedad	% Taninos
Pulpa + Testa	Aguante 0	0	62.16	1.70
		2	60.40	0.91
		4	59.04	1.75
		6	57.37	1.51
	Aguante 5	0	62.89	1.52
		2	60.48	1.20
		4	55.52	0.76
		6	53.64	1.05
Cotiledón	Aguante 0	0	26.61	1.47

		2	25.83	1.18
		4	21.56	0.96
		6	22.48	0.94
	Aguante 5	0	22.38	0.92
		2	20.57	1.07
		4	26.22	1.28
		6	24.19	1.39

Finalmente, en la Tabla 31 se observa que se alcanzaron mejores niveles de pH cuando el período de aguante fue de 5 días, ya que se concluyó entre 5 y 5.5 de pH, rango en que debe concluir la fermentación ideal.

Tabla 31. Resultados de pH y acidez total titulable. Fuente [18]

Fracción	Tiempo de Fermentación (días)	pH		% Acidez Total Titulable	
		Día de desgrane		Día de desgrane	
		0	5	0	5
Pulpa + Testa	0	4.14	4.20	1.35	0.96
	2	3.34	4.01	3.75	3.68
	4	4.52	5.71	1.38	0.91
	6	5.50	7.10	0.88	0.45
Cotiledón	0	6.25	6.31	0.55	0.28
	2	4.88	5.09	0.89	0.86
	4	5.43	5.29	0.76	1.85
	6	5.85	5.46	0.59	1.39

Se logra concluir de estos experimentos, que el tiempo de aguante sí influye en la fermentación de manera positiva en todos los factores evaluados en esta investigación. A mayor tiempo de aguante, mejores características se pudieron encontrar. Debido a que no se analizaron los azúcares en la variación del período de aguante, no se pudo constatar que, a mayor periodo de aguante, hay variación en los niveles de azúcares, por lo que no se puede concluir sobre este tema en específico.

1.5.6. Efecto de los tratamientos post-cosecha sobre la temperatura y el índice de fermentación en la calidad del cacao criollo porcelana (*Theobroma Cacao L.*) en el sur del lago de Maracaibo. [19]

Se evaluarán los factores post-cosecha y su influencia en la fermentación, es decir sobre el tipo de fermentador utilizado, la frecuencia de remoción, el tiempo de fermentación y el tiempo de aguante. Las variables a evaluar:

- Tipo de fermentador (TF).
 - Cuadrado. (50 cm x 50 cm x 50 cm).
 - Rectangular. (83 cm x 30 cm x 50 cm).
- Frecuencia de remoción (FR).
 - Frecuencia de remoción de 12 horas (duración 12 minutos).
 - Frecuencia de remoción de 24 horas. (duración 12 minutos).
- Aguante de la mazorca (AM).
 - Aguante Mazorca de 0 días.
 - Aguante Mazorca de 5 días.
- Tiempo de fermentación (TPF).
 - 0 horas (sin fermentación).
 - 24 horas.
 - 48 horas.
 - 72 horas.
 - 96 horas.

A su vez se han tomado medidas de temperatura en tres posiciones diferentes del cajón de madera para evaluar la fermentación de una manera más adecuada [19]

- A 10 cm de la superficie del cajón.
- En el centro del cajón
- En la parte inferior del cajón

Resultados:

En la Tabla 32, se aprecia la temperatura promedio a lo largo de la fermentación para cada configuración mostrada. Se puede ver que cuando se tiene un aguante de 5 días se alcanzan mayores temperaturas. Con respecto a la posición del sensor de temperatura, se observa que se alcanzaron mayores temperaturas en el centro del cajón cuadrado. Para cajones cuadrados, la temperatura fue más uniforme en las tres posiciones, por lo que se logra una fermentación más uniforme que en el cajón rectangular.

Tabla 32. Temperatura promedio en distintas posiciones del fermentador y diferente aguante de mazorca. Fuente [19].

Tipo de Fermentador	Aguante de Mazorca (días)	Temperatura °C		
		10 cm	Centro	Fondo
Cajón Cuadrado	Aguante 0	42.8	41.4	40.1
	Aguante 5	45.4	44.3	41.7
Cajón Rectangular	Aguante 0	43.4	42.1	39.6
	Aguante 5	44.2	43.5	39.7

En la Tabla 33 se puede observar que se alcanzaron mayores picos de temperatura a 72 horas de iniciada la fermentación, por el desarrollo de ácido acético y cítrico, que son los principales contribuyentes a la fermentación. A su vez en los días finales la temperatura fue descendiendo, indicación que la fermentación está concluyendo.

Tabla 33. Temperatura promedio en diferentes posiciones del fermentador y distinta frecuencia de remoción. Fuente [19].

Tipo de Fermentador	Tiempo de Fermentación (horas)	Temperatura °C		
		10 cm	Centro	Fondo
Cajón Cuadrado	24	39.4	37.9	36.4
	48	44.4	43.1	41.3
	72	46.5	45.7	43.1
	96	44.2	45.1	42.9
Cajón Rectangular	24	38.5	37.7	35.7
	48	45.3	44.2	40.8
	72	46.0	45.1	41.8
	96	44.9	43.6	40.2

En la Tabla 34 se puede apreciar que la temperatura fue ligeramente mayor cuando se tuvo remoción de cada 24 horas, pero ligeramente mayor para una frecuencia de remoción de 24 horas, lo que unido con la aireación y uniformidad de la distribución que logra la remoción de la masa, el proceso fermentativo se beneficia con la frecuencia de remoción alta.

Tabla 34. Temperatura promedio en diferentes posiciones del fermentador y distinto tiempo de fermentación. Fuente [19].

Frecuencia de Remoción (horas)	Tiempo de Fermentación (horas)	Temperatura °C		
		10 cm	Centro	Fondo
Cada 12 horas	24	38.2	36.9	35.1
	48	44.6	43.6	40.6
	72	46.3	45.1	42.5
	96	44.9	43.5	41.2
Cada 24 horas	24	39.7	38.7	36.9
	48	45.1	43.7	41.4
	72	46.5	45.7	42.5
	96	46.1	45.2	41.9

En la Tabla 35 se puede apreciar que, para aguantes de 5 días, la temperatura fue claramente mayor en todas las configuraciones medidas. Lo que confirma lo visto anteriormente, que, a mayor aguante, se consiguen mejores resultados en el grano fermentado.

Tabla 35. Variación de la temperatura con el aguante de la mazorca. Fuente [19]

Aguante de la Mazorca (Días)	Tiempo de Fermentación (horas)	Temperatura °C		
		10 cm	Centro	Fondo
Aguante 0	24	36.0	35.0	33.0
	48	43.7	41.9	39.8
	72	46.0	45.2	40.9
	96	44.8	43.5	39.6
Aguante 5	24	42.0	41.5	39.9
	48	46.6	45.4	42.3
	72	46.3	45.6	43.9
	96	46.0	45.3	43.6

Finalmente se hicieron pruebas de corte para ver el porcentaje de almendras fermentadas en los dos tipos de cajones y a medida que el tiempo de fermentación transcurre. La calidad del cacao se puede observar por la cantidad de pigmentos púrpura presentan en la superficie de corte. A mayor intensidad, más tiempo lleva fermentando.

En la Tabla 36 se observa que se encontraron mayor cantidad de almendras fermentadas en cajones cuadrados, debido a la forma simétrica que posee el cajón cuadrado y que favorece a la fermentación de un mayor porcentaje de granos de cacao. Para que se haya realizado una correcta fermentación, el índice de almendras fermentadas debe ser superior al 60%, los cajones cuadrados son más adecuados para fermentar, por esta razón se explica que son los más difundidos.

Tabla 36. Porcentaje de almendras fermentadas. Fuente [19]

Tipo de Fermentador	Almendras Fermentadas (%)
Cajón Cuadrado	65.41
Cajón Rectangular	54.47

En la Tabla 37 se puede observar que a mayor tiempo de fermentación se encuentran más almendras fermentadas, lo que es lógico ya que se van desarrollando mayor cantidad de ácidos que fermentan el grano cada vez en mayor cantidad.

Tabla 37. Resultados de almendras fermentadas al variar tiempo de fermentación. Fuente [19]

Tiempo de fermentación (horas)	Almendras Fermentadas (%)
24	30.94
48	49.50
72	65.75
96	68.56

1.6. Control de procesos de fermentación

Para controlar eficientemente el proceso de fermentación se requieren como objetivos primarios un adecuado control de la temperatura del lecho o también de controlar el nivel de agua en el lecho de acuerdo a una referencia previa. Como objetivo secundario se requiere minimizar las diferencias de temperatura al interior del lecho y hacer más compacto el lecho sólido. En la SSF se usan como acciones controlables: enfriamiento,

calentamiento, aireación, agitación, adición de líquidos, entre otros. Para la medición de la temperatura se pueden usar RTDs (resistance temperatura detectors), o termocuplas, las cuales suelen ser ubicadas en posiciones deseadas en el lecho.

La retroalimentación es un concepto clave del control. Consiste en usar la respuesta pasada del sistema para crear una respuesta correctiva con el objetivo de mejorar el rendimiento del sistema en presencia de incertidumbre (disturbios externos, desconocimiento del comportamiento completo del proceso y ruido externo). En sistemas complejos que poseen numerosas entradas y sensores es importante el control automático para llevar a cabo acciones correctivas continuamente o muy frecuentemente sin la intervención del control humano y de una manera más eficiente. [5] [32]

Se puede controlar la temperatura del lecho de distintas formas, entre las cuales destacan:

- Ingreso de flujo de aire frío.
- Adición de agua para enfriar el lecho.
- Agitación del lecho fermentativo: homogeniza la temperatura del lecho, pero puede deteriorarlo.

Para la elección de cual o cuales variables operativas con la finalidad de controlar la temperatura del lecho no es tan simple. Diversas estrategias de control han sido diseñadas y probadas desde el laboratorio a escala de producción industrial. Se tienen diferentes estrategias que se pueden usar individualmente o en conjunto como mecanismos de enfriamiento durante periodos de alta producción de calor metabólico:

- Enfriamiento por conducción: A través de superficies refrigeradas como paredes de reactor o placas internas.
- Enfriamiento por convección: Mediante aire forzado frío a través del lecho sólido.
- Enfriamiento por evaporación: Con un flujo forzado de aire parcialmente seco a través del lecho sólido.

El método más efectivo de controlar el lecho es el enfriamiento evaporativo. En esta estrategia de control, se manipula la humedad relativa del aire ingresante de forma que la velocidad evaporación de vapor en el lecho puede ser regulada. De esta manera se puede incrementar considerablemente la velocidad de calor removido. En este método la velocidad de evaporación y de enfriamiento son determinados por la humedad del aire

parcialmente saturado que es forzado dentro del lecho sólido. La respuesta dinámica del proceso y la configuración de control puede ser complicarse cuando el enfriamiento por evaporación es usado a larga escala. Esta estrategia ha sido probada con éxito en biorreactores de tambor rotatorio. [32]

El control del nivel de agua en el lecho es menos complicado, sin embargo, reduce la efectividad del control del biorreactor. Por otro lado, el contenido de líquido en el lecho también se puede controlar mediante la manipulación de la temperatura del aire en el ambiente. Lamentablemente el escalamiento a nivel de una planta piloto es de alta complejidad, por otro lado, en laboratorios se han probado con éxito.

El control On/Off realiza un adecuado enfriamiento mediante conducción en biorreactores de menor tamaño. Para biorreactores a escala industrial o piloto se suele usar control PID o MPC (Model Based Control). El MPC puede ser diseñado para varias variables manipulables y controlada, mediante esta estrategia de control, es posible operar sin supervisión por prolongados periodos, sin embargo, su implementación es compleja y demanda tiempo.

Usualmente estos mecanismos son acompañados de una agitación del lecho que puede ser continua o periódica. Esta es una alternativa para lidiar con la remoción del calor metabólico ya que podrá afectar a los microorganismos de una manera negativa. Las ventajas de este método es que reduce los gradientes de temperatura, homogeniza el lecho sólido y disminuye su compacidad, pero esta técnica es insuficiente para enfriar lechos sólidos a partir de 2 m^3 durante la fase de producción máxima de calor [26].

Para un efectivo enfriamiento por conducción en biorreactores SSF en larga escala puede requerir una agitación excesiva, que puede degradar el desarrollo del proceso debido a una lenta velocidad de crecimiento de la biomasa. En estos casos el enfriamiento por convección es una gran ayuda en estos casos, ya que se reduce la frecuencia, intensidad y duración de los intervalos de mezclado. La temperatura del lecho puede ser controlada solamente por enfriamiento por convección, pero esto es restringida a alturas pequeñas del lecho (menores a 40 cm). [5]

El enfriamiento mediante conducción junto con convección no es capaz de remover más del 50% del calor metabólico en diversos tipos de biorreactores SSF a larga escala. El 50% restante puede ser removido de otras formas. La complejidad radica en que se da una interacción en el lazo, es decir, que la manipulación de la temperatura o humedad del aire ingresante afecta a la temperatura del lecho y a su humedad. En estos casos no es posible controlar solamente mediante algoritmos PID. De igual manera el sistema tiene un retardo en el tiempo que puede ocasionar serias dificultades en la sintonización del PID. La respuesta dinámica del sistema es no lineal, es decir que al sintonizar el PID, su efectividad será por corto tiempo. Por tal manera el control MPC tiene más posibilidades de lograr un rendimiento óptimo del biorreactor. [5]

Como se mencionó anteriormente, el contenido de agua en el lecho es también de fundamental importancia para el rendimiento del biorreactor. Un exceso de agua puede causar una reducción en la velocidad de crecimiento debido a la baja concentración de oxígeno a través de la masa fermentativa. Por otro lado, la falta de agua disponible puede limitar el crecimiento de los microorganismos, es decir que el crecimiento microbiano es limitado por bajas humedad). Si se utiliza enfriamiento por evaporación para controlar la temperatura, podría ocurrir un excesivo secado del lecho, a pesar que se ingrese aire saturado ocurrirá un grado de secado en el lecho. Por esta razón es importante controlar el nivel de humedad en biorreactores a larga escala. [32]

La mayor parte de biorreactores SSF, requerirán la adición periódica de agua fresca junto agitación para evitar el sobre secado del lecho. Por lo tanto, el control es usualmente llevado a cabo manualmente, debido al alto costo y baja rentabilidad que presenta el uso de sensores en línea para medir el contenido de agua en el sustrato, hacen que sea de difícil implementación un lazo de control automático para esta variable. Si la velocidad de evaporación es alta, es recomendable utilizar un balance dinámico de agua para obtener una estimación en línea del contenido de agua, de esta manera se sabrá el momento adecuado para adicionar agua en el lecho.

El control de las concentraciones de CO₂ y O₂ en los gases de salida es también prioritario. Se ha observado que el crecimiento homogéneo en lechos estáticos depende de la aireación del éste. Por otro lado, altas tasas de aireación son costosas y causan excesivo secado del lecho. En consecuencia, una óptima aireación se puede llevar a cabo

estableciendo una regulación de la concentración de CO₂ o del O₂ en el gas de salida. Esta regulación es simple y se pueden obtener buenos resultados cambiando entre diferentes velocidades de aireación o mediante el uso de control PID junto con una válvula modulada o un aireador de velocidad variable. [32]

Finalmente, si es requerido un control de nutrientes controlado o del nivel de pH en el lecho sólido, se pueden aplicar los nutrientes requeridos o las soluciones ácidas/base directamente sobre el lecho sólido o en el flujo de aire ingresante. Esto se logra normalmente mediante el control on/off. En el caso del pH, está la cuestión de cuan rentable es la medición en línea usando sondas de pH diseñadas para biorreactores SLF. Los cambios de pH son típicamente lentos, se requiere tomar una muestra del lecho y homogeneizar en agua destilada para determinar el pH, con la finalidad de tomar una decisión sobre si implementar una acción de control o no. [5]

En el desarrollo de una estrategia adecuada de control se puede tener como variables observables en línea: la temperatura del lecho sólido en distintas partes del fermentador, a la salida y entrada de aire, la humedad relativa del aire entrante, la concentración de dióxido de carbono en el aire de salida y la pérdida de presión del aire. Por otro lado, se puede tener como variables manipulables: Entrada de aire controlada por calentadores eléctricos (on/off), entrada de aire frío (on/off), velocidad de agitación del lecho, adición de flujo de agua (on/off), ingreso de vapor (on/off), entre otros. [5]

Tabla 38. Variables medibles usualmente utilizadas para control de procesos fermentativos. Fuente [5].

Variable	Instrumento	Sistema de medición
Temperatura de entrada y salida del aire ingresante	Termocuplas Tipo K.	En línea
Humedad relativa del aire ingresante	Vaisala HMP 122B. (absorción de agua en una capa delgada de polímero).	En línea
pH del lecho sólido	Schott pH-metro	En línea
Contenido de agua en el lecho sólido	Escala IR Precisa	Fuera de línea

Concentración en flujo de CO ₂ de salida	Analizador IR (Horiba PIR 2000)	En línea
Concentración en flujo de O ₂ de salida	Transmisor SMC (dispositivo electroquímico)	En línea
Velocidad del aire de ingreso	Dwyer Inst. 640-0 (Sensor de tubo caliente)	En línea
Temperatura del lecho sólido	Termocuplas Tipo K.	En línea

Tabla 39. Variables manipulables usualmente utilizadas. Fuente [5].

Variable	Actuador	Tipo de control
Temperatura del aire de ingreso	Calentador eléctrico (6kW) Enfriamiento con paletas (6.6 kW)	On/Off
Velocidad del aire	Disco inversor Hitachi (50 a 500 m ³ h ⁻¹)	Continuo
Adición de vapor	Válvula solenoide+caldera	On/Off
Rotación del lecho	Motor eléctrico con frecuencia variable (3 a 15 rpm)	On/Off
Mezclado del lecho	Disco inversor ABB CDS 150	On/Off
Adición de agua fresca	Bomba peristáltica Millipore	On/Off
Caída de presión a lo largo del lecho	Modus Inst. T30 (Diagrama de deflexión)	Continuo

Tabla 40. Estrategias de control aplicadas usualmente utilizadas. Fuente [5].

Variables controladas	Variables manipulables	Tipo de control	Algoritmo de control
Contenido de agua	Adición de agua fresca	Manual	Balance de agua

en el lecho	más agitación		más experiencia del operador
Porosidad del lecho y homogeneidad	Agitación	Semi-automático	Experiencia del operador
Temperatura del aire ingresante	Calentador/Enfriador	Automático	On-Off
Humedad del aire relativo ingresante	Adición de vapor	Automático	On-Off
Temperatura del lecho	Temperatura de ingreso de aire y humedad relativa	Semi-automático	PID más la experiencia del operador
Velocidad del flujo ingresante	Velocidad de secador de aire	Automático	PID

Como un caso de ejemplo se tienen esquemas de lazos de control implementados en la Universidad Católica de Chile [5] para la producción de ácido giberélico a partir del hongo *Gibberella fujikuroi*. El control de este hongo es complicado debido a su comportamiento en temperaturas superiores a 36°C.

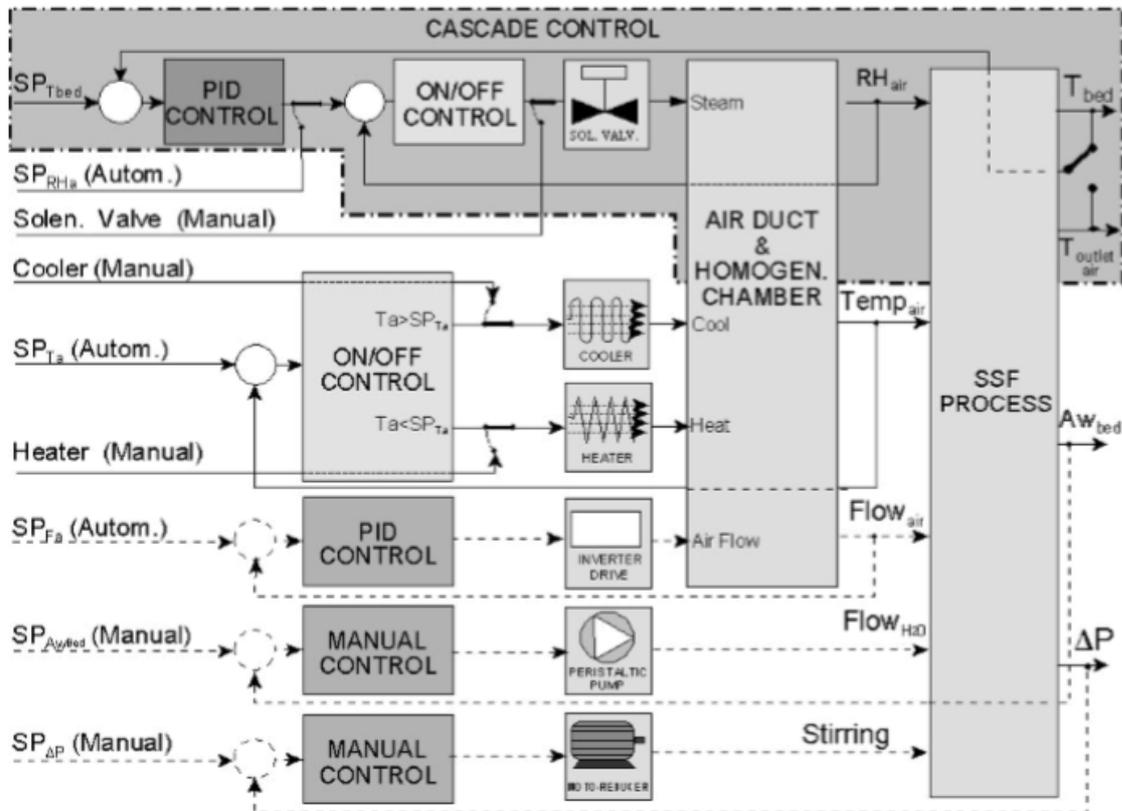


Figura 18. Esquema de lazos de control convencionales implementados en biorreactores de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Fuente [5].

En el esquema de la Figura 38 se observa lo siguiente:

- Objetivo primario del sistema de control: Regular la temperatura promedio del lecho sólido a un valor fijo y controlar el contenido de agua del este (de acuerdo a un setpoint variable).
- Objetivo secundario del sistema de control: Minimizar los gradientes de temperatura dentro del lecho y también prevenir que el lecho se vuelva demasiado compacto.
- El control de la temperatura está basado en el enfriamiento evaporativo mediante la manipulación de la humedad relativa de la entrada de aire y el mantenimiento de su temperatura a un valor bajo.
- La velocidad del flujo de aire ingresante se manipula manualmente y se inicia la agitación, durante el periodo de alta generación de calor para evitar el sobrecalentamiento del lecho.
- La temperatura promedio del lecho está controlada por un PID, con una entrada de aire húmedo.

- Se controla mediante un algoritmo On/Off, la banda muerta y la histéresis, con una válvula solenoide que ingresa vapor y por un enfriador o calentador.

En otra aplicación de estrategias de control [24] se ha documentado un control de la temperatura del lecho mediante enfriamiento mediante evaporación mediante la manipulación de la humedad relativa del aire ingresante y manteniendo la temperatura del aire entrante a valores bajos. El contenido de agua en el lecho es controlado mediante una adición periódica de agua fresca. Cuando el agua es ingresada, el lecho es agitado para favorecer un correcto mezclado y reducir las diferencias de temperatura dentro del lecho.

Los lazos de control que manejan la estrategia de control son descritos a continuación:

- Temperatura del aire ingresante: Es manipulado mediante un sistema de refrigeración y calentamiento. Se utiliza un algoritmo de control automático On/Off con histéresis. La banda muerta puede ser ajustada para distribuir uniformemente la temperatura del aire alrededor de un valor de referencia.
- Humedad relativa del aire ingresante: El vapor es inyectado mediante un flujo de aire ingresante mediante una válvula de solenoide con un algoritmo de control automático on/off.
- Temperatura de lecho: El valor de referencia de la humedad relativa del aire ingresante es manipulado, y la temperatura en el centro del lecho es medida. Un algoritmo de estructura de control en cascada es utilizado con un PID. Es necesario para el cambio manual del valor de referencia de la temperatura de la entrada del aire durante la generación del calor.
- Contenido de agua en el lecho: agua fresca es adicionada periódicamente basada en mediciones del lecho seco.
- Compacidad del lecho: Es controlada manualmente mediante agitaciones periódicas definidas por pérdidas de presión en las mediciones y la experiencia del operador.

Capítulo 2.

Modelación matemática del proceso de fermentación del cacao

2.1. Análisis por componentes principales

El análisis por componentes principales es una técnica estadística que aborda un problema central en el análisis de datos multivariantes. Permite la reducción de dimensión (número de variables) de un conjunto de datos de un número considerable de variables o síntesis de información, con la finalidad de tener un menor número de variables sin perder demasiada información y también permite transformar el sistema de variables originales correlacionadas, en nuevas variables incorreladas, lo que facilita la interpretación de los datos. Se puede utilizar de manera intuitiva para hallar la variabilidad de un conjunto de datos y ordenarlos de acuerdo a su importancia de manera global.

Dada n observaciones de p variables, se procede a realizar si es posible la representación adecuada de la información entregada por las observaciones a partir de un número menor de variables construidas en forma de combinaciones lineales de las originales. Esta técnica tiene como principales formuladores a Hotelling (1933) y a los ajustes ortogonales por mínimos cuadrados de Karl Pearson (1901). [12]

Durante la fermentación del cacao y el secado se producen una amplia variedad de componentes volátiles en el proceso de fermentación y secado, esto se puede apreciar en los identificados en la tabla siguiente.

Group	Retention time (min)	Compound	Odor quality ^a
Aldehydes and ketones	6.54	2-methyl-1-propanal	Malty, chocolate
	8.03	Pentanal	Almond, malt, pungent
	9.07	2,3-butanedione	Butter
	9.51	2-pentanone	Fruit
	14.89	Acetoin	Butter, cream
	20.25	Phenyl acetaldehyde	Honey, flowery, sweet
Alcohols	20.51	Acetophenone	Must, flower, almond, sweet
	20.56	Phenylmethyl ketone	
	10.14	1-propanol	Pungent, sweet candy
	11.41	2-methyl-1-propanol	Wine
	11.75	3-methyl-2-butanol	
	11.93	2-pentanol	Green, mild green
	18.31	3-methyl-1-butanol	Malty, bitter, chocolate
	18.43	2,3-Butanediol	
	18.84	1,3-Butanediol	
	22.38	Benzyl alcohol	Sweet, flower
Esters	22.95	Phenylethyl alcohol	Honey, spice, rose, lilac, flowery, caramel
	6.74	Methyl acetate	
	7.43	Ethyl acetate	Pineapple
	9.67	Isobutyl acetate	Fruit, apple, banana
	10.65	3-methyl-2-butanol acetate	
	10.82	2-phenylacetate	
	11.87	3-methyl-1-butanol acetate	
	15.63	Ethyl lactate	Fruit
	21.82	Ethylphenyl acetate	Fruit, sweet, honey
	21.98	2-phenylethyl acetate	Rose, honey, tobacco, flowery
Acids	22.15	Ethyl laurate	Leaf, fruity, floral
	28.45	Ethyl palmitate	Waxy, mild green
	16.92	Acetic acid	Sour, astringent, vinegar
	18.26	Propanoic acid	Pungent, rancid, soy
	18.50	Isobutyric acid	Rancid, butter, cheese, hammy
	19.4	Butanoic acid	Rancid, cheese, sweat
	19.75	Isovaleric acid	Sweat, acid, rancid
	21.75	Hexanoic acid	Sweat, pungent, sickening, rancid, sour
	24.40	Octanoic acid	Sweat, cheese, oily, fatty
	25.97	Nonanoic acid	Green, fat
Pyrazines	34.43	Dodecanoic acid	Metal
	37.87	Benzenacetic acid	
	18.14	Tetramethylpyrazine	Milk-coffee, roasted, chocolate

^a Flavor notes reported.

^b Obtained of literature.

Figura 19. Componentes volátiles identificados durante el proceso de fermentación y secado, por cromatografía gaseosa utilizando espectrometría másica en cacao mexicano.

Fuente [12].

La composición del cacao al finalizar la fermentación y el secado se puede observar en la Tabla 42. El cotiledón o pulpa del cacao es un medio ideal para el crecimiento de microorganismos. Antes de la fermentación presenta entre 82-87% de agua, 10-15% de azúcares (de este 60% es sacarosa y 39% es una mezcla entre fructosa y glucosa [22]), 2-3% de pentosas, 1-3% ácido cítrico y 1-1.5% de pectinas [23]. La acidez inicial de la pulpa se debe al ácido cítrico junto con bajos niveles de oxígeno.

Tabla 41. Composición química para el cacao fermentado y seco. Fuente [24].

Componentes	Fermentado y seco (%)	Cáscara (%)	Germen o Radícula (%)
Agua	5,00	4,50	8,50
Grasa	54,00	1,50	3,50
Cafeína	0,20		
Teobromina	1,20	1,40	
Polihidroxifenoles	6,00		
Proteína bruta	11,50	1,90	25,10
Mono- oligosacáridos	1,00	0,10	2,30
Almidón	6,00		
Pentosanos	1,50	7,00	
Celulosa	9,00	26,50	4,30
Ácidos carboxílicos	1,50		
otras sustancias	0,50		
Cenizas	2,60	8,00	6,30

El contenido de grasas en los granos tiende a descender (de 50-55% en granos no fermentados a 48-52%) luego de la fermentación, mientras que en el licor del cacao las grasas representan un contenido del 50-58% [24]. El contenido de polifenoles disminuye por hidrólisis, polimerizaciones, entre otros, disminuyendo la astringencia y el sabor amargo del cacao. Con respecto a ácidos como el acético, cítrico, láctico, el contenido varía de distinta manera dependiendo de la etapa del proceso, siendo el predominante al finalizar la fermentación el ácido acético.

Debido a la numerosa cantidad de compuestos volátiles surgidos durante la fermentación, se ha usado frecuentemente el análisis por componentes principales. El análisis por componentes principales es un método estadístico para datos métricos que nos permite interrelacionar variables de un banco de datos a uno número menor de éstas, perdiendo la menor cantidad de información posible.

En [12] se obtuvieron los componentes volátiles que afectan más a la fermentación, eligiendo variables influyen como la acidez, cambios en el pH y en la concentración de ácido láctico y acético. Se encontró que con dos componentes principales (PC1 Y PC2) se puede explicar el 61% de la varianza, en la Figura 15 se puede apreciar PC1 Y PC2 graficados. En PC1 tienen mayor peso el acetato de metilo, acetoina, 2,3-butanodiol, acetato feniletílico, 3-metil-1-butanol acetato y los ácidos succínico, láctico y málico, mientras que los que tienen menor peso fueron la sacarosa, los ácidos cítricos, oxálico, dodecanoico, el alcohol 2-pentanol, fenilacetaldeído y el valor del pH. De los anteriores, los que poseen una mayor concentración durante la fermentación fueron el acetato de

metilo, acetoína, ácido láctico y 2,3-butanodiol. Mientras que en PC2 los más positivos (mayor peso) fueron los ácidos isobutírico, isovalético y propanoico, y los menores fueron el lactato etílico, ácido nonanoico, acetato etílico, 3-metil-1-butanol y 2,3 butanodiol

Se tienen como componentes principales a PC1 y PC2, los cuales tienen una varianza del 38.8% y 22.2% del proceso de fermentación. Se incluyó en el análisis, valores de pH, acidez titulable, azúcares, ácidos volátiles y no volátiles, entre otros. Se encontraron como resultados que el proceso de fermentación se puede dividir en cuatro grupos para PC1, en su lado positivo se ubicaban los compuestos que tienen alta concentración en la mitad de la fermentación (del tercer al quinto día), mientras que en el lado negativo se hallaron los que tienen alta concentración en los primeros días de la fermentación (durante la retención hasta el primer día). Por otro lado, para PC2, en el eje positivo se tienen a los compuestos más abundantes los últimos días de la fermentación (del sexto al octavo día), mientras que en el lado negativo se tienen a los compuestos característicos durante el segundo día.

La oxidación del 3-metil-1-butanol en acetato de 3-metil-1-butanol puede ser utilizada para evaluar el grado de fermentación, se encontró que el periodo más crítico de la fermentación es durante el tercer día de la fermentación, cuando se lleva a cabo el incremento de ácido acético y ácido láctico. El ácido acético y el ácido isobutírico gracias a sus altos niveles y sus bajos valores límites, pueden también ser medidos para determinar la calidad del secado.

De estos análisis se puede deducir que para cada etapa de la fermentación se hallan compuestos característicos que pueden ser tomados en cuenta para determinar la manera en que la fermentación se está realizando, como la sacarosa en los primeros días de fermentación, el ácido láctico y el acético, así como la glucosa en el transcurso de la fermentación.

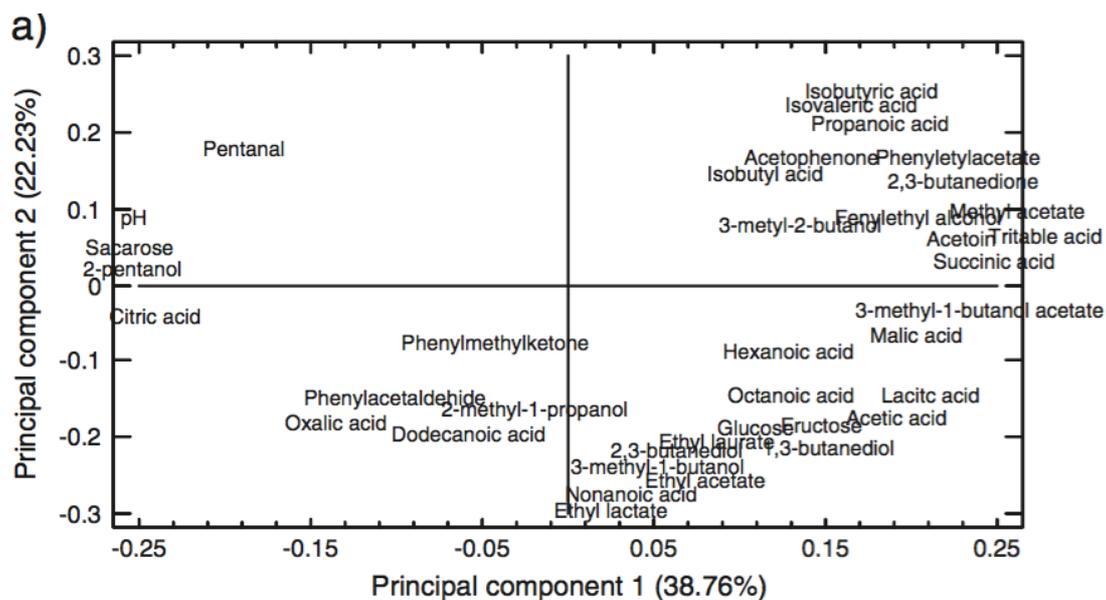


Figura 20. Principales componentes (PC1 Y PC2) para pH, azúcares, ácidos, entre otros.

Fuente [12].

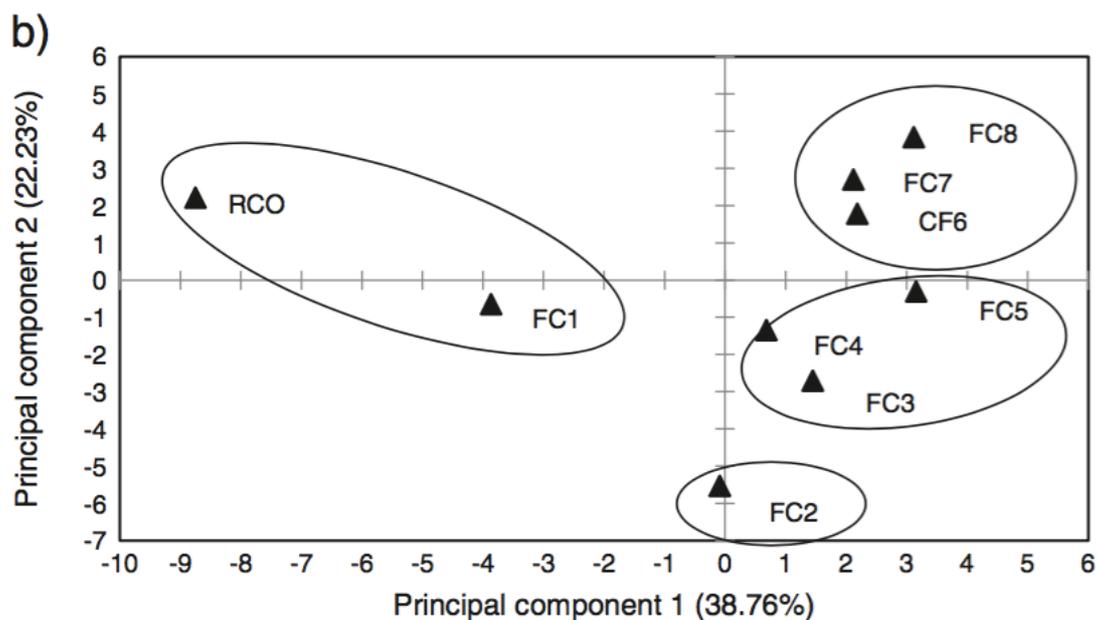


Figura 21. Principales componentes (PC1 Y PC2) para pH, azúcares, ácidos, entre otros.

Fuente [12].

2.2. Cinética de las reacciones químicas ocurridas durante la fermentación del cacao

A lo largo de la fermentación se sigue una sucesión microbiana como se puede observar en la Figura 22. Al inicio del proceso se desarrollan levaduras, luego bacterias lácticas,

acéticas, bacterias formadoras de esporas aerobias. Cada etapa tiene un tipo de microorganismo predominante que produce compuestos volátiles y no volátiles.

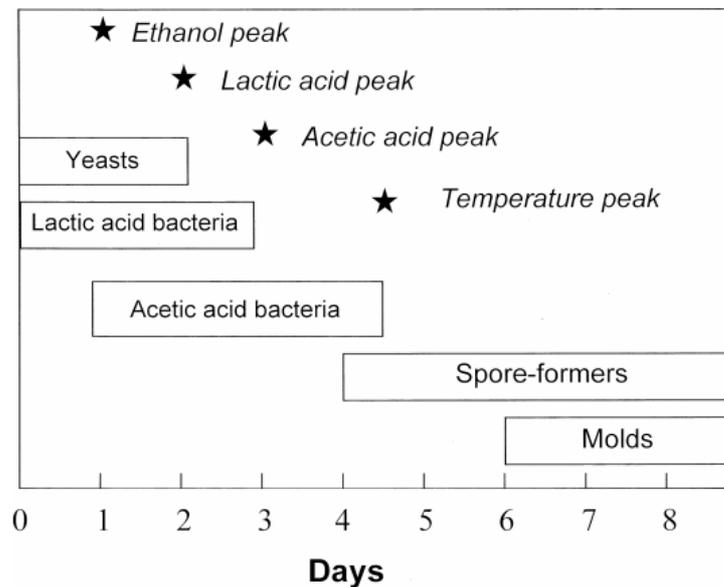


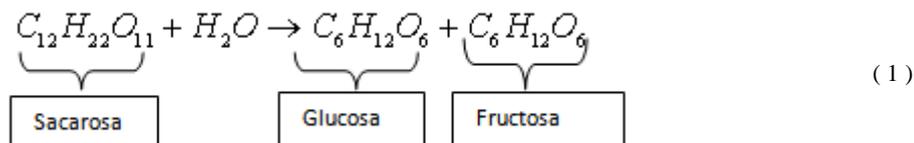
Figura 22. Sucesión microbiológica y los principales compuestos a lo largo de los días de fermentación. Fuente [9].

Brazil ²²	Ghana ³²	Malaysia ³²	Belize ¹⁰⁰
<i>Candida bombi</i> , <i>Candida pelliculosa</i> , <i>Candida rugopelliculosa</i> , <i>Candida rugosa</i> , <i>Kloeckera apiculata</i> , <i>Khuyveromyces marxianus</i> , <i>Khuyveromyces thermotolerans</i> , <i>Lodderomyces elongisporus</i> , <i>Pichia fermentans</i> , <i>S. cerevisiae</i> var. <i>chevalieri</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Torulopsis pretoriensis</i>	<i>Candida</i> spp., <i>Hansenula</i> spp., <i>Kloeckera</i> spp., <i>Pichia</i> spp., <i>Saccharomyces</i> spp., <i>Saccharomycopsis</i> spp., <i>Schizosaccharomyces</i> spp., <i>Torulopsis</i> spp.	<i>Candida</i> spp., <i>Debaryomyces</i> spp., <i>Hanseniaspora</i> spp., <i>Hansenula</i> spp., <i>Kloeckera</i> spp., <i>Rhodotorula</i> spp., <i>Saccharomyces</i> spp., <i>Torulopsis</i> spp.	<i>Brettanomyces clausenii</i> , <i>Candida</i> spp., <i>C. boidinii</i> , <i>C. cacaoi</i> , <i>C. guilliermondii</i> , <i>C. intermedia</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. reukauffii</i> , <i>Kloeckera apis</i> , <i>Pichia membranaefaciens</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Saccharomyces chevalieri</i> , <i>Saccharomycopsis</i> spp., <i>Schizosaccharomyces malidevorans</i> , <i>Schizosaccharomyces</i> spp.

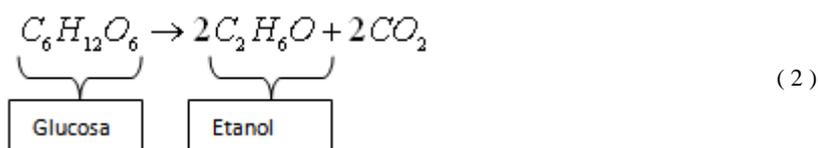
Figura 23. Principales especies de levaduras aisladas de fermentaciones de cacao. Fuente [9].

Como se indicó previamente, las levaduras producen alcohol degradando sacarosa, primero invirtiendo esta en azúcares residuales como glucosa y sacarosa. En diversos estudios llevados a cabo en distintas zonas productoras de cacao se han encontrado las especies de levaduras observadas en la Figura 23. Las levaduras causan la inversión de la sacarosa, produciendo glucosa y sacarosa, para posteriormente ayudar en la producción de etanol, CO₂ y enzimas pectinolíticas (Ecuación (1)). De igual manera descompone el ácido cítrico incrementando el pH, produce más ácidos orgánicos como acético, oxálico, fosfórico y málico en menores proporciones, y otros ácidos volátiles (alcoholes, ácidos grasos, ésteres, entre otros). La variedad de levadura más dominante durante la fermentación fue la *Saccharomyces cerevisiae*. La concentración de levaduras disminuye a medida que

aumenta la producción de alcoholes, debido a la intolerancia por parte de las levaduras al alcohol.

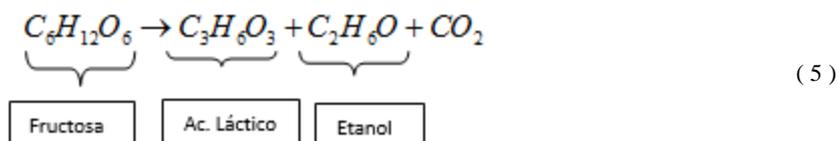
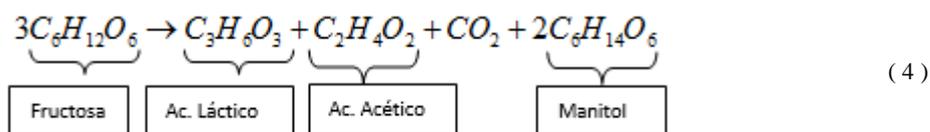


Luego de que se eleva la concentración de glucosa en el mucílago, se inicia el glucolisis, la cual es parte de la fermentación alcohólica y proporciona energía a los microorganismos en medio anaeróbicos [26], produciéndose etanol y dióxido de carbono [25] [26] por la vía Embden-Meyerhof como se observa en la Ecuación (2).



Durante la fase anaerobia se desarrollan también las bacterias lácticas (observar Tabla 42), metabolizan azúcares residuales y ácidos para producir ácido láctico, acético, alcoholes, entre otros. Hay dos tipos de bacterias lácticas: homolácticas y heterolácticas. Las primeras emplean la vía Embden-Meyerhof para fermentar glucosa y fructosa y producir ácido láctico si es en ausencia de oxígeno, si ese no es el caso se formará ácido pirúvico [26] (Ecuación (3)). Las heterolácticas usan la vía hexosas monofosfato para metabolizar glucosa y fructosa, y así producir dióxido de carbono, etanol, ácido láctico, ácido acético y glicerol [29] como se observa en la Ecuación (4) y que se da generalmente con la especie *Lactobacillus brevis*. La bacteria *Lactobacillus Plantarum* posee las enzimas necesarias para realizar las dos vías fermentativas, siguiendo el modelo heterofermentativo se da la reacción presente en la Ecuación (5) [26]. Se ha encontrado que las bacterias *Lactobacillus plantarum* y/o *Lactobacillus fermentum* dominan generalmente la fermentación al inicio produciendo ácido acético, ácido láctico y manitol, lo que incrementa el pH del mucílago [27].





La metabolización del ácido cítrico es también realizada por bacterias lácticas (principalmente por *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus fermentum* [27]), convirtiéndolo principalmente en ácido láctico como se puede observar en la Ecuación (6). Otras investigaciones sugieren que el ácido cítrico es convertido en ácido acético y dióxido de carbono solamente [27].

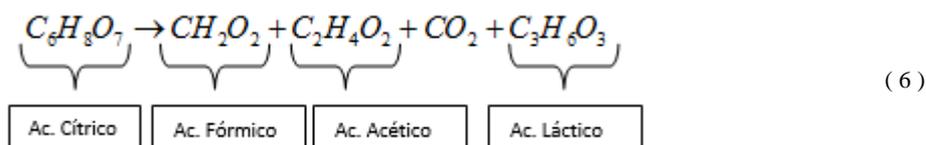


Tabla 42. Principales especies de bacterias lácticas aisladas de diferentes fermentaciones de cacao. Fuente [9].

Brazil ²⁹	Ghana ³²	Malaysia ³²	Belize ¹⁰⁰
<i>Lactobacillus. Acidophilus, Lb. brevis, Lb. casei, Lb. Delbrueckii, Lb. fermentum</i>	<i>Lb. collinoides</i>	<i>Lb. collinoides, Lb. plantarum</i>	<i>Lb. brevis, Lb. buchneri, Lb. casei, Lb. Casei pseudoplatarum, Lb. cellobiosus, Lb. delbrueckii, Lb. fermentum, Lb. fructivorans, Lb. gasserii, Lb. kandleri, Lb. plantarum, Leuconostoc mesenteroides, Ln. oenos, Ln. paramesenteroides</i>
<i>Lb. Lactis, Lb. Plantarum</i>	<i>Lb. mali</i>		
<i>Lactococcus lactis, Leuconostoc mesenteroides, Pediococcus acidilactici, P. dextrinicus</i>	<i>Lb. plantarum</i>		

Las bacterias acéticas (ver Tabla 43) descomponen alcoholes, disminuyendo el contenido de estos en la masa fermentativa, lo que a veces puede ser perjudicial en algunas fermentaciones de licores, como la malta. En la Ecuación (7) se aprecia la formación de ácido acético y agua a partir de etanol, la cual tiene una serie de pasos intermedios (deshidrogenación del etanol a acetaldehído, formación de hidratos, entre otros) [26], lo que indica que la cinética que esta ecuación probablemente no sea elemental. La Ecuación (7) es exotérmica (puede elevar la temperatura hasta 50°C [9]) y representa un aporte importante a la acidez del cacao [9], otra bibliografía indica que el ácido más importante es el ácido láctico ya que da lugar a valores de pH inferiores [28]. Otras fuentes bibliográficas [12] indican que el etanol se descompone en ácido acético y acetato etílico. Durante la fase aeróbica, el *Acetobacter pasteurianus* era la especie de bacteria acética predominante

durante la fermentación, oxidando el etanol producido por las levaduras en ácido acético [27].

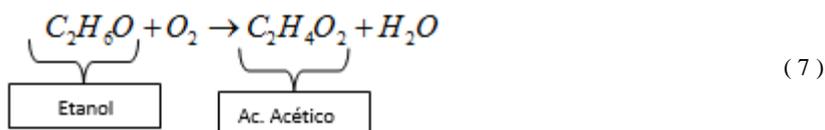
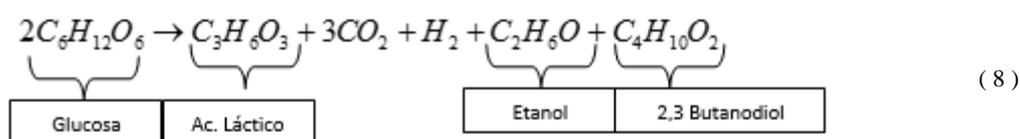


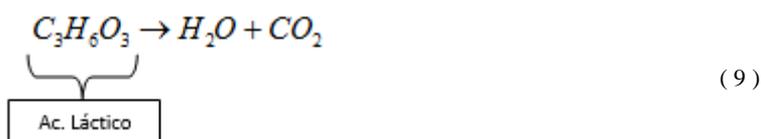
Tabla 43. Principales especies de bacterias acéticas aisladas de distintas fermentaciones de cacao. Fuente [9].

Brazil ³¹	Ghana ³²	Malaysia ³²	Belize ¹⁰⁰
<i>Acetobacter aceti</i> subsp. <i>liquefaciens</i> , <i>A. pasteurianus</i> , <i>A. peroxydans</i> , <i>Gluconobacter oxydans</i> subsp. <i>suboxydans</i>	<i>Acetobacter ascendens</i> , <i>A. rancens</i> , <i>A. xylinum</i> , <i>Gluconobacter oxydans</i>	<i>Acetobacter lovaniensis</i> , <i>A. rancens</i> , <i>A. xylinum</i> , <i>Gluconobacter oxydans</i>	<i>Acetobacter</i> spp., <i>Gluconobacter oxydans</i>

Las bacterias formadoras de esporas aerobias se forman en presencia de oxígeno (fase aerobia) y durante los últimos días de la fermentación. Pueden ser los bacilos: *B.stearothermophilus*, *B.coagulans* y la *B.circulans*, o las aeromonas. Durante la fermentación pueden formar una variedad de compuestos volátiles (Ecuación (8)) como ácido acético y láctico, 2-3 Butanodiol, pirazinas, entre otros. Los cuales deterioran el sabor del chocolate [27].



Finalmente, también el ácido láctico es descompuesto en agua y dióxido de carbono, como resultado del proceso fermentativo.



2.3. Balance de masa en proceso de fermentación del cacao

Un biorreactor puede usarse para desarrollar diversos productos por medio de fermentación en un proceso que puede ser monitoreado y controlado de manera adecuada,

para de esta manera obtener productos de una calidad adecuada. Para el caso de la fermentación en estado sólido (que se lleva a cabo para la fermentación del cacao), se llevan a cabo diversas reacciones químicas que ocurren simultáneamente. Las reacciones químicas pueden ser de dos tipos:

- Reacciones de crecimiento microbiano: Consisten en modelar el crecimiento de microorganismos o generación de producto que proviene del consumo de sustrato o nutrientes adecuados para su desarrollo. La masa de microorganismos en el biorreactor se le suele denominar biomasa.
- Reacciones de catálisis enzimática: El sustrato se transforma en productos mediante la acción de enzimas catalíticas, las cuales son proteínas producidas por microorganismos vivos. Este tipo de reacciones puede ser: enzimas extracelulares secretadas al medio, o enzimas intracelulares que permanecen en la célula de tal manera que la biomasa opera como un catalizador.

Las reacciones que ocurren en un proceso de fermentación, como se vio previamente, se definen mediante modelos matemáticos, los cuales son realmente importantes para el diseño, optimización, monitorización y control de sistemas químicos y bioquímicos. El modelamiento de los biorreactores posee problemas inherentes al proceso químico, como la complejidad del metabolismo celular, la cual está determinada por factores como la cantidad de conocimiento del comportamiento del proceso, los datos requeridos para la construcción del modelo y la validación de este, los requerimientos de simulación del proceso y el rango de situaciones en los que se puede usar el modelo planteado.

Un modelo se puede definir según niveles de descripción de la fase biótica, estos pueden ser a nivel fisiológico o a nivel poblacional. A nivel fisiológico se tienen:

- Modelo estructurado: Expresa la fisiología del proceso de crecimiento biológico de forma descriptiva debido a la complejidad del proceso.
- Modelo no estructurado: Describe las características de crecimiento respecto a la concentración de una o más sustancias y su transformación en otras (compuestos volátiles y productos).

Mientras que a nivel poblacional se tienen:

- Modelo segregado: Se define la población por alguna característica por la que permita ser diferenciado, considerándose la estructura poblacional de los microorganismos.
- Modelo no segregado: Se suele asumir que el estado fisiológico es igual para todos los microorganismos.

Por motivos prácticos, en el control y sus aplicaciones, se suelen usar modelos no estructurados-no segregados debido a la sencillez de su formulación. Para la modelación de estos sistemas de reacciones, se suelen realizar balances de masa y energía, los cuales poseen la siguiente estructura característica.

$$\frac{dx_j}{dt} = \sum_{i=1}^{nr} k_{ij} r_i + \frac{F_j}{V}, \quad j = 1, \dots, nc \quad (10)$$

La Ecuación 10 describe la evolución temporal de las concentraciones (\mathbf{x}_j) involucradas en las reacciones, de nc componentes para cada reacción. Cada concentración varía de acuerdo a los flujos entrantes que operan como alimentaciones F_j y a las nr reacciones r_i que ocurren dentro de la biomasa o sustancias, las cuales son ponderadas por coeficientes estequiométricos k_{ij} . Las distintas tasas de reacción dependen de las concentraciones del sustrato y microorganismos. Se han realizado numerosas investigaciones al respecto de los modelos de reacción, las cuales se muestran en la Tabla 44, la cual no muestra ecuaciones estequiométricas estrictamente hablando, sino que suelen observarse las ecuaciones dependiendo de las concentraciones de compuestos de interés en el estudio realizado.

Tabla 44. Modelos de reacción. Fuente: [30]

1	$x_1^{a_1}$	9	$\frac{a_2 x_1 x_3}{(a_1 + x_1)(a_2 + x_2)}$
2	$x_1 x_2$	10	$\frac{a_2 x_1 x_3 x_4}{(a_1 + x_1)(a_2 + x_2)(a_4 + x_4)}$
3	$x_1^{a_1} x_2^{a_2}$	11	$\frac{x_1 x_2 x_3}{(a_1 + x_1)(a_3 + x_3)}$
4	$x_1^{a_1} x_2^{a_2} x_3^{a_3}$	12	$\frac{x_1 x_2 x_3}{a_1 + x_1}$
5	$\frac{x_1^{a_1} x_2^{a_2}}{1 + a_3 x_1^{a_4}}$	13	$\frac{a_2 x_1 x_3 x_4}{(a_1 + x_1)(a_2 + x_2)}$
6	$\frac{x_1 x_2}{a_1 + x_1}$	14	$\frac{x_1 x_2}{a_1 + x_1 + a_2 x_2^3}$
7	$\frac{x_1 x_2}{a_1 + x_1 + a_2 x_2}$	15	$\frac{x_1 x_2}{a_1 x_1 + x_2}$
8	$\frac{x_1 x_2}{a_1 + x_1 + (x_1/a_2)^2}$	16	$a_1 x_2 + \frac{x_1 x_2}{a_2 + x_1}$

Se puede apreciar en la Tabla 44 que las ecuaciones del 6 al 16 suelen ser usadas en modelación de bioprocesos, siendo la 6 el modelo Haldane que se verá más adelante.

Para la correcta modelación, se tiene que tomar en cuenta las condiciones ambientales en las cuales transcurre el proceso, se deben tomar medidas indicadoras como de pH, oxígeno disuelto, oxígeno liberado, flujos de aire, flujos de sustancias para controlar el pH, velocidad de agitación, temperatura, Dióxido de Carbono, densidad óptica (*DO*), así como el control de la contaminación por el medio externo. Para los métodos de medición, se usan sensores como los observados en la Tabla 45.

Tabla 45. Métodos de medición. Fuente [33]

Variable	Método
Biomasa	Densidad óptica
Sustrato	Electrodo enzimático, microbial
Etanol	Tubing de teflón
Oxígeno Disuelto	Celdas galvánicas
Dióxido de carbono	Infrarrojo

Como se puede observar en la Tabla 45, se puede determinar el estado presente de las concentraciones de biomasa, sustrato y productos durante o al finalizar el proceso de fermentación mediante los métodos observados. Algunos ejemplos de usos de estas mediciones pueden ser:

Para modelo de fermentación de levaduras: Se mide la fracción parcial de oxígeno y del dióxido de carbono junto con la medida del flujo de entrada de aire, los cuales permiten determinar el consumo de oxígeno y la producción de dióxido de carbono. Mediante el uso de los parámetros mencionados anteriormente junto con la medida de la tasa de alimentación de glucosa, se puede estimar la tasa de producción de biomasa. [33]

2.3.1. Balances de masa en fermentadores de estado sólido

- Velocidad de reacción química

Toda reacción química no se lleva a cabo instantáneamente, sino que tiene una rapidez que depende de la constante velocidad de reacción y de los reactantes.

De la ecuación general para el balance de moles, se tiene:

$$F_{0j} - F_j + G_j = \frac{dN_j}{dt} \quad (11)$$

Dónde: F_{0j} =Flujo entrante en el sistema. F_j =Flujo saliente del sistema. G =generación de moles.

N_j =número de moles en el reactor.

$$G_j = \int r_j dV \quad (12)$$

Para r_j = Velocidad de formación de especies. V = Volumen.

Para un sistema cerrado y de tipo Batch:

$$F_{0j} = F_j = 0 \quad (13)$$

$$\frac{d(N_j/V)}{dt} = \frac{dC_j}{dt} = r_j = \text{Velocidad de formación de especies.} \quad (14)$$

Siendo C_j la concentración de alguna especie en moles/m^3 .

En la siguiente reacción: $aA + bB \rightarrow cC + dD$, la variación de las concentraciones de los compuestos A, B, C y D , las cuales cambian proporcionalmente, es la siguiente:

$$V = -\frac{1}{a} \frac{\Delta C_A}{\Delta t} = -\frac{1}{b} \frac{\Delta C_B}{\Delta t} = \frac{1}{c} \frac{\Delta C_C}{\Delta t} = \frac{1}{d} \frac{\Delta C_D}{\Delta t} \quad (15)$$

La velocidad de reacción puede ser expresada como: $V = kC_A^x C_B^y$.

La variación de la concentración del compuesto A si suponemos una reacción de primer orden global y de primer orden en A ($A \rightarrow B$) será:

$$-\frac{1}{a} \frac{\Delta C_A}{\Delta t} = kC_A = V \quad (16)$$

$$\lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{\Delta C_A}{\Delta t} = \frac{dC_A}{dt} = -akC_A \quad (17)$$

Estas ecuaciones nos servirán para hallar el modelo cinético químico.

- Constante de velocidad de reacción

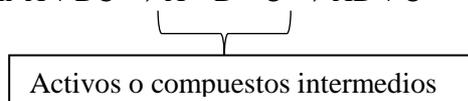
Esta constante suele denominarse k . Depende exclusivamente de la temperatura y de la energía de activación en una reacción química y puede ser hallada experimentalmente a lo largo de una reacción química.

Tiene las dimensiones $(\text{tiempo})^{-1}(\text{concentración})^{1-n}$, siendo n el orden de la reacción.

Depende de la energía de activación, la cual es la energía cinética de las moléculas de colisión, que pasa a ser la potencial. Cuando las moléculas pasan del ordenamiento del estado de transición a las moléculas del producto se libera energía. Si devuelve más energía al entorno, la energía del estado de transición, será una reacción exotérmica. La energía cinética se relaciona con la temperatura proporcionalmente. A mayor temperatura, las moléculas poseerán suficiente energía para reaccionar (E_a). Si la energía de transición es más alta, el proceso es más lento. Hay dos energías de activación: directa e inversa según sea la reacción. A una temperatura más elevada, más rápida es la reacción. En la reacción exotérmica inversa, la energía de activación es mayor.

Durante una reacción química, se dan interacciones energéticas y rápidas que producen compuestos intermedios de reacción en cadena hasta los productos finales. Si estos intermedios son identificados, se puede conocer la energía de activación para una reacción química.

Por ejemplo, en una reacción $A + BC \rightarrow A-B-C \rightarrow AB + C$



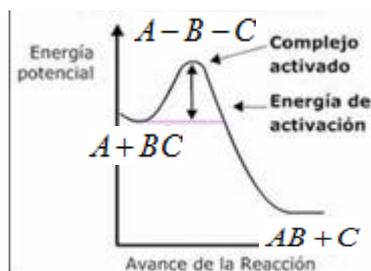


Figura 24. Ejemplo de energía de activación en una reacción exotérmica.

La energía de activación puede ser determinada experimentalmente llevando a cabo la reacción deseada a distinta temperatura. Cuanto mayor sea esta, la reacción será más sensible a los aumentos de temperatura.

La constante de reacción puede ser determinada por la fórmula:

$$k(t) = k(t_0) e^{\frac{E}{R} \left(\frac{1}{T_0} - \frac{1}{T} \right)} \quad (18)$$

O mediante la ecuación de Arrhenius relaciona k con la temperatura y de la energía de activación:

$$k(T) = A e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (19)$$

Dónde: $k(T)$ es la constante cinética (dependiente de la temperatura).

A es el factor pre exponencial o factor de frecuencia de las colisiones.

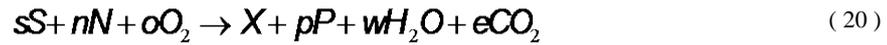
E_a o E es la energía de activación.

R es la constante universal de los gases.

T es la temperatura absoluta.

- Evaluación de balance másico en ecuaciones estequiométricas para crecimiento y formación de productos [31]

En las ecuaciones que involucran una actividad de microorganismos, estos pueden ser descritos cuantitativamente por coeficientes de rendimiento o *yield coefficients* expresados como la masa del producto formado por unidad de sustrato consumido, $Y_{X/S}$ y $Y_{P/S}$ para las células y el producto respectivamente. Con estos factores, se pueden formular los balances de masa para células, sustrato y productos. Si se considera la siguiente ecuación estequiométrica que considera crecimiento y producción. [31].



Donde S es la fuente de carbón, N es la fuente de oxígeno, X es la masa de células, P es el producto y s, n, o, p, w, e son coeficientes estequiométricos. Los coeficientes teóricos de rendimiento pueden ser determinados de la estequiometría si se conoce la fórmula química para S , N , X y P . El coeficiente de rendimiento para la masa celular y el producto serán respectivamente:

$$Y_{X/S} = \frac{M_X}{sM_S} \quad (21)$$

$$Y_{P/S} = \frac{pM_P}{sM_S} \quad (22)$$

Donde M_X , M_P y M_S son el peso molecular de células, producto y fuente de carbón. Usualmente los coeficientes estequiométricos son una medida de la masa de células o producto producido y del sustrato consumido. Para fermentadores batch, las ecuaciones de balance másico son:

$$\frac{dx}{dt} = \mu x \quad (23)$$

$$\frac{dp}{dt} = \frac{Y_{P/S}}{Y_{X/S}} \frac{dx}{dt} = \frac{Y_{P/S}}{Y_{X/S}} \mu x \quad (24)$$

El consumo de sustrato es el siguiente

$$-\frac{ds}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}} \frac{dx}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}} \frac{dp}{dt} \quad (25)$$

Como se puede observar en las ecuaciones formuladas, el consumo de sustrato ni la formación del producto son independientes del consumo celular. Es debido a esto que la actividad metabólica de los microorganismos puede ser descrita por las ecuaciones estequiométricas.

Es de esta manera en la que se definirán las ecuaciones de balance másico para el proceso de fermentación del cacao.

2.3.2. Aplicación a fermentador tipo Batch

- Representación del modelo dinámico general

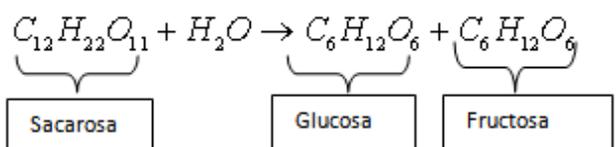
Las ecuaciones de reacciones químicas se pueden expresar como espacios de estado de la siguiente manera, formulada por D. Dochain [51].

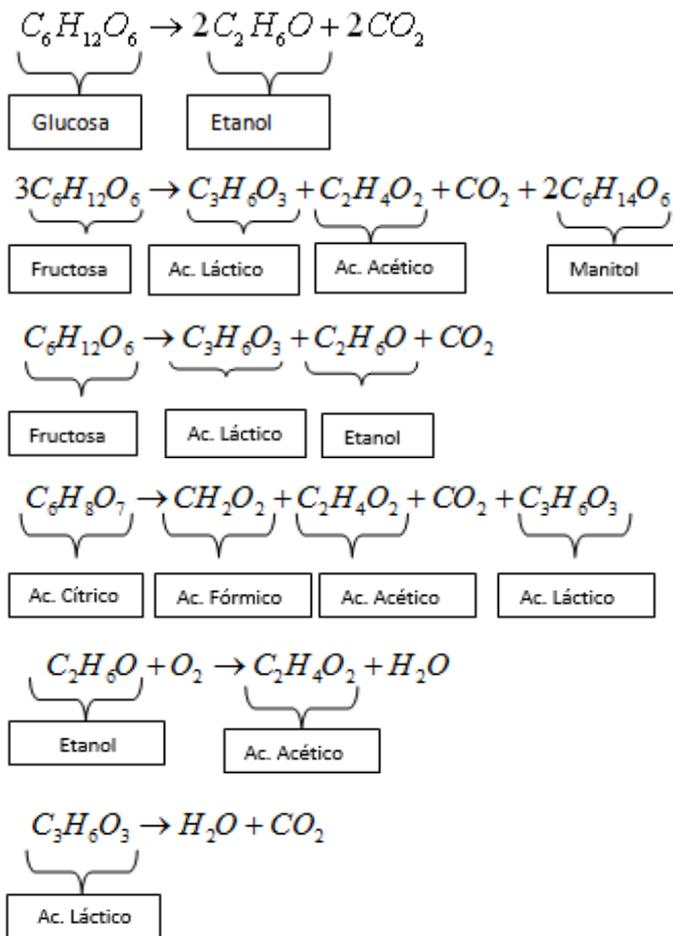
$$\dot{\varepsilon} = kr(.) + D(\varepsilon_{out} - \varepsilon) - Q(\varepsilon) \quad (26)$$

Siendo ε el vector que contiene a todos los componentes químicos o variables de estado que participan en el proceso de fermentación. D es la tasa de disolución, que es la relación de la concentración del flujo de entrada respecto al volumen total de la biomasa. K es la matriz de coeficientes de las constantes de reacción química. r es el vector de velocidades de cada reacción química. Por lo que $kr(.)$ describe la cinética de las reacciones bioquímicas y microbiológicas. $Q(\varepsilon)$ es la matriz de flujos gaseosos durante las reacciones químicas.

Una de las dificultades que se poseen en los bioprocesos radica en que los sensores físicos para la medición en línea de todos los estados presentes no se encuentran disponibles todo el tiempo necesario. Algunas de las cuales no están disponibles inmediatamente, pero pueden ser analizadas en laboratorios especializados previo a tener el valor de la variable deseada. Para la medición de productos de bioprocesos se suelen usar análisis por inyección de flujo, cromatografía, espectroscopia, entre otros.

Se realizará una simplificación en las ecuaciones químicas vistas anteriormente, no se considerarán la ecuación de descomposición de glucosa por el ácido láctico, ni por las bacterias formadoras de esporas aerobias, ya que estas últimas son importantes en un periodo final de la fermentación y su influencia no es determinante en la reacción química. Las ecuaciones cinéticas que se evaluarán serán las siguientes:



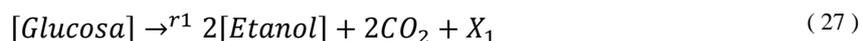


Se expresan las relaciones cinéticas de la forma más simple debido a que desconocemos los cambios durante la reacción, la concentración de microorganismos (levaduras, bacterias lácticas y acéticas).

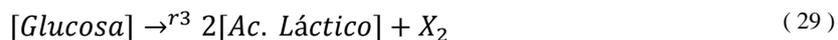
$$\begin{aligned}
 \frac{d[\text{sacarosa}]}{dt} &= -k_1 * [\text{sacarosa}] \\
 \frac{d[\text{glucosa}]}{dt} &= k_1 * [\text{sacarosa}] - k_2 [\text{glucosa}] \\
 \frac{d[\text{fructosa}]}{dt} &= k_1 * [\text{sacarosa}] - 3k_4 * [\text{fructosa}] - k_5 * [\text{fructosa}] \\
 \frac{d[\text{lactosa}]}{dt} &= +k_4 * [\text{fructosa}] + k_5 [\text{fructosa}] + k_6 * [\text{cítrico}] - k_9 [\text{lactosa}] \\
 \frac{d[\text{ac. acético}]}{dt} &= k_5 [\text{fructosa}] + k_6 * [\text{cítrico}] + k_7 * [\text{etanol}] \\
 \frac{d[\text{ac. cítrico}]}{dt} &= -k_6 * [\text{ac. cítrico}] \\
 \frac{d[\text{etanol}]}{dt} &= 2k_2 * [\text{glucosa}] + k_5 * [\text{fructosa}] - k_7 * [\text{etanol}]
 \end{aligned}$$

De las ecuaciones presentadas previamente, se han elegido las siguientes para cada familia de microorganismos y se le han asignado una velocidad de reacción r respectivamente.

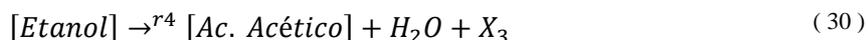
- Para las levaduras, la especie predominante en experimentos con cacao blanco es la *Saccharomyces cerevisiae* a la cual le corresponde la siguiente ecuación.



- Para las bacterias lácticas, en el caso del cacao blanco se han encontrado poblaciones especialmente de *Lactobacillus plantarum*, se tomaron las siguientes ecuaciones.



- Para las bacterias acéticas, se han elegido la familia con mayor presencia en el cacao blanco: *Acetobacter pastorianus*.



A partir de estas ecuaciones químicas, se puede plantear un conjunto de ecuaciones que expresen la cinética química del proceso de fermentación a partir de los datos que se poseen de una manera fiable.

Se realiza un balance másico a la fructosa de las ecuaciones químicas anteriores, formulada por D. Dochain [51].

$$s_1(t + dt) = s_1(t) - k_1 r_1(\cdot) V dt - k_5 r_3(\cdot) V dt \quad (31)$$

$$\frac{s_1(t + dt) - s_1(t)}{dt} = -k_1 r_1(\cdot) V - k_5 r_3(\cdot) V \quad (32)$$

$$\frac{dS_1}{dt} = -k_1 r_1 - k_5 r_3 \quad (33)$$

Siendo V , el volumen considerado constante del reactor. S es la concentración volumétrica de glucosa. Los coeficientes de velocidad de reacción química r dependen fuertemente del desarrollo biológico en la biomasa.

Si se extiende este concepto a un balance básico para los siguientes compuestos, ya que son de los cuales se tiene información disponible para la estimación de parámetros de las reacciones químicas (k), como notación a cada uno se le asignará un parámetro X para identificarlo en las ecuaciones que se ingresarán en Matlab.

- Glucosa (X_0)
- Fructosa (X_1)
- Etanol (X_2)
- Ácido Láctico (X_3)
- Ácido Acético (X_4)
- Saccharomyces Cerevisiae (X_5)
- Lactobacillus Plantarum (X_6)
- Acetobacter Pasterianus (X_7)
- Dióxido de Carbono (X_8)
- Oxígeno (X_9)

Las ecuaciones cinéticas son las siguientes:

$$\frac{dX_0}{dt} = -k_1 * r_1 - k_{10} * r_3 \quad (34)$$

$$\frac{dX_1}{dt} = -k_3 * r_3 - k_6 * r_2 \quad (35)$$

$$\frac{dX_2}{dt} = -k_2 * r_1 + r_2 * k_5 - k_{12} * r_4 \quad (36)$$

$$\frac{dX_3}{dt} = k_4 * r_2 + k_{11} * r_3 + k_7 * r_2 \quad (37)$$

$$\frac{dX_4}{dt} = k_{13} * r_4 - k_8 * r_2 \quad (38)$$

Para el desarrollo de los microorganismos durante el proceso de fermentación se puede representar de una forma análoga a los compuestos anteriores, planteados por R. López M. [50].

$$\frac{dX_5}{dt} = r_1 \quad (39)$$

$$\frac{dX_6}{dt} = 2 * r_2 + r_3 \quad (40)$$

$$\frac{dX_7}{dt} = r_4 \quad (41)$$

Sin embargo, la velocidad de reacción depende directamente del desarrollo de los microorganismos, ya que son los que llevan a cabo la descomposición de todos los compuestos volátiles, se presenta para cada caso en las ecuaciones siguientes (Fuente: R. López [50]).

$$r_1 = \mu_1 X_1 \quad (42)$$

$$r_4 = \mu_4 X_3 \quad (43)$$

$$r_2 + r_3 = \mu_{23} X_2 \quad (44)$$

Siendo μ el promedio de crecimiento específico (specific growth rate) (1/h), el cual depende principalmente de las condiciones de operación (temperatura, pH, entre otros), del medio (concentraciones). Para representarlo se suelen usar las expresiones empíricas como el modelo de Monod y el Haldane, siendo este último usado en los fenómenos de inhibición debido a un exceso de sustrato en reacciones biológicas.

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} \quad (45)$$

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}} \quad (46)$$

Siendo K_i la constante de inhibición (g/l).

Por lo tanto, podemos expresar las velocidades de reacción como, (Fuente: R. López [50]).

$$r_1 = \mu_{1max} \frac{S_1}{k_{S_1} + S_1} X_1 \quad (47)$$

$$r_4 = \mu_{4max} \frac{S_3}{k_{S_4} + S_3} X_3 \quad (48)$$

$$r_2 + r_3 = \mu_{23max} \left(\frac{2S_2}{k_{S_2} + S_2} + \frac{S_1}{k_{S_3} + S_1} \right) X_2 \quad (49)$$

Se tiene información bibliográfica acerca de los valores de las tasas de crecimiento máximas de microorganismos, (Fuente: R. López [50]).

$$\mu_{S. Cerevissae} = 0,42 \text{ h}^{-1} \quad (50)$$

$$\mu_{L. Plantarum} = 0,34 \text{ h}^{-1} \quad (51)$$

$$\mu_{A. Pasterianus} = 0,1 \text{ h}^{-1} \quad (52)$$

Por lo que se obtiene:

$$r_1 = 0.42 \frac{S_1}{k_{S_1} + S_1} X_1 \quad (53)$$

$$r_2 = 0.34 \frac{S_2}{k_{S_2} + S_2} X_2 \quad (54)$$

$$r_3 = 0.34 \frac{S_1}{k_{S_3} + S_1} X_2 \quad (55)$$

$$r_4 = 0.1 \frac{S_3}{k_{S_4} + S_3} X_3 \quad (56)$$

- Balance de gases

En adición se incluye Dióxido de Carbono (X_8) y Oxígeno (X_9), que son elementos que serán medidos por sensores de gases.

$$\frac{dX_8}{dt} = k_{14} * r_1 + k_{15} * r_2 \quad (57)$$

$$\frac{dX_9}{dt} = -k_{16} * r_4 \quad (58)$$

Representación del proceso de fermentación de cacao

Se tienen datos de la matriz K de valores de *yield coefficients*, fuente: R. López [50]. El balance de concentraciones másicas es expresado a continuación.

$$\begin{bmatrix} X_0 \\ X_1 \\ X_2 \\ X_3 \\ X_4 \\ X_5 \\ X_6 \\ X_7 \\ X_8 \\ X_9,0 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -1.9806 & 0 & -3.33 & 0 \\ 0 & -13.33 & 0 & 0 \\ 0.3 & 3.25 & 0 & -9.55 \\ 0 & 2.5307 & 1.24 & 0 \\ 0 & 2.95 & 0 & 6.84 \\ 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 2 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ k_{14} & k_{15} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -k_{16} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} r_1 \\ r_2 \\ r_3 \\ r_4 \end{bmatrix}$$

Se simula el proceso en Matlab y se obtienen las siguientes gráficas.

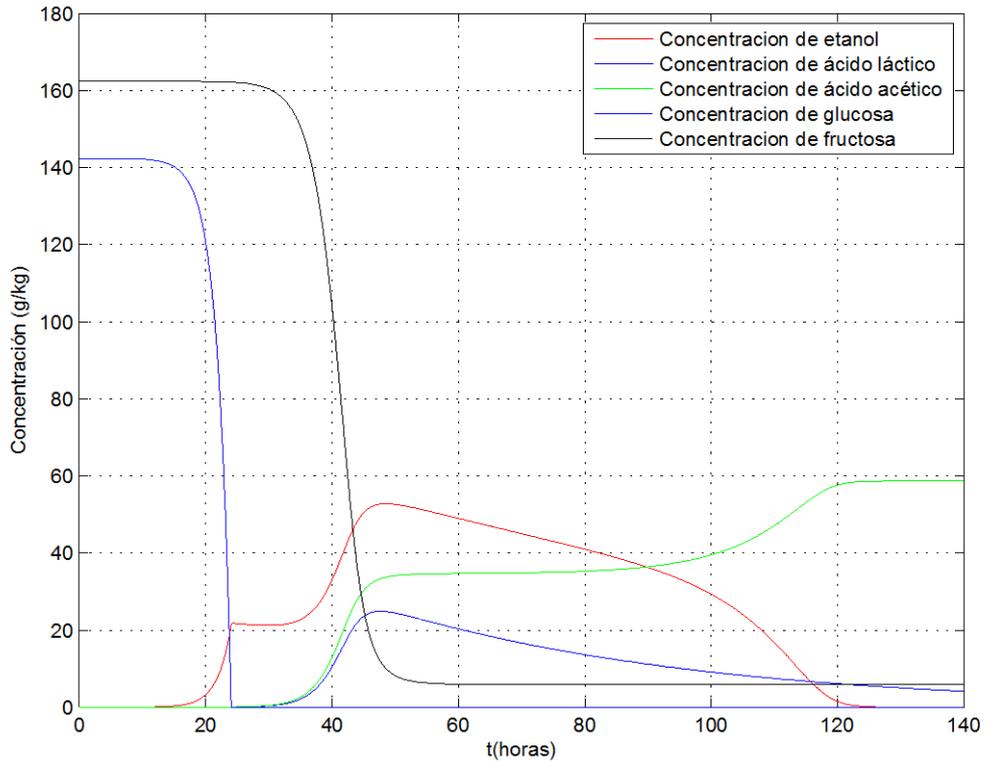


Figura 25. Concentración de compuestos según modelo de balance másico. Fuente: R. Lopez [50]

Se puede observar que las concentraciones de azúcares decrecen al inicio de la fermentación, mientras que en la mitad de la fermentación inicia el aumento de etanol, de ácido acético y ácido láctico, finalmente, al culminar la fermentación el único compuesto que se incrementa es el ácido acético, que le da un sabor indeseable al grano de cacao si esta se prolonga demasiado tiempo.

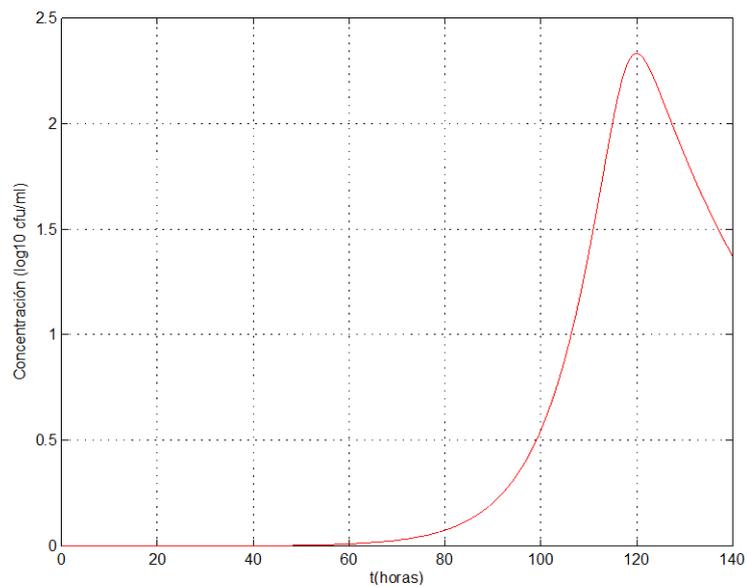


Figura 26. Concentración de *Acetobacter pasteurianus* según modelo. Fuente: R. Lopez [50]

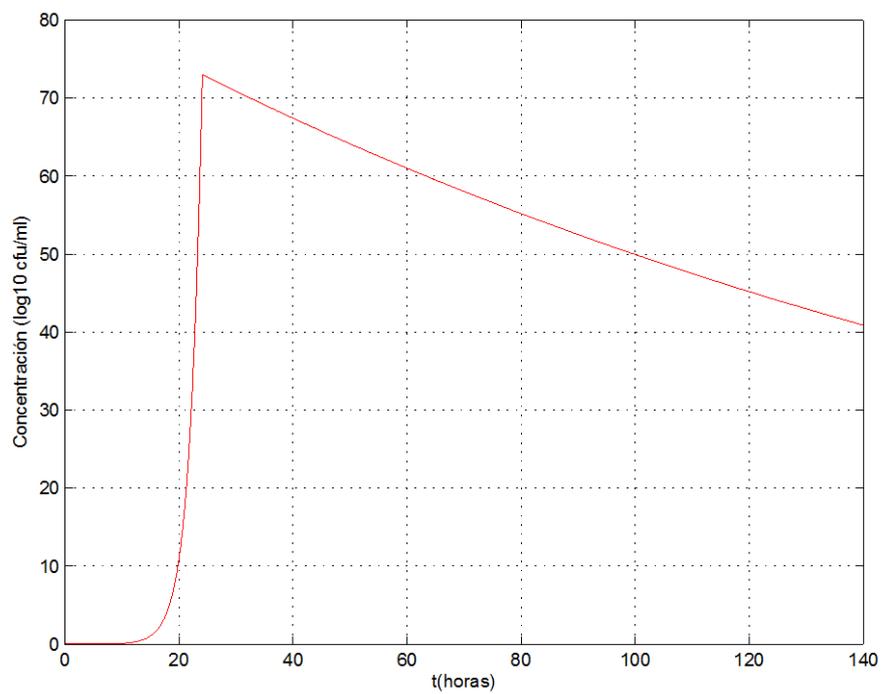


Figura 27. Concentración de *Saccharomyces cerevisiae* según modelo. Fuente: R. Lopez [50]

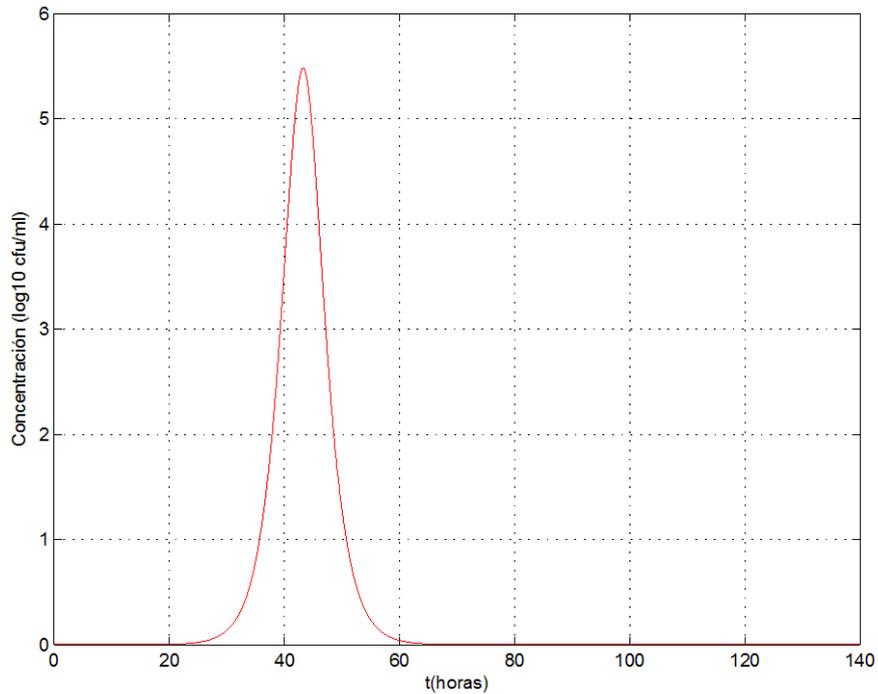


Figura 28. Concentración de *Lactobacillus plantarum* según modelo. Fuente: R. Lopez [50]

De las concentraciones de microorganismos se puede apreciar, que siguen los rangos teóricos-experimentales que se tenían, es decir que primero se desarrollan las levaduras, a continuación, las bacterias lácticas y finalmente las bacterias acéticas.

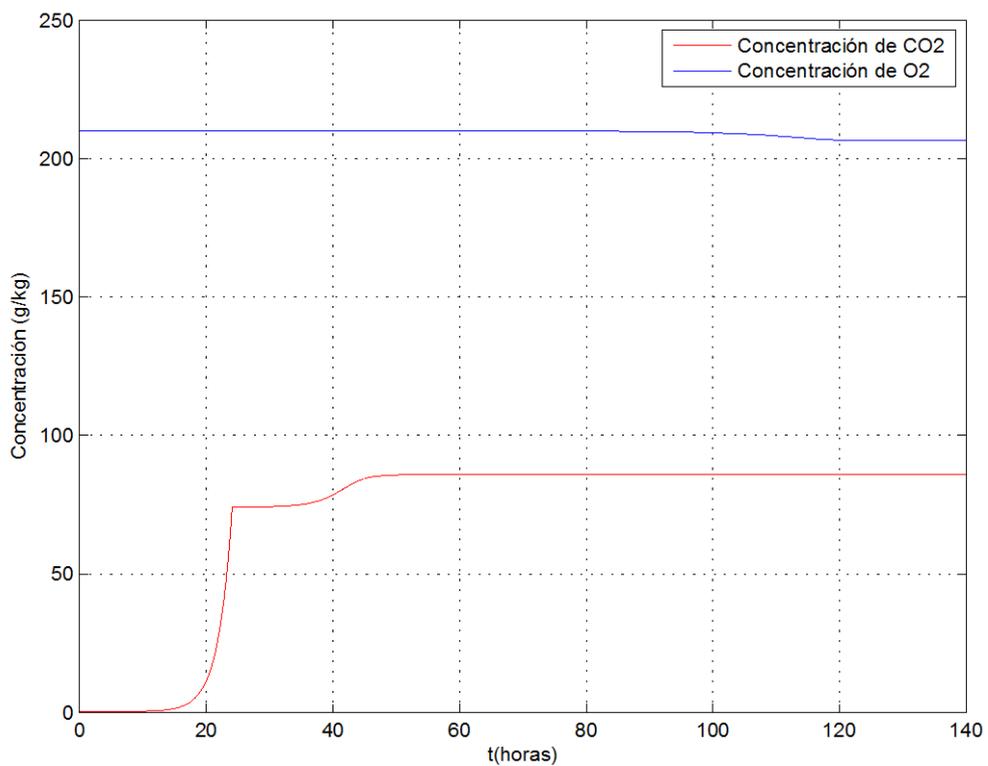


Figura 29. Concentración de gases según modelo. Fuente: Simulación propia.

Se observa que, para las concentraciones de gases, la concentración de oxígeno desciende con una pendiente poco pronunciada. Mientras que la concentración de dióxido de carbono aumenta en los dos primeros días de iniciada la fermentación y luego se mantiene hasta el final.

En conclusión, se observan resultados de acuerdo a lo esperado, con el desarrollo de ácidos y compuestos volátiles de acorde a lo encontrado en la bibliografía.

2.3.3. Aplicación a fermentador tipo tambor rotatorio

En el modelo se toman las siguiente hipótesis:

- La masa fermentativa, gracias al mezclado provocado por la rotación del tambor, se asume que se encuentra perfectamente mezclada.
- Durante la fermentación, el consumo de reactivos por la reacción química no afecta el volumen de esta, mientras que la densidad de esta permanece constante.
- Durante los procesos químicos, sólo hay presencia de gases como oxígeno y dióxido de carbono, cuyos flujos de entrada y salida con constantes, así como el contenido total de aire seco en la cabecera.

A continuación, se presentan las ecuaciones másicas y energéticas para biorreactores de tambor rotatorio basadas en las desarrolladas por Mitchell y Krieger [32] para biofermentadores de tambor rotatorio, con la notación de subíndices b =lecho, h =cabecera, w =paredes del reactor, s =exteriores, in =entrada, sat =saturación.

Factores Geométricos del reactor

El tambor que se ha definido ha de ser rotado para un buen mezclado y temperatura uniforme de la masa de fermentación. A una velocidad de rotación crítica N_c (rpm) se ha definido el diámetro (m) necesario para un buen mezclado:

$$N_c = \frac{42.3}{\sqrt{D}} \quad (59)$$

Para las áreas de contacto entre las distintas partes del tambor rotatorio se tienen las siguientes ecuaciones:

$$\begin{aligned}
 A_{hw} &= 0.60231\pi DL + 0.35\pi D^2 \\
 A_{ws} &= \pi(D + 2z)(L + 2z) + \pi(D + 2z)^2 / 2 \\
 A_{bh} &= 0.9475DL \\
 A_{bw} &= 0.39769\pi DL + 0.15\pi D^2
 \end{aligned}
 \tag{60}$$

Siendo D el diámetro, L la longitud y z el ancho del biorreactor.

Se tomará a G como la masa total de aire seco en la cabecera, H es la humedad de la cabecera (masa de vapor de agua por masa de aire seco), M es la masa total de sólidos secos en el lecho (biomasa junto con el sustrato residual), X es la biomasa, W es el contenido de agua en el lecho (masa de agua líquida por masa total de sólidos secos) y B es la masa total del biorreactor.

Balances másicos:

- Variación de la biomasa

Para el balance de la masa, se toma en cuenta el modelo de las reacciones químicas que se ha tomado, por lo que se escoge a la sacarosa, glucosa, fructosa, lactosa, ácido cítrico, ácido acético y al etanol. La suma de la variación de los componentes representa a X (kg).

$$X = m_{sacarosa} + m_{glucosa} + m_{fructosa} + m_{lactosa} + m_{ac.acetico} + m_{ac.citrico} + m_{etanol} \tag{61}$$

$$X = \sum_{i=1}^n m_i \tag{62}$$

En la simulación, se tenían datos de las concentraciones en mg/g, por lo que se tuvo que multiplicar por la masa total, para obtener la masa de cada componente.

- Variación de la masa total de sólidos secos:

La variación de masa total de sólidos secos se toma como proporcional a la variación de la cantidad de biomasa [23]. Este factor dependerá de los datos experimentales.

$$\frac{dM}{dt} = Y_m \frac{dX}{dt} \quad (63)$$

- Balace de agua en el lecho:

Durante los procesos de fermentación en estado sólido, como se dijo anteriormente, se tiene una cantidad importante de agua en el lecho o sustrato, por lo que se deben tomar en cuenta sus efectos durante el proceso. Se toma a W es el contenido de agua en el lecho (masa de agua líquida por el total de masa, es decir:

$$W = \frac{m_{H_2O}}{M} \quad (64)$$

En la Ecuación [65] se toma en cuenta que existe una relación proporcional entre la variación de la biomasa y la cantidad de agua. También se toma en cuenta la evaporación de agua a la cabecera, lo que incluirá una transferencia energética.

$$\frac{d[MW]}{dt} = \left(Y_w \frac{dX}{dt} \right) - k_w A_{bh} (W - W_{sat}) \quad (65)$$

Y_w es un coeficiente que representa la influencia del agua en el crecimiento de la biomasa. k_w es un coeficiente de transferencia de masa entre la fase biomasa y la cabecera definido como:

$$k_w = \frac{h_{bh}}{6342} [\text{kg de sustrato} \cdot \text{s}^{-1} \text{m}^{-2}] \quad (66)$$

Se observa que k_w depende de h_{bh} . El coeficiente h_{bh} depende de la geometría del sistema (ya que esta es importante para conocer la transferencia de masa de agua al aire seco hasta que se sature). Por esta razón se toma H_{in} es la humedad del flujo de aire que ingresa al reactor, durante la modelación se le tomará como 0.3.

$$\frac{d[MW]}{dt} = \left(Y_w \frac{dX}{dt} \right) - k_w A_{bh} (W - W_{sat}) \quad (67)$$

$$h_{bh} = \frac{2.351(D^{1.5} S)^{0.104}}{D \left[F \left(\frac{1}{0.029} + \frac{H_{in}}{0.018} \right) \frac{D}{(D^2 L)^{0.667}} \right]^{0.535}} \quad (68)$$

Siendo D el diámetro, L la longitud, A_{bh} es el área de contacto entre el lecho y la cabecera.

S es la fracción de la velocidad crítica y se ha definido como:

$$S = \frac{V}{Nc} \quad (69)$$

Siendo Nc (rpm) la velocidad crítica de giro, la cual depende de la geometría del reactor.

F es el flujo ingresante (kg-aire-seco /s). Este flujo de aire será vital para comprobar si el modelo reacciona ante cambios en este.

W_{sat} es el valor de W del sustrato en el lecho si se tuviese la situación de equilibrio con la fase gaseosa, se puede calcular como:

$$W_{sat} = \left[\frac{\ln(1 - a_{wg}^{0.32})}{-\exp(2.9 + 0.004T_b)} \right]^{\frac{1}{(1.275 - 0.0029T_b)}} \quad (70)$$

- Balance de agua en la cabecera:

Como se explicó para el balance de masa en el lecho, cierta cantidad de líquidos se evapora e incrementa la humedad en la cabecera. Para representar estos efectos, se lleva a cabo un balance de agua en ésta.

El primer término representa la variación en la humedad que trae consigo el flujo ingresante y saliente en el tambor. El siguiente término representa la cantidad de agua que recibe del lecho a medida que avanza la programación.

$$\frac{d[GH]}{dt} = F(H_{in} - H) + k_w A_{bh} (W - W_{sat}) \quad (71)$$

Siendo G la masa total de aire seco presente en la cabecera. H es la humedad en la cabecera (masa de vapor de agua por masa de aire seco).

2.4. Balance de energía en proceso de fermentación de cacao:

- Calor producido en una reacción química

Para hallar el calor producido en una reacción, tenemos que despejar el término ΔH_{Rx} , el cual representa la variación de entalpía en una reacción:



$$\Delta H_{Rx}(T) = \frac{d}{a} H_D(T) + \frac{c}{a} H_C(T) - \frac{b}{a} H_B(T) - H_A(T) \quad (73)$$

Las entalpías de cada compuesto son evaluadas a una temperatura T . Para obtener los valores de entalpía de tablas, primero se debe colocar en función de la entalpía de formación o decaimiento, despreciar los cambios de fase, con lo cual obtenemos:

$$H_i = H^o(T_R) + \int_{T_R}^T C_p dT \quad (74)$$

Siendo $H^o(T_R)$ la entalpía de formación a una temperatura de referencia (generalmente 25°C) y C_p es la capacidad calorífica, ambas se pueden obtener de tablas. Simplificando la Ecuación 75, se puede expresar como:

$$\Delta H_{Rx}(T) = \left[\frac{d}{a} H^o_D(T_R) + \frac{c}{a} H^o_C(T_R) - \frac{b}{a} H^o_B(T_R) - H^o_A(T_R) \right] + \left[\frac{d}{a} C_{p_D} + \frac{c}{a} C_{p_C} - \frac{b}{a} C_{p_B} - C_{p_A} \right] (T - T_R) \quad (75)$$

La cual puede ser obtenida para cada reacción química con valores de tablas para las entalpías de formación y las capacidades caloríficas, hallados en anteriormente.

Se tienen los siguientes datos de los compuestos de las ecuaciones químicas:

Tabla 46. Datos de compuestos químicos.

	Entalpía de formación H^o (kJ/mol)	Capacidad calorífica molar a presión constante en 298.15K C_p (J/mol K)	Masa molar (g/mol)
C_2O	-393.5	37.1	44.0095
Ácido Acético	-484.3	123.3	60.052
Etanol	-277.6	112.3	46.06844
Ácido láctico	-675.21	127.67	98.08
H_2O	-285.8	75.3	18.01528
$C_6H_{12}O_6$	-1271.5	218.96	180.1559

Oxígeno	0	29.4	-32
---------	---	------	-----

Operando las ecuaciones del calor metabólico resultan:

$$H_1(T_b) = [-31.1 * 10^3 + (T_b)(362.62)] / 342.2965 * [sacarosa] * M * r_1$$

$$H_2(T_b) = [-70.7 * 10^3 + (T_b)(79.84)] / 180.1559 * [glucosa] * M * r_2$$

$$H_4(T_b) = [-122.503 * 10^3 + (T_b)(-122.93)] / 180.1559 * [fructosa] * M * r_4$$

$$H_5(T_b) = [-74.81 * 10^3 + (T_b)(58.11)] / 180.1559 * [fructosa] * M * r_5$$

$$H_6(T_b) = [-434.21 * 10^3 + (T_b)(387.07)] / 192.124 * [citrico] * M * r_6$$

$$H_7(T_b) = [-492.5 * 10^3 + (T_b)(56.9)] / 46.06844 * [etanol] * M * r_7$$

$$H_9(T_b) = [-4.09 * 10^3 + (T_b)(-15.27)] / 98.08 * [lactosa] * M * r_9$$

$$H(T_b) = H_1(T_b) + H_2(T_b) + H_4(T_b) + H_5(T_b) + H_7(T_b) + H_9(T_b)$$

De las cuales finalmente se eligen las de mayor impacto energético, las cuales son las siguientes:

$$H_2(T_b) = [-70.7 * 10^3 + (T_b - 25) * 362.62] / 342.2965 * [glucosa] * M * r_1 \quad (76)$$

$$H_4(T_b) = [-122.503 * 10^3 - (T_b - 25) * 122.93] / 180.1559 * [fructosa] * M * r_4 \quad (77)$$

$$H_7(T_b) = [-492.5 * 10^3 + (T_b - 25) * 56.9] / 46.0684 * [etanol] * M * r_7 \quad (78)$$

Para $H(T)$ en J/s , M es la masa total de sólidos secos (biomasa más los residuos sólidos), r es la velocidad de la reacción para la cual es esa entalpía. Los valores de calor específico no serán incorporados en algunos casos en la simulación posterior debido a errores del programa y debido a que son despreciables al comparar con el otro valor en el rango de temperatura en el que se trabaja.

Se realizó un balance de energía simple entre el lecho y las paredes. El calor metabólico también puede ser expresado como fue expresado en la Ecuación (79).

$$\Delta H_{Rxi}(T) = \left[\frac{d}{a} H_D^o(T_R) + \frac{c}{a} H_C^o(T_R) - \frac{b}{a} H_B^o(T_R) - H_A^o(T_R) \right] + \left[\frac{d}{a} C_{P_D} + \frac{c}{a} C_{P_C} - \frac{b}{a} C_{P_B} - C_{P_A} \right] (T - T_R) \quad (79)$$

Para todas las reacciones químicas:

$$H_T(T) = \sum_{i=1}^n \Delta H_{Rxi}(T) * w_i \quad (80)$$

Para w (masa molar) en g/mol.

En la temperatura en el lecho, el balance en esta se toma como se aprecia en la Ecuación (81). En el balance de energía se ha tomado en cuenta la producción del calor metabólico para el desarrollo de los procesos bioquímicos.

$$\frac{d[T_b M(C_{pm} + C_{pw}W)]}{dt} = (Y_Q \frac{dX}{dt}) + h_{bh}A_{bh}(T_h - T_b) + h_{bw}A_{bw}(T_w - T_b) - k_w A_{bh}(W - W_{sat})\lambda \quad (81)$$

Siendo T_b la temperatura en el lecho. C_{pm} representa la capacidad calorífica de la materia seca (sustrato), cuyo valor base en la bibliografía es presentado como $1000 J.kg^{-1}.\text{°C}^{-1}$. C_{pw} es la capacidad calorífica del agua líquida ($4184 J.kg^{-1}.\text{°C}^{-1}$). Y_Q es el rendimiento de calor metabólico en el crecimiento, el cual puede ser sustituido por el balance de entalpías de reacción. h_{bh} es el coeficiente de calor transferido entre el lecho y cabecera ($W.m^{-2}.\text{°C}^{-1}$).

h_{bw} es el coeficiente de calor transferido entre el lecho y las paredes del reactor $J.s^{-1}m^{-2}.\text{°C}^{-1}$

$$h_{bw} = \frac{77100}{D} \quad (82)$$

λ es la entalpía de vaporización del agua ($2.414 \times 10^6 J.kg.agua^{-1}$). D es la concentración de líquido en la masa fermentativa.

2.4.1. En fermentador de tipo cajón

Según el modelo, se han realizado las simulaciones de la temperatura en el lecho fermentativo y se ha encontrado el siguiente comportamiento.

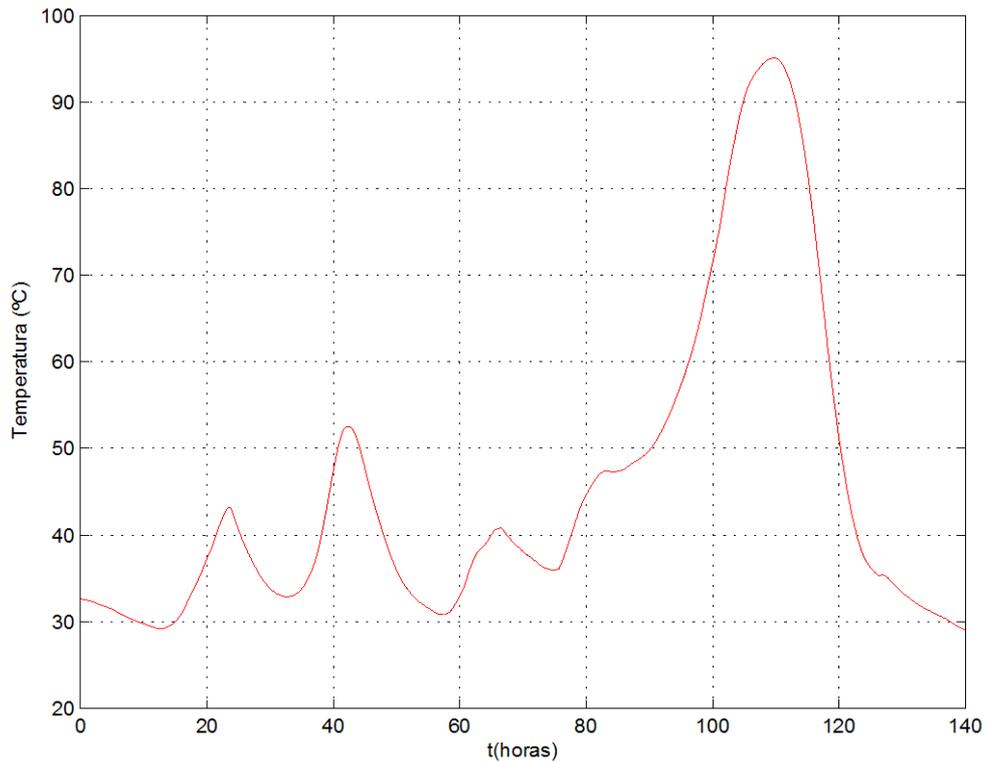


Figura 30. Comportamiento de la temperatura en el transcurso del proceso de fermentación. Fuente: R. Lopez [50]

En esta imagen se puede apreciar que hay picos de temperatura, siendo el más alto durante el tercer y cuarto día debido a las reacciones químicas que producen ácido acético y ácido láctico, siendo las más exotérmicas, por lo que se produce este incremento. Se aprecia que la temperatura aumenta demasiado según el modelo, lo cual representa un comportamiento inusual que no se representa en la realidad (llega hasta 40 y 50 °C), lo cuál debe ser estudiado en miras a una mejora en la modelación.

2.4.2. En fermentador de tipo tambor rotatorio

Para modelar los procesos energéticos que se llevan a cabo en el biorreactor, se llevan a cabo balances másicos y energéticos. En el biorreactor se producen transferencias de calor entre la masa fermentativa, el aire que circula en este y por conductos donde entra y sale, con las paredes del reactor y finalmente a los alrededores.

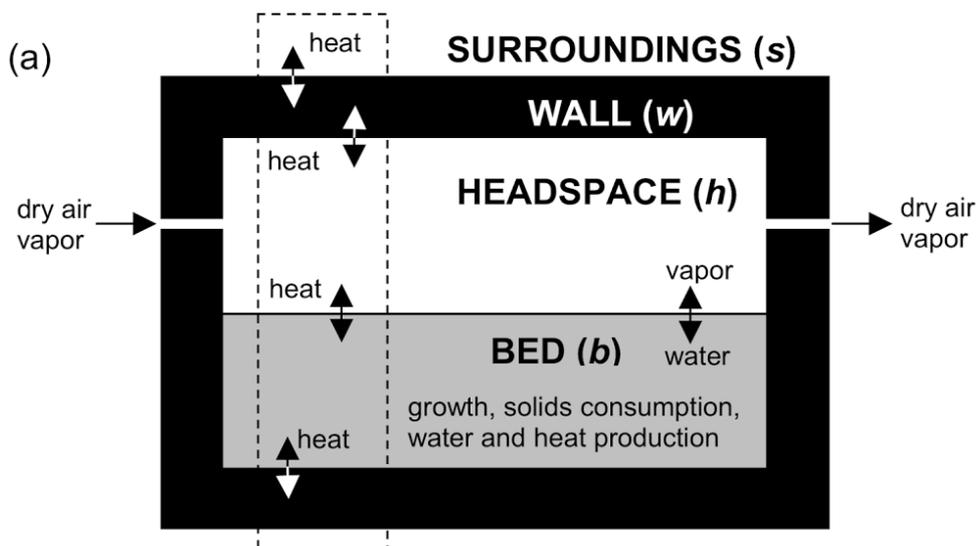


Figura 31. Esquema de la transferencia de calor en el tambor. Fuente [32]

Balances energéticos: Se hacen balances energéticos tomando en cuenta la geometría del sistema para la transferencia de calor entre el lecho, la cabecera, las paredes del biorreactor y el exterior durante la fermentación del cacao.

- **Balance energético en el lecho:**

En la temperatura en el lecho, el balance en esta se toma como se aprecia en la ecuación (83). En el balance de energía se ha tomado en cuenta la producción del calor metabólico para el desarrollo de los procesos bioquímicos.

$$\frac{d[T_b M(C_{pm} + C_{pw}W)]}{dt} = (Y_Q \frac{dX}{dt}) + h_{bh}A_{bh}(T_h - T_b) + h_{bw}A_{bw}(T_w - T_b) - k_w A_{bh}(W - W_{sat})\lambda \quad (83)$$

Siendo T_b la temperatura en el lecho. C_{pm} representa la capacidad calorífica de la materia seca (sustrato), cuyo valor base en la bibliografía es presentado como $1000 J.kg^{-1} . ^\circ C^{-1}$. C_{pw} es la capacidad calorífica del agua líquida ($4184 J.kg^{-1} . ^\circ C^{-1}$). Y_Q es el rendimiento de calor metabólico en el crecimiento. h_{bh} es el coeficiente de calor transferido entre el lecho y cabecera ($W.m^{-2} . ^\circ C^{-1}$). h_{bw} es el coeficiente de calor transferido entre el lecho y las paredes del reactor $J s^{-1} m^{-2} . ^\circ C^{-1}$.

$$h_{bw} = \frac{77100}{D} \quad (84)$$

Siendo λ es la entalpía de vaporización del agua ($2.414 \times 10^6 J.kg.agua^{-1}$).

Según (23), se puede tomar al calor producido por el metabolismo del sustrato durante la fermentación proporcionalmente con la velocidad de variación de la biomasa ($Y_o \frac{dX}{dt}$).

C_{pg} es la capacidad calorífica del aire seco ($1006.J.kg^{-1}.^{\circ}C^{-1}$). C_{pv} es la capacidad calorífica del vapor de agua ($1880J.kg^{-1}.^{\circ}C^{-1}$). T_h es la temperatura de la cabecera. T_w es la temperatura en las paredes del reactor. T_b es la temperatura en el lecho. h_{bh} es el coeficiente de transferencia de calor entre la cabecera y las paredes que se puede estimar de la siguiente forma:

$$h_{hw} = 14.278 \left(\frac{F}{A_g} \right)^{0.8} \quad (85)$$

Siendo F el flujo ingresante de aire y A_g es la sección normal a la dirección del flujo de gas.

- Balance energético en las paredes del tambor rotatorio:

En el balance de energía en las paredes del tambor rotatorio, se toma en cuenta la energía transferida entre las paredes y los alrededores, la cabecera y el lecho.

$$\frac{d[T_w B C_{pb}]}{dt} = h_{ws} A_{ws} (T_s - T_w) - h_{bw} A_{bw} (T_w - T_b) - h_{hw} A_{hw} (T_w - T_h) \quad (86)$$

Siendo C_{pb} la capacidad calorífica de las paredes del reactor. B es la masa total de las paredes del biorreactor (kg).

- Simulación

Para la simulación, se hizo en el programa ECOSIMPRO. Este programa posee un lenguaje orientado a objetos propio: EL, que es acausal, lo que se traduce en que el usuario puede ingresar las ecuaciones del modelo matemático en el orden que desee. El simulador mediante métodos numéricos procederá a resolverlo.

Dentro del programa, se tienen que definir dos elementos [26]: un componente (donde está incluido el modelo matemático) y el experimento.

- Componente: Aquí formula el modelo matemático. Consta de las siguientes partes:
 - **DATA**: En este apartado se incluyen valores constantes del modelo.
 - **DECLS**: En este apartado se incluyen las variables del modelo.
 - **CONTINUOUS** o **DISCRETE**: En este apartado se incluye el modelo matemático con las fórmulas dependiendo de qué tipo sea.
- Experimento: Se formula el experimento a realizar con el modelo que se posee (del componente). Posee las siguientes partes [27]:
 - **INIT**: Es aquí donde se inician variables de estado algebraicas.
 - **BOUNDS**: En este apartado se pueden inicializar variables de contorno o frontera que no se pueden despejar de ninguna otra ecuación del modelo que hemos presentado.
 - **BODY**: Aquí se establece el tiempo de simulación, entre otros parámetros que definen la forma en la que se realizará la simulación, la cual se inicia con la instrucción **INTEG()**.

A continuación, se procede a modelar el sistema en EcosimPro, tomando en cuenta para la simulación $D=0.75$ m, $L=1$ m, $z=0.05$ m y que el volumen inicial ocupado por el lecho es el 50% del total, se tiene que:

$$G = \rho * V_{aire} = (1.14kg / m^3) * (0.8836m^3) = 1.0073kg$$

Como masa fermentativa se escoge 100 kg. Según [8], el porcentaje del total de la masa de agua inicial será del 59.75%. La masa del biorreactor se tomará como 5 kg.

Como se apreciará a continuación, la temperatura de las paredes no difiere demasiado de las del lecho (se aprecia si se hace un acercamiento a la gráfica), esto es debido a las condiciones impuestas y al coeficiente de transferencia de calor supuesto.

Se procede a realizar el código y a simularlo, se adjunta el código en el Anexo 1. De la simulación se obtiene las siguientes gráficas de temperatura:

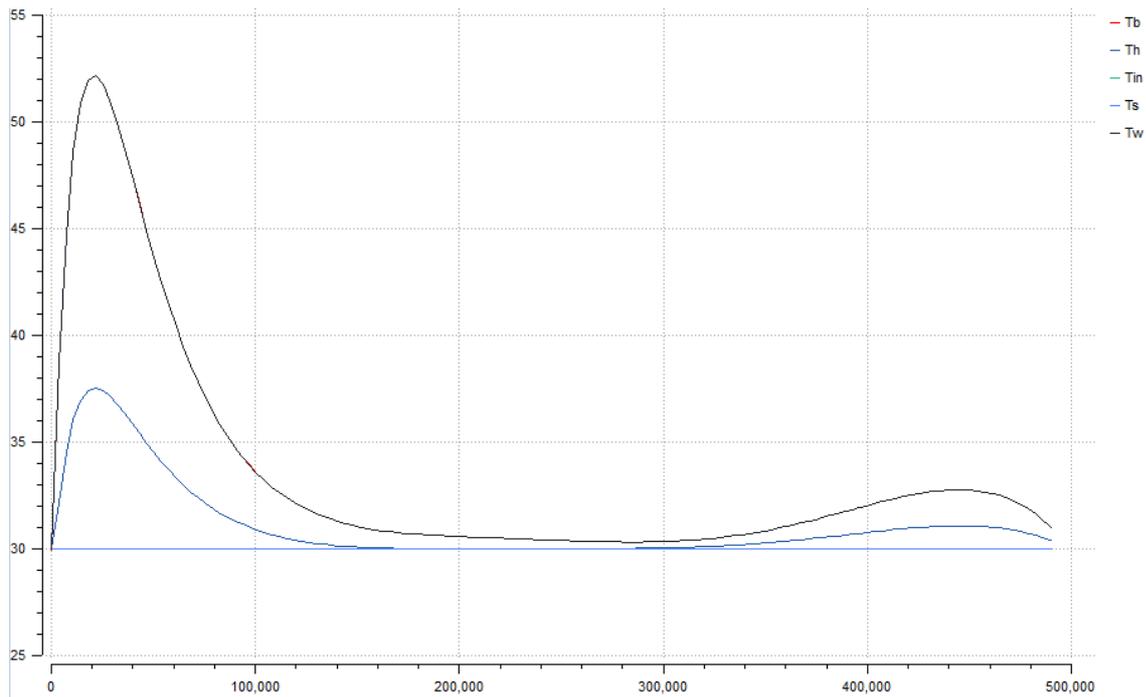


Figura 32. Gráficas de temperatura. T_b representa la temperatura en el lecho. T_h representa la temperatura en la cabecera. T_{in} representa la temperatura entrante en el reactor. T_s es la temperatura de los alrededores. T_w es la temperatura en las paredes. Fuente: Propia

En las curvas se aprecia que hay un pico máximo en los primeros días de la fermentación, esto se debe a las reacciones químicas presentes (descomposición de azúcares, aparición de primeros ácidos, entre otros). Luego debido a la transferencia de calor con los demás componentes del modelo, la temperatura desciende hasta que en aproximadamente en el cuarto día vuelve a aumentar, esto se debe a que, según la bibliografía, en esta etapa hay otro pico de temperatura. Finalmente, la temperatura vuelve a descender, lo que indica que el proceso de fermentación está concluyendo. El pico inicial no debería alcanzar cotas tan altas, debido a que puede generar reacciones no deseadas (por la energía de activación que se puede obtener), por lo que puede ser un objetivo de controlar este pico descendiendo esta temperatura.

La temperatura en la gráfica ha diferido de las encontradas en los cajones debido a que, en este fermentador, hay una mejor transferencia de calor con los alrededores, hay un flujo ingresante de aire que enfría la masa, a la vez que hay un giro (aunque de velocidad muy baja) que mantiene el sistema más aireado.

En la figura 33 se muestran las gráficas de variación de la concentración de los principales componentes de la fermentación escogidos.

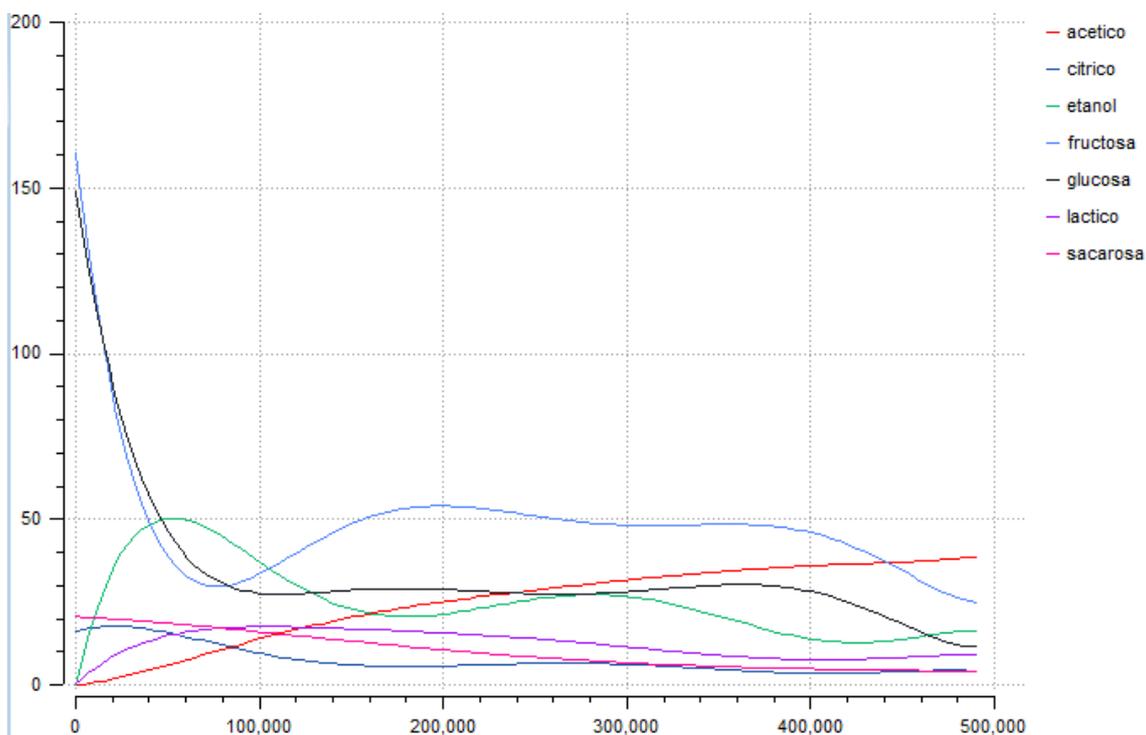


Figura 33. Principales componentes de la reacción química. Fuente: Propia

Se la reacción térmica del sistema frente a variaciones de la temperatura externa y la ingresante (ingresadas en forma de ondas sinusoidales) es inestable. Es decir que, según el software, se encuentra errores y diverge, por lo que se hizo modificaciones al modelo que se observan en el Anexo 2.

En el segundo código se modificaron valores de transferencia de calor y en los calores de reacción. Se obtiene la gráfica de temperatura mostrada en la Figura 34.

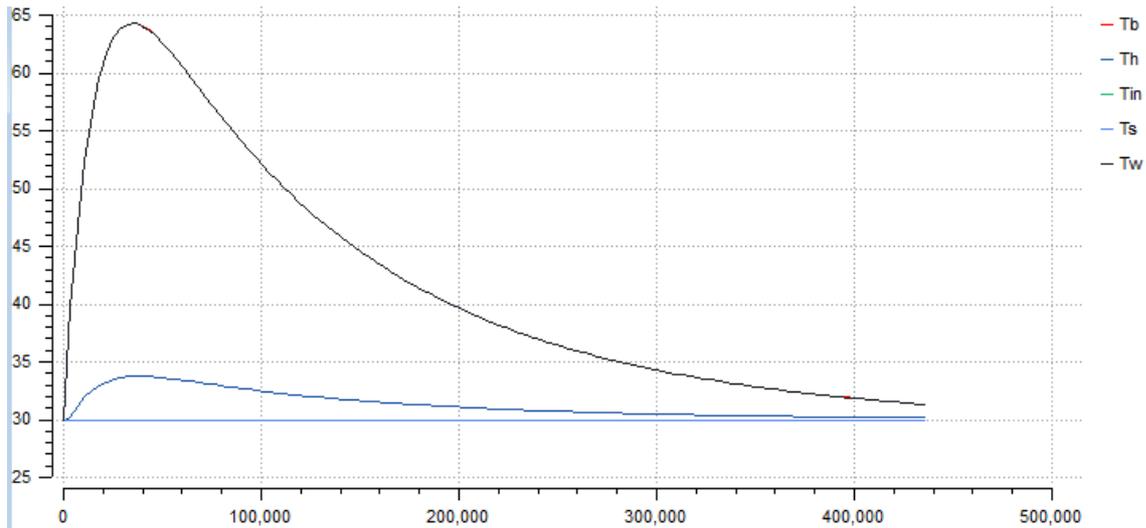


Figura 34. Variación de la temperatura según el segundo modelo. Fuente: Propia

En este gráfico se observa que hay un solo pico de temperatura, siendo alrededor del primer día, lo que coincidiría con el primer modelo. Frente a variaciones de temperatura se obtiene la gráfica observada en la Figura 35.

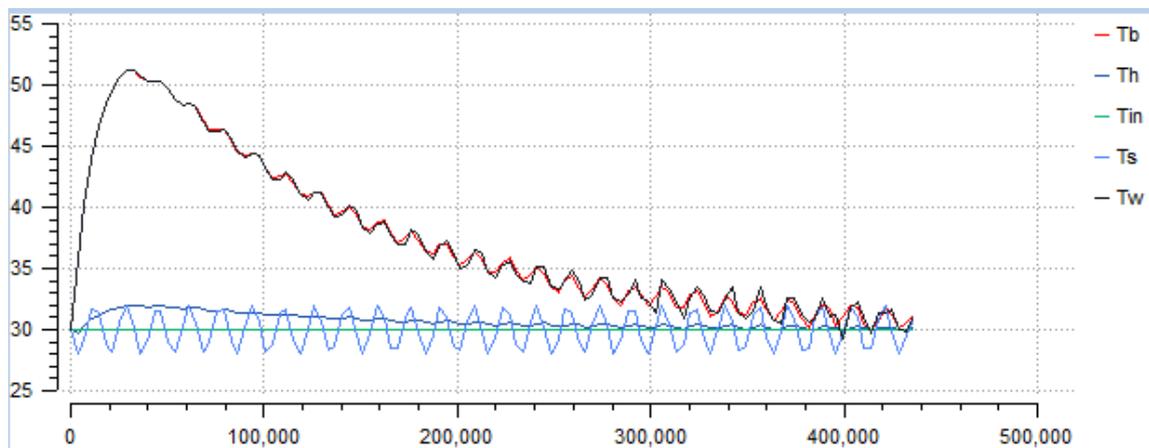


Figura 35. Variación de las curvas de temperatura frente a una entrada sinusoidal. Fuente: Propia

En la Figura 35 se observa que las temperaturas oscilan, siendo la temperatura de la cabecera la que menos lo hace. Finalmente llega a descender a la temperatura ambiente.

En la Figura 36 se muestra como varía la gráfica al cambiar la temperatura de ingreso del flujo ingresante al tambor. Al igual que en la Figura 35, oscila, pero llegando finalmente al valor de la temperatura ambiente (porque en la simulación la temperatura ambiente y la

ingresante oscilan alrededor de 30°C con distinta amplitud). Se observa también que la temperatura en la cabecera oscila con una mayor amplitud que en el caso anterior.

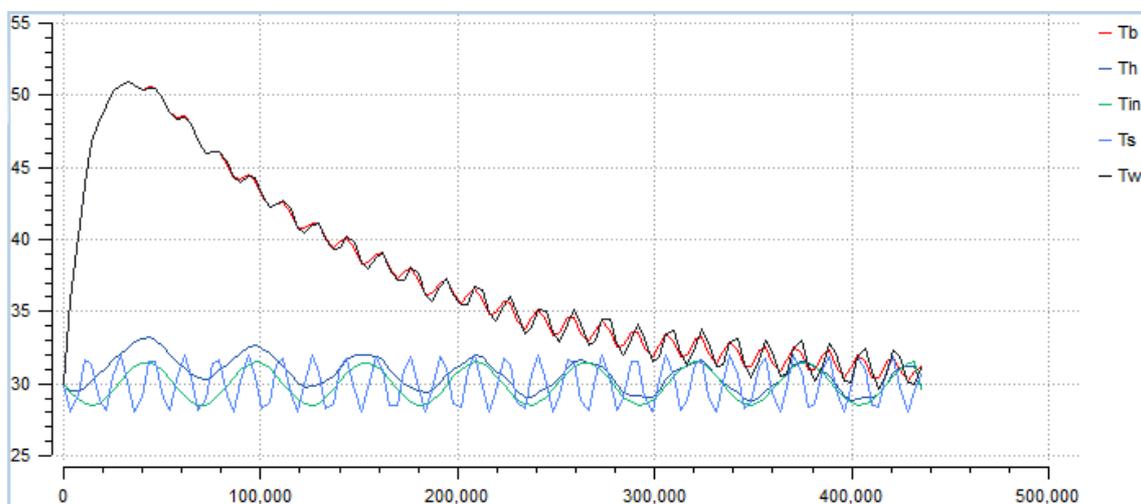


Figura 36. Variación de temperaturas con entradas sinusoidales. Fuente: Propia

Si la temperatura del flujo ingresante es menor que la de los alrededores, esto se puede hacer para reducir la temperatura del primer pico de temperatura y no sobrepase una temperatura. De igual manera se puede manejar la humedad, temperatura y velocidad del flujo ingresante, con un control PID y así lograr valores deseados de temperatura cuando esta sea superada o si se quiere realizar a valor fijo.

Con las gráficas de temperatura, se ha demostrado que llevar a cabo la fermentación en tambor rotatorio es preferible que, en cajones, ya que la temperatura no se concentra tanto (no aumenta debido al buen mezclado) y no se llega a temperaturas altas al final de la fermentación, lo que puede provocar la producción de compuestos químicos indeseables, como el ácido acético en grandes cantidades y otros provenientes de bacterias formadoras de esporas aerobias

2.5. Validación de modelo de fermentación de cacao

En esta sección se procederá a comparar los resultados experimentales de procesos de fermentación en Asprobo y en investigaciones llevadas a cabo en México, con las cuales se han medido según una metodología especializada, los ácidos láctico y acético, etanol,

glucosa, fructosa. Se ha validado solamente para el reactor Batch, ya que, en la Universidad de Piura, aún estaba en construcción el fermentador de tambor rotatorio.

2.5.1. Experimentos en cajón de fermentación [50]

Se instalaron sensores en la sala de fermentación, así como en los cajones (en tres secciones distintas de estos: parte inferior, parte superior y en el centro), así como sensores de dióxido de carbono y oxígeno.

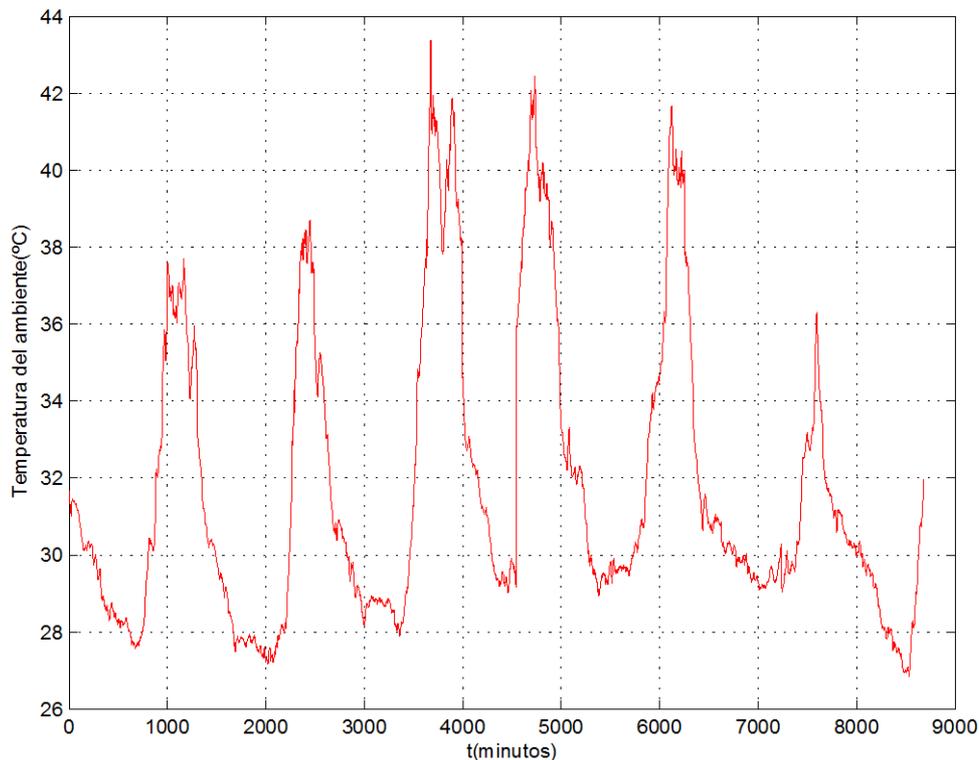


Figura 37. Temperatura ambiente dentro de sala de fermentación aislada del exterior.

Fuente: R. Lopez [50]

Se aprecian variaciones de la temperatura en el ambiente, que se deben a los periodos de remoción que se llevan a cabo en las cajas fermentativas, los cuales se realizan cada 12 horas e ingresa personal a la sala de fermentación y la temperatura de la sala desciende. En la mitad de la fermentación la temperatura aumenta en un mayor grado.

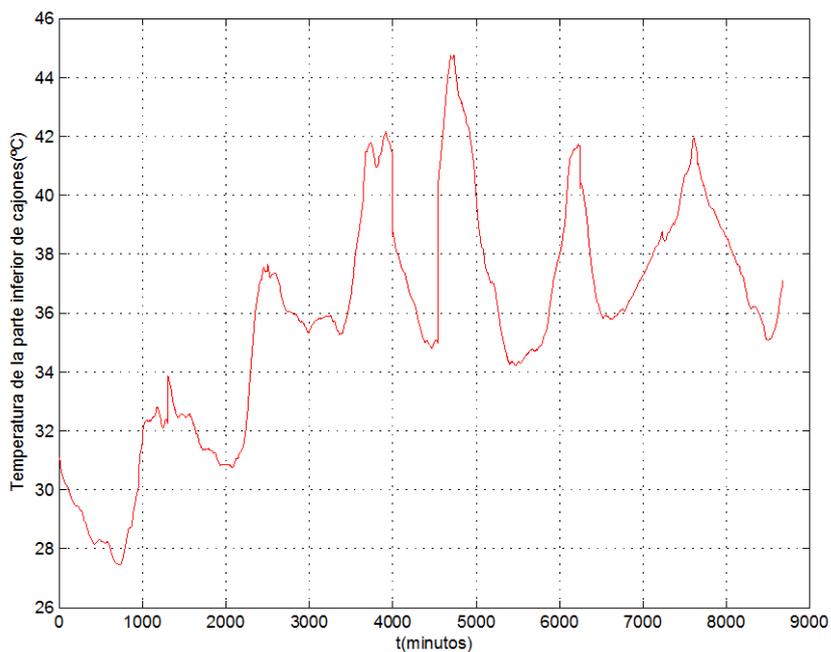


Figura 38. Temperatura inferior en cajón de fermentación. Fuente: R. Lopez [50]

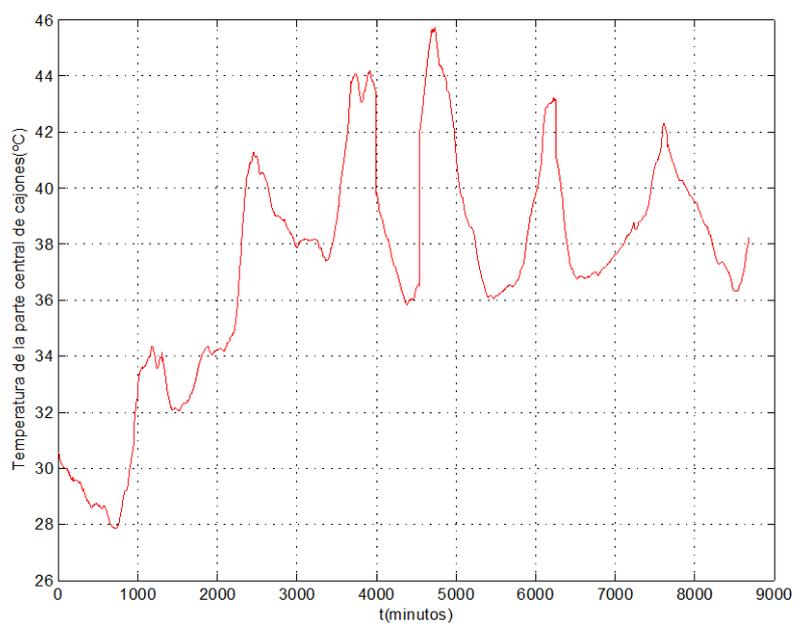


Figura 39. Temperatura en el centro de cajón de fermentación. Fuente: R. Lopez [50]

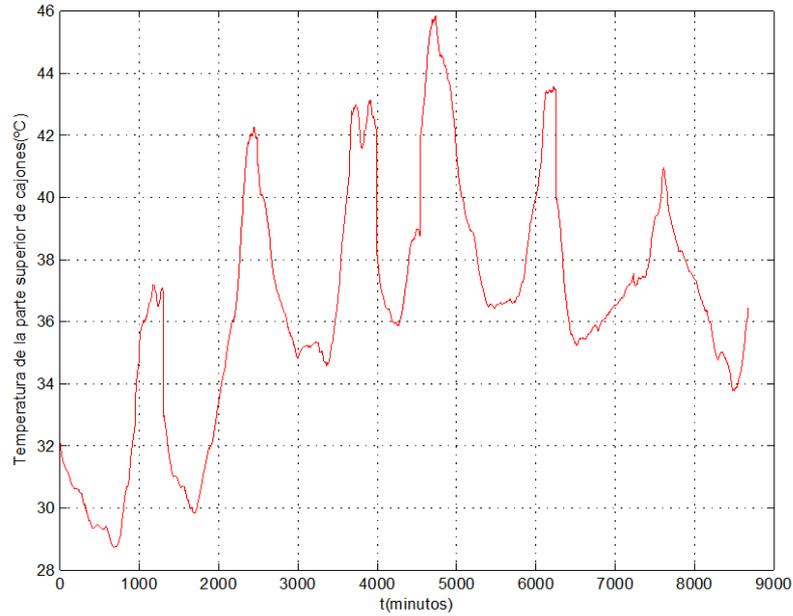


Figura 40. Temperatura superior en cajón de fermentación. Fuente: R. Lopez [50]

Como se puede observar en las gráficas, se dan picos de temperatura que son interrumpidos por los periodos de remoción que se llevan a cabo cada 12 horas, en los cuales la temperatura desciende hasta la temperatura que se tiene al exterior de la sala de fermentación. Entre las distintas partes del fermentador hay una leve diferencia de temperatura, pero que es indiferente, ya que no es una diferencia que pueda representar una gran variación de la calidad de los granos de cacao a simple vista.

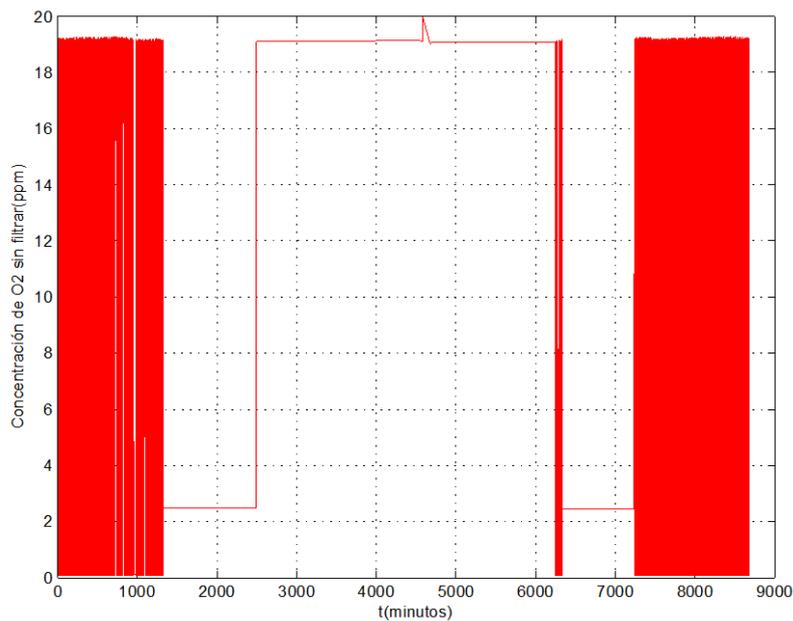


Figura 41. Concentración de oxígeno sin filtrar en sensores. Fuente: R. Lopez [50]

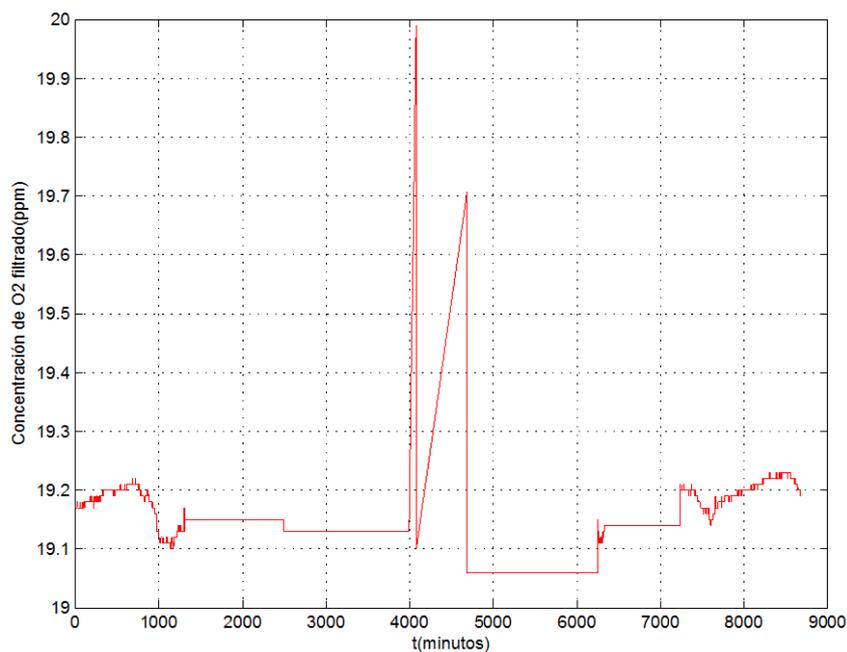


Figura 42. Concentración de oxígeno con aplicación de filtro. Fuente: R. Lopez [50]

Se aprecia que la concentración de O₂ no se puede apreciar completamente por errores de medición, sin embargo, se observa un ligero descenso al tercer día de fermentación, tras el cual se vuelve a incrementar la concentración de O₂. Coincide con el hecho de que va consumiendo oxígeno a lo largo de la fermentación.

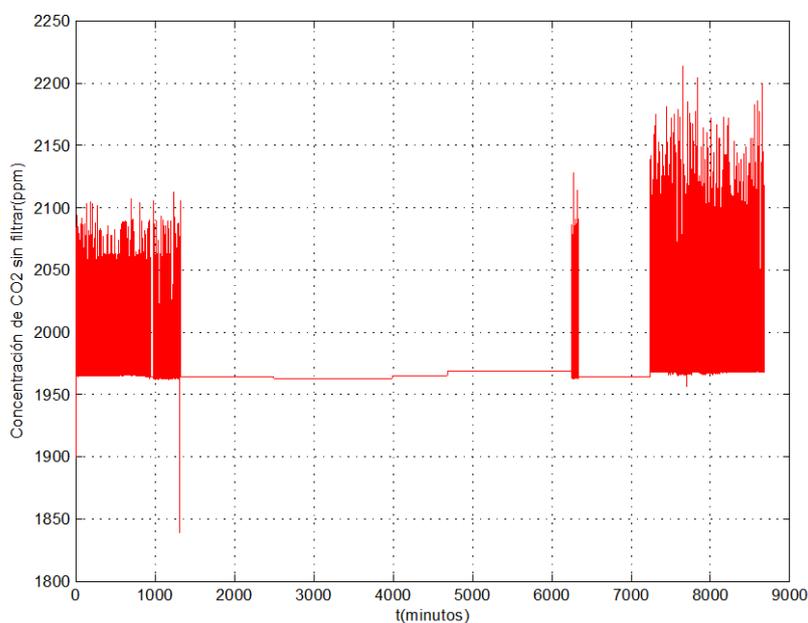


Figura 43. Concentración de dióxido de carbono con señal sin filtrar. Fuente: R. Lopez

[50]

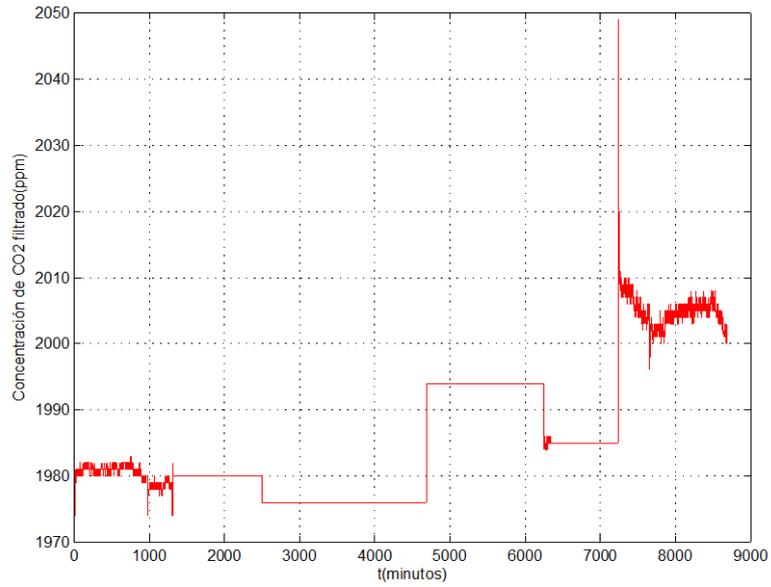


Figura 44. Concentración de dióxido de carbono con señal filtrada. Fuente: R. Lopez [50]

Con respecto a la concentración de dióxido de carbono, se ha encontrado que esta se incrementa en el transcurso de la fermentación, lo cual coincide que, durante el proceso de fermentación, se va generando dióxido de carbono en algunas de las reacciones químicas que se llevan a cabo.

2.5.2. Comparación entre modelo batch y resultados experimentales.

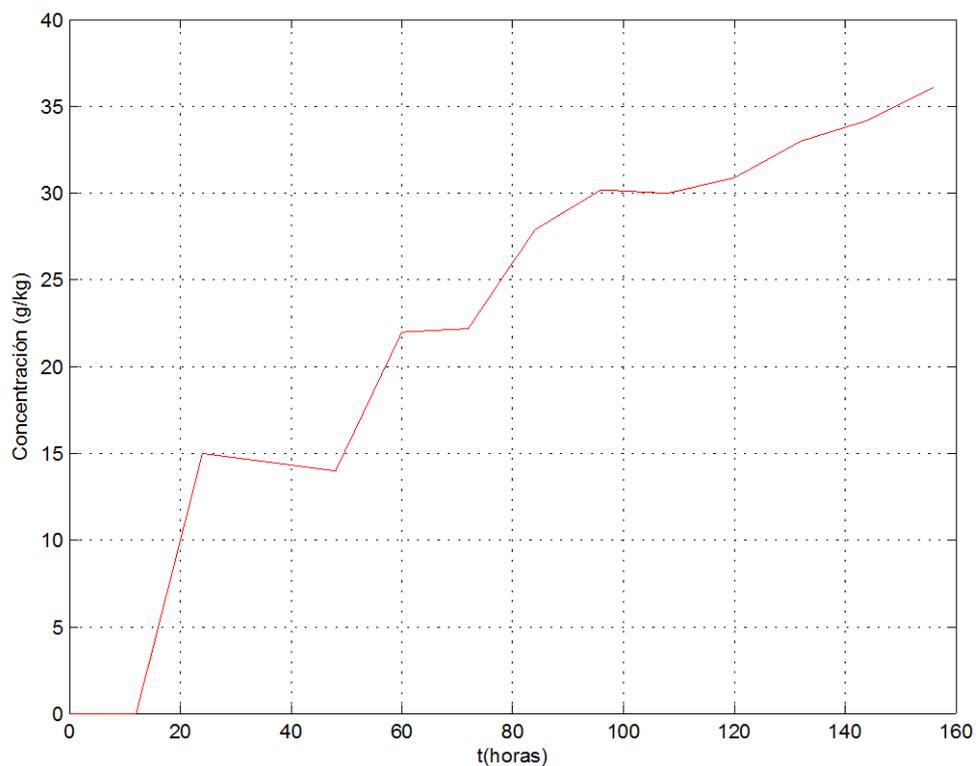


Figura 45. Concentración de ácido acético según experimentos. Fuente: R. Schwan [9].

Para el ácido acético se puede apreciar que su concentración va aumentando a lo largo de la fermentación, tal y como es también representado en el modelo matemático formulado y simulado.

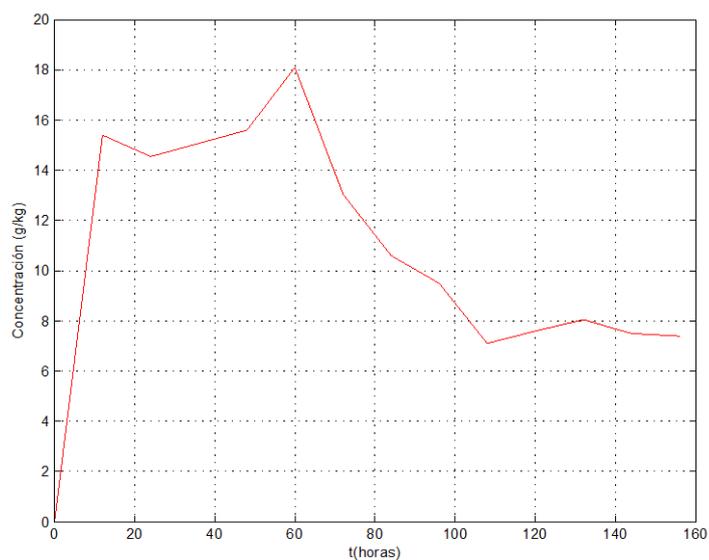


Figura 46. Concentración de ácido acético según experimentos. Fuente: R. Schwan [9].

Para el ácido láctico se puede apreciar que su concentración aumenta en los primeros días de la fermentación, para luego descender, tal y como es también representado en el modelo matemático formulado y simulado.

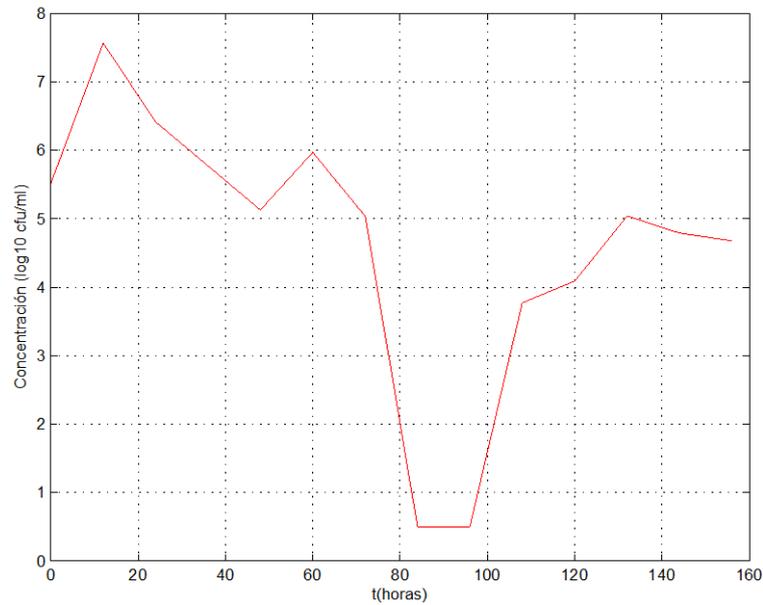


Figura 47. Concentración de *Saccharomyces cerevisiae*. Fuente: R. Schwan [9].

La concentración de levaduras aumenta en los primeros días, para luego descender y finalmente volver a aumentar según los experimentos, lo que difiere del modelo ya que en este no aumenta en los últimos días, sino que permanece con pendiente negativa.

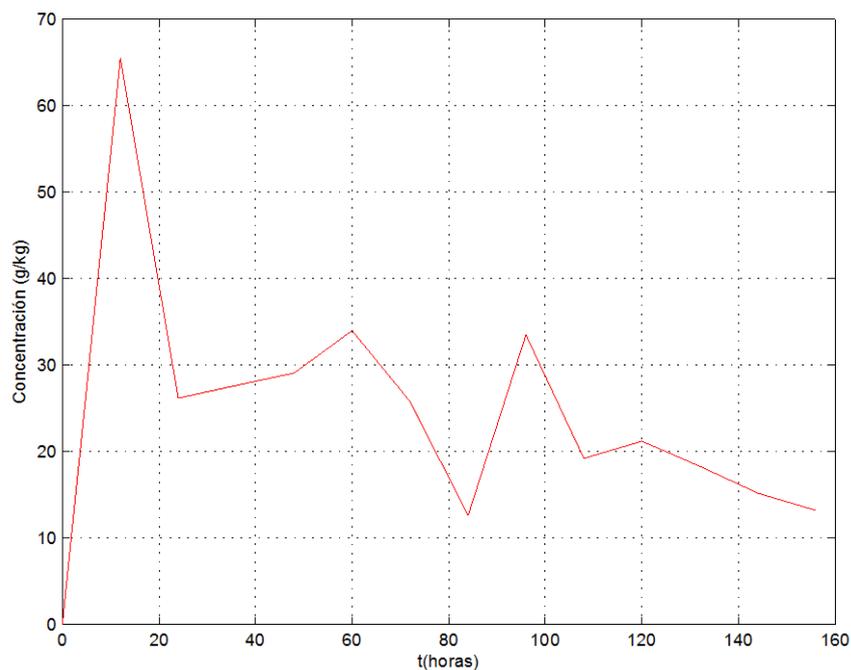


Figura 48. Concentración de etanol según experimentos. Fuente: R. Schwan [9].

Se observa que la concentración de etanol según estos experimentos, aumenta en el primer día de la fermentación y luego el resto de días sólo disminuye. Estos datos difieren del modelo, ya que, en este último, la concentración de etanol empieza a aumentar a partir del segundo día y luego desciende a partir del cuarto día.

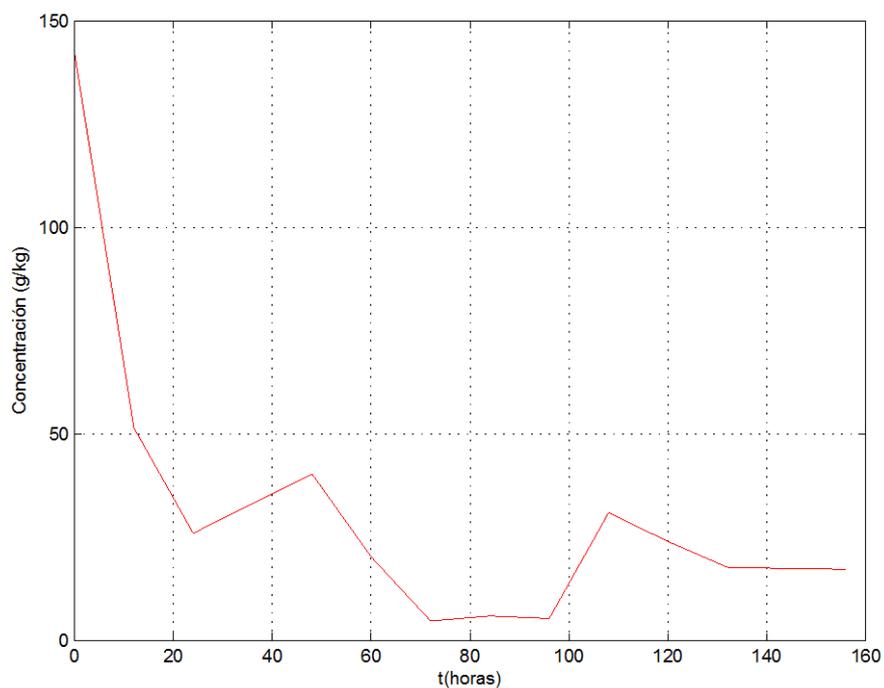


Figura 49. Concentración de glucosa según experimentos. Fuente: R. Schwan [9].

Se puede observar que la concentración de glucosa disminuye desde el comienzo de la fermentación por su degradación por las levaduras y las bacterias lácticas, tal y como también es representado en el modelo matemático.

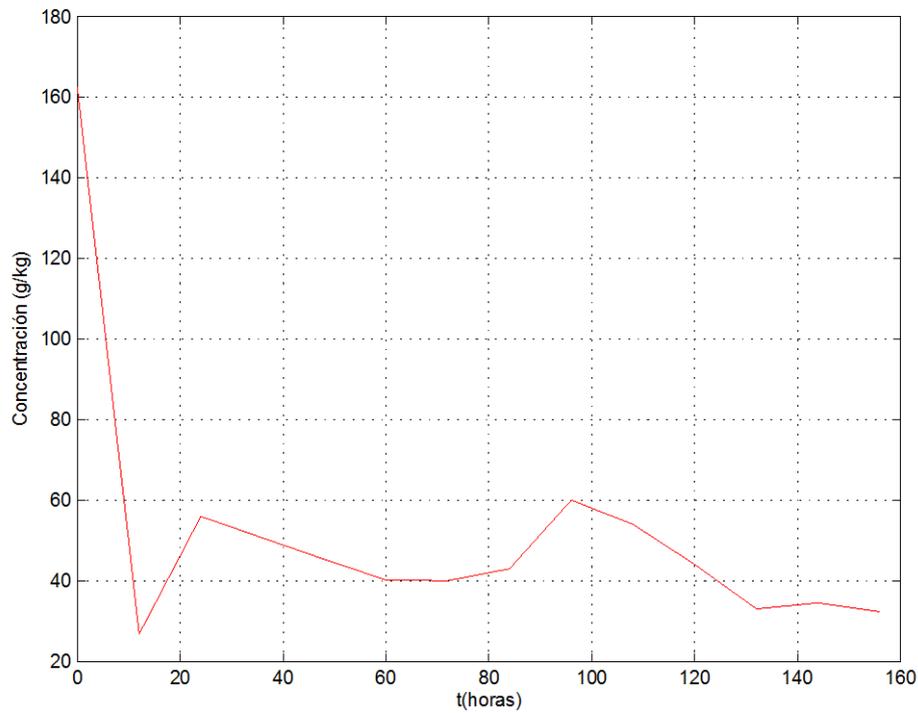


Figura 50. Concentración de fructosa según experimentos. Fuente: R. Schwan [9].

Tal como sucede con la glucosa, la concentración de fructosa desciende a lo largo del proceso de fermentación a partir del comienzo de esta por acción de las reacciones químicas que se van desarrollando por acción de las levaduras y las bacterias lácticas.

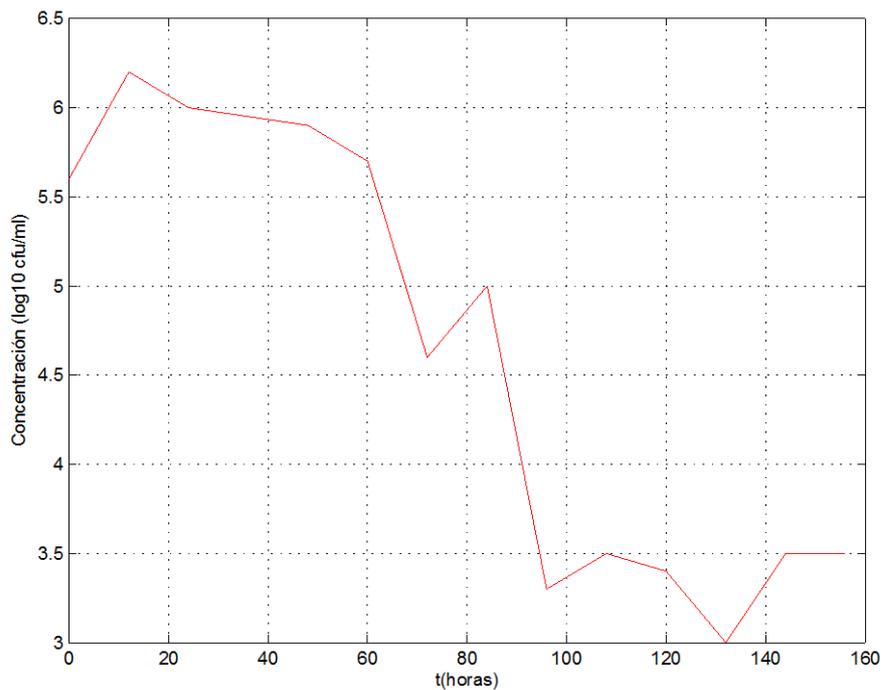


Figura 51. Concentración de *Lactobacillus plantarum* según experimentos. Fuente: R. Schwan [9].

La concentración de bacterias lácticas va descendiendo a partir del segundo día de fermentación, antes del cual aumenta. Esta curva es similar a la simulada anteriormente.

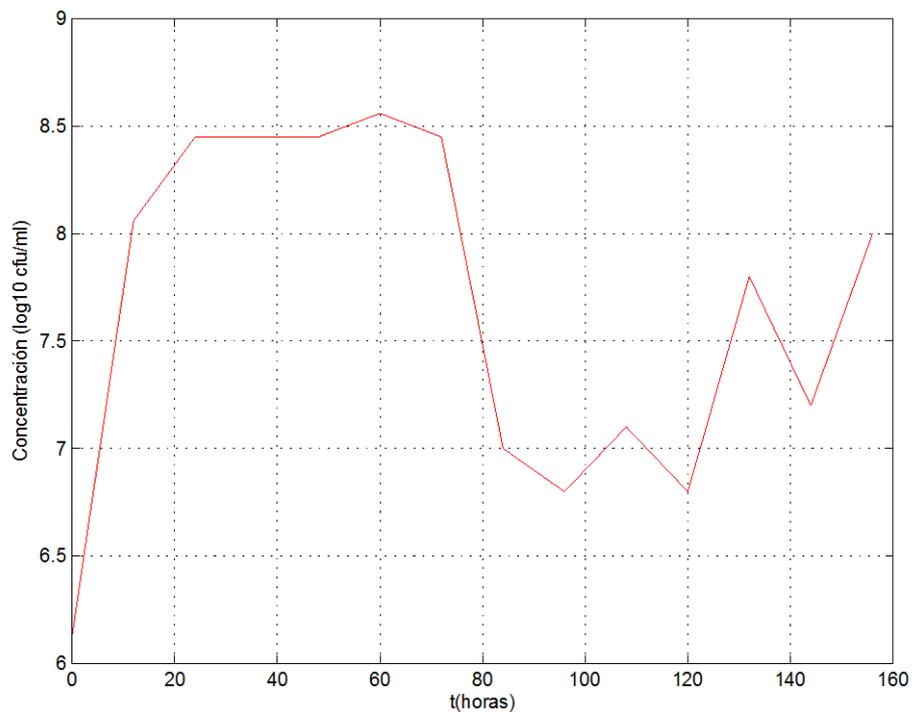


Figura 52. Concentración de *Acetobacter pasteurianus* según experimentos. Fuente: R. Schwan [9].

Se observa que en los primeros días la concentración de bacterias acéticas aumenta, luego desciende para incrementarse finalmente. Coincide con el modelo simulado a excepción del decrecimiento entre el tercer y cuarto día, ya que en el modelo continúa incrementándose todo el tiempo, lo que es coherente según la base teórica, sin embargo, este decrecimiento se puede deber a efectos de las altas temperaturas, ya que el crecimiento de la bacteria se atenúa.

2.6. Discusión.

En este capítulo se han presentados dos modelos matemáticos del balance másico y energético para el proceso de fermentación del cacao, siendo comparables a los resultados experimentales los relacionados al fermentador batch y se demuestra la dinámica del proceso adecuadamente. Para ambos reactores se ha mostrado una formulación en las ecuaciones de espacios de estado para las reacciones más características para el proceso de fermentación del cacao, como la descomposición de azúcares por acción de levaduras, producción de ácido láctico y acético por acción de bacterias lácticas y acéticas respectivamente.

En el balance energético se han preferido elegir como ecuaciones modeladas las referidas a la glucosa, fructosa y etanol, ya que son las que permanecen más durante la fermentación e influyen en mayor grado como reacciones exotérmicas, aumentando en conjunto la masa fermentativa de cacao en el cajón de fermentación. Vale recalcar, que, para el balance energético, sólo se ha tomado la temperatura en el lecho, sin incluir la transferencia de calor entre la masa, las paredes del cajón rotatorio y el ambiente externo, por lo que para tomar en cuenta el control, se tendría que tener en cuenta la geometría del fermentador y calcular los coeficientes específicos para cada material.

Capítulo 3.

Estimación de estados en proceso de fermentación de cacao

En los procesos de fermentación y de bioprocesos en general, una de las limitaciones más importantes en el monitoreo y optimización de biorreactores se debe principalmente a las mediciones químicas y biológicas de las variables involucradas en el proceso. La medición de la concentración de los principales componentes en los bioprocesos es de gran utilidad, ya que permiten la monitorización y control en línea del proceso. Se suelen tener las siguientes dificultades:

- El costo de los sensores y sus condiciones especiales para la medición (esterilización del sensor).
- Al medir se pueden degradar las propiedades hidrodinámicas de biorreactores complejos.
- Las técnicas de medición son frecuentemente destructivas.
- Se suelen tener solamente disponibles muestras discretas, no necesariamente periódicas, y algunas veces con un tiempo largo de análisis fuera de línea.

Por esta razón se suele optar por estimar el estado interno del biorreactor cuando sólo se poseen algunas medidas disponibles, como lo pueden ser gases, algunos compuestos, pH, humedad, entre otros. La estimación de las variables involucradas en los procesos al no poderse realizar en línea, se realiza en los sensores por software llamados también observadores de estado. Las mediciones por estimación de estado se realizan con sensores físicos y un algoritmo de estimación, el cuál es el observador de estado, cuyo funcionamiento consiste en estimar un estado incluyendo a su valor real en el proceso.

3.1. Observadores asintóticos

3.1.1. Conceptos básicos

- Observabilidad

Se sabe que, por definición, un sistema puede ser observable sí y solo si es posible determinar cualquier estado de un proceso de acuerdo con condiciones iniciales arbitrarias $\mathbf{x}(t) = \mathbf{x}_i$ mediante el uso de un registro finito de la salida $\mathbf{y}(\tau)$ para $t \leq \tau \leq T$. Si se tiene el siguiente sistema no lineal:

$$\dot{x} = f(x, u) \quad (87)$$

$$y = h(x, u) \quad (88)$$

donde $x(t) \in R_w^n$ es el estado del sistema, mientras que $y(t) \in R_w^n$ corresponde a la salida del sistema. $u(t) \in R^l$ es la entrada externa. Las funciones f y h son continuas en el tiempo t y suaves. Si $\phi(t, \mathbf{x}, \mathbf{u})$ es la trayectoria de las soluciones del estado correspondiente a una entrada u y a un estado inicial x , la cual es evaluada en intervalos temporales.

Si se tienen dos puntos $x_1, x_2 \in R^n$, los cuales pertenecen al sistema, para una entrada u se puede tener [33]

- \mathbf{x}_1 y \mathbf{x}_2 se dicen indistinguibles para la entrada u , si $h(\phi(t, \mathbf{x}_1, u), u(t)) = h(\phi(t, \mathbf{x}_2, u), u(t))$ para cualquier entrada u y para $t \geq 0$. Si esto no ocurre, entonces los estados \mathbf{x}_1 y \mathbf{x}_2 son distinguibles para u . Si se tiene para los estados \mathbf{x}_1 y \mathbf{x}_2 , que $\mathbf{x}_1 = \mathbf{x}_2$, se dice que el sistema es observable.

Se requiere a partir de la observación de y , la reconstrucción de x y de esta manera, determinar las condiciones del sistema. Considerando lo siguiente:

- Para $\mathbf{U} = (u_0, u_1, u_2, \dots)$, siendo U la secuencia infinita de control. Si $u = u_0$, sus derivadas serán:

$$\begin{aligned}
 \dot{u} &= u_0 \\
 \dot{u}_1 &= u_2 \\
 &\vdots \\
 \dot{u}_k &= u_{k+1}
 \end{aligned} \tag{89}$$

Y se tienen que $\mathbf{X} = (\mathbf{X}, u_0, u_1, \dots) = (\mathbf{x}, U)$.

$$\varphi_{i+1} = L_{f_i} \varphi_i(\mathbf{X}) = \sum_{j=1}^n \frac{\partial \varphi_i(\mathbf{X})}{\partial x_j} f_j + \sum_{k=0}^{\infty} \frac{\partial \varphi_i(\mathbf{X})}{\partial u_k} u_{k+1} \tag{90}$$

De esta manera, ahora se define

$$\psi(\mathbf{X}) = (\varphi_0, \varphi_1, \dots, \varphi_n).$$

Por lo que, se puede decir que un sistema es observable localmente si y solo si:

- $\text{rango}(OL) = \text{rango}\left(\frac{\partial \psi(\mathbf{X})}{\partial \mathbf{x}}\right) = n$
- Si $\varphi_0(\mathbf{X}) = \mathbf{h}(\mathbf{x}, u_0)$, entonces $\varphi_0 = \mathbf{h}$ y

$$\varphi_{i+1} = L_{f_i} \mathbf{h}(\mathbf{X}) = \sum_{j=1}^n \frac{\partial \mathbf{h}(\mathbf{x}, u_0)}{\partial x_j} f_j(\mathbf{x}, u_0) + \frac{\partial \mathbf{h}(\mathbf{x}, u_0)}{\partial u_0} u_1$$

Finalmente, con los conceptos previos, se define el concepto de observabilidad uniforme para sistemas no lineales [33]:

- **Observabilidad uniforme:** Cuando es observable para cualquier entrada limitada $u(t)$ y en cualquier intervalo de tiempo $[0, T]$, $T > 0$, de tal manera que el estado inicial está determinado dependiendo de la salida $y(t)$ y la entrada $u(t)$.
- Modelo general de un observador

Con un sistema que posee propiedades para observabilidad, se podrán realizar estimaciones de variables de estado a partir de entradas, salidas anteriores, el modelo matemático del proceso y un modelo de medición que relacione la variable medida con las variables del proceso. Para el monitoreo y operación efectiva de un proceso se tienen las siguientes componentes importantes:

- Variables de estado: Aquellas que solamente determinan el estado del proceso.
- Parámetros del proceso: Aquellos que afectan al estado del proceso, no a las variables de estado.

Es de vital importancia para los sistemas de control el uso de observadores de estados o parámetros cuando no se dispone en forma directa la información necesaria para la determinación del estado del proceso.

En la Figura 53 se puede apreciar, que con un observador se puede acoplar a un segundo sistema dinámico a uno primero gracias a la salida medida. Los modelos que se suelen tratar para bioprocesos son los basados en balances de masa, los cuales son del tipo no estructurado-no segregado, lo que significa que es un modelo simplificado que no expresa todos los detalles de los procesos que se llevan a cabo, de tal manera que se asumen errores en el modelado y en los parámetros.

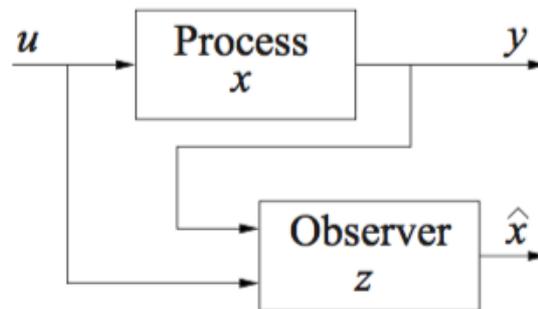


Figura 53. Principio de operación de un observador. Fuente [33]

Según la definición de observador, es un sistema auxiliar que es acoplado al sistema original donde se cumple según la definición clásica, que:

$$\frac{dz(t)}{dt} = \hat{f}(z(t), u(t), y(t)) \quad (91)$$

$$\mathbf{z}(t_0) = \mathbf{z}_0 \quad (92)$$

$$\hat{\mathbf{x}} = \hat{\mathbf{h}}(\mathbf{z}(t), \mathbf{u}(t), \mathbf{y}(t)) \quad (93)$$

Siendo $\hat{\mathbf{x}}(t)$ la estimación en línea de \mathbf{x} .

Se define a continuación el error de observación [33]:

$$\mathbf{error} = \mathbf{x}(t) - \hat{\mathbf{x}}(t) \quad (94)$$

Para la cual se debería cumplir:

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \|\mathbf{x}(t) - \hat{\mathbf{x}}(t)\| = 0 \quad (95)$$

Es decir, es un sistema en el que se estima un valor de salida que debe acercarse en el estacionario al valor real medido. En la realidad, los modelos biológicos tienen problemas inherentes como poseer ruido en las mediciones y que el modelo no puede estar completamente definido. En los observadores se manejan estos dos problemas de las siguientes maneras:

- Para el filtrado se usan filtros lineales y filtros de Kalman o Kalman extendido para poder filtrar el ruido.
 - Se rechazan los disturbios gracias a que la estructura misma de los observadores les permite cancelar los disturbios (por ejemplo, como ocurre en los observadores asintóticos).
 - Se diseñan límites para la estimación de variables y evitar las perturbaciones e incertidumbres en el modelo.
- Observadores para sistemas con basados en balances de masa

Los sistemas basados en balances de masa se suelen usar para la formulación de observadores de tipo no lineales, los cuales tienen como objetivo principal la estimación asintótica del estado-parámetro desconocido diseñándose a partir del modelo no lineal del proceso sin realizar ninguna linealización.

Se suelen usar para modelos de bioprocesos debido a que poseen un factor de error, en parte por la determinación de términos experimentales como la tasa de reacción y su

relación con la cinética química respecto al estado variable del modelo. Los errores que se puedan dar en el modelado pueden limitar el rendimiento del observador.

En estos casos la condición principal para el diseño de estos observadores recae en que un observador debe tener las suficientes variables medidas, tomando como hipótesis que la parte no observable del sistema es estable.

Se define a partir del balance de masa

$$\dot{\varepsilon} = kr(\cdot) + D(\varepsilon_{out} - \varepsilon) - Q(\varepsilon) \quad (96)$$

$$y = \begin{bmatrix} y_1 & y_2 & y_3 \end{bmatrix}^T \quad (97)$$

Siendo $\xi \in R^n, r \in R^p$. Se asume que las variables de estado medibles y pueden ser descompuestas en tres vectores [33]:

- y_1 : es conjunto de q variables medidas. Siendo ordenados en la notación como los primeros q componentes de ξ . $y_1 = \xi_1$
- y_2 : representa los flujos gaseosos medibles: $y_2 = Q(\xi)$.
- y_3 : representa otras mediciones disponibles, como pH, conductividad, entre otros.

El sistema queda expresado como [51]:

$$\frac{d\xi_1}{dt} = K_1 r(\xi) - D\xi_1 + D\xi_{IN,1} - Q_1(\xi) \quad (98)$$

$$\frac{d\xi_2}{dt} = K_2 r(\xi) - D\xi_2 + D\xi_{IN,2} - Q_2(\xi) \quad (99)$$

Donde:

$$K = \begin{pmatrix} K_1 \\ K_2 \end{pmatrix}, \xi_{IN} = \begin{pmatrix} \xi_{IN,1} \\ \xi_{IN,2} \end{pmatrix}, Q = \begin{pmatrix} Q_1 \\ Q_2 \end{pmatrix} \quad (100)$$

- Observadores asintóticos

El observador asintótico es considerado como un método intermedio entre los observadores exponenciales, los cuales requieren un conocimiento vasto del modelo del proceso, y el observador adaptativo, para el cual se incluye un estimador de estados y parámetros dentro del esquema, cuya principal aplicación se halla en procesos biotecnológicos. El siguiente observador asintótico ha sido desarrollado y analizado por Bastin y Dochain [51].

En el observador asintótico se parte de modelo dinámico general, en el cual se conocen las matrices K y $D\xi_1$, y como se ha visto previamente, se ha particionado el sistema de ecuaciones bioquímicas dependiendo de las variables medidas y las que serán estimadas. El modelo de observador asintótico presenta las siguientes características principales:

- Su estabilidad es adecuada bajo condiciones del proceso, siendo totalmente dependiente de la tasa de dilución.
- Su costo computacional es bajo, comparado, por ejemplo, con el filtro de Kalman extendido.
- No requiere conocer a detalle el modelo de la tasa de reacción.

Para el diseño de los observadores asintóticos se necesitan las dos siguientes hipótesis [51]:

- Se deben poseer un mayor número de cantidades medibles ($q \geq p$).
- La matriz K_1 debe ser de rango completo.

Por lo tanto, debe existir una matriz K_1 (de dimensiones $q \times p$) que admita inversa izquierda y se defina como:

$$GK_1 = I_{p \times p} \quad (101)$$

Se define una matriz A como: $A = -K_2G$, considerando los siguientes cambios de coordenadas:

$$\zeta_1 = \xi_1 \quad (102)$$

$$\zeta_2 = \mathbf{A}\xi_{s1} + \xi_2 \quad (103)$$

Con lo cual las Ecuaciones 108 y 109 se transforman en

$$\frac{d\zeta_1}{dt} = K_1 r(T_\zeta) - D\zeta_1 + D\zeta_{IN,1} - Q_1(T_\zeta) \quad (104)$$

$$\frac{d\zeta_2}{dt} = -D(\zeta_2 - \zeta_{IN,2}) - (\mathbf{A}Q_1(T_\zeta) + Q_2(T_\zeta)) \quad (105)$$

Se tiene [51]:

$$T = \begin{pmatrix} I_P & 0_{p,n-p} \\ -\mathbf{A} & I_{n-p} \end{pmatrix}, M = \begin{pmatrix} \mathbf{A} & I_{n-p} \end{pmatrix} \text{ y } \zeta_{in,2} = M\xi_{in} \quad (106)$$

Finalmente, la Ecuación 111 se puede expresar como:

$$\frac{d\zeta_2}{dt} = -D(\zeta_2 - \zeta_{IN,2}) - My_2 \quad (107)$$

Obteniéndose finalmente las ecuaciones fundamentales para el observador asintótico:

$$\frac{d\hat{\zeta}_2}{dt} = -D(\hat{\zeta}_2 - \zeta_{IN,2}) - My_2 \quad (108)$$

$$\hat{\xi}_2 = \hat{\zeta}_2 - Ay_1 \quad (109)$$

$$\mathbf{error} = \hat{\xi}_2 - \xi_2 = \hat{\zeta}_2 - \zeta_2 \quad (110)$$

Como se ha podido observar, el error de estimación depende de la tasa de disolución D , y se requiere que D no sea cero por un periodo prolongado de tiempo, es decir los reactores semicontinuos y continuos. La principal ventaja de este observador es su independencia con respecto a las tasas de reacción, la cual suele o ser desconocida, o ser estimada sin muchos datos experimentales por limitaciones de sensores. Sin embargo, su estructura de bucle abierto presenta desventajas, como que se asume que el modelo de balance de masas es perfectamente conocido y no presenta desviaciones ni se encuentra mal modelado.

3.2. Filtro de Kalman extendido

En los años recientes, las estrategias modernas de control automático han sido usadas de forma creciente, con la finalidad de incrementar la productividad y estabilidad operacional en industrias como procesos biotecnológicos, debido a que los controladores PID suelen tener dificultades en estos y pueden ocasionar resultados insatisfactorios. Dos problemas suelen aparecer en el control de bioprocesos, los cuales son la dificultad para la medición de un número importante de variables de estado y la variación en el tiempo para parámetros de los procesos. El conocimiento de estas variables y parámetros de estado es necesario para el control del proceso. Para solucionar esos problemas, se puede usar filtros no lineales u observadores de estados.

El filtro de Kalman es un algoritmo recursivo usado usualmente con la finalidad de tratar óptimamente a mediciones o estimar valores de las variables de estado de un sistema dinámico que ha incluido posibles disturbios y ruidos estocásticos. En este filtro se combina información determinística y estadística de un sistema y mediciones reales, y entregan una óptima estimación de estados con la finalidad la supervisión y el control de un proceso. Este filtro se considera uno de los mayores logros de la teoría de estimación del siglo XX, e hizo posible el desarrollo de diversas industrias como la de sistemas de navegación y seguimiento, los reactores químicos y biorreactores, modelos de dispersión de contaminantes, econometría, meteorología, entre otros. [34]

El rendimiento del filtro de Kalman se encuentra limitado a diversas condiciones que pueden no ser satisfechas en aplicaciones de ingeniería, perteneciendo solamente a la complejidad del sistema, incluyendo la posible no linealidad del proceso, la cual es una dificultad para la optimización del filtro y es inevitable en la mayoría de casos.

El filtro de Kalman es una alternativa a los observadores de estado. Ambos tipos poseen una estructura similar, pero los observadores son calculados a partir de una dinámica del error específica, en otras palabras, a partir de cuán rápido y estable se desea que converja a valores reales, asumiendo que también se tienen mediciones.

El algoritmo del filtro de Kalman fue desarrollado por Rudolf E. Kalman alrededor de 1960. Se tiene una versión continua y diversas discretas del filtro de Kalman. La versión más usada es la predictor-corrector en tiempo discreto. [34]

La sintonización de los parámetros del filtro no es sencilla y consume parte del tiempo en el diseño de este estimador, ya que se suele realizar por prueba y error. En menores escalas es posible la realización de un diseño más realista basado en análisis estadísticos en el proceso y mediciones tomadas. Esto puede ser logrado por condiciones de operación constante mientras se graban señales de salida a partir de dispositivos de medición. Sin embargo, en condiciones industriales y aplicaciones prácticas debido a que se puede alterar al proceso de diversas maneras, y de esta forma causar una desviación del estado estacionario del sistema. [37]

La dinámica de bioprocesos suele ser normalmente compleja y no puede ser definida completamente debido al gran número de microorganismos y de reacciones químicas que participan y se llevan a cabo respectivamente durante el tiempo de duración del proceso de estudio. En la fase de diseño del filtro de Kalman, se usan técnicas de simulación para ajustar a modelos de procesos y probar el performance de distintos tipos de filtros. [35]

Para realizar el algoritmo del filtro de Kalman, se requiere:

- El modelo dinámico del proceso.
- La estadística de los errores de medición y del modelo.
- Las condiciones iniciales de las variables de interés.

3.2.1. Conceptos básicos

Se puede considerar al ruido como una función de distribución normal o gaussiana, la cual está definida por la siguiente ecuación: [37]

$$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2 \cdot \pi \cdot \sigma^2}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}} \quad (111)$$

La cual requiere solamente dos parámetros en su definición: la media (μ) y la varianza (σ^2).

$$\mu = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i \quad (112)$$

$$\sigma^2 = \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \mu)^2 = \frac{1}{N-1} \left[\sum_{i=1}^N x_i^2 - \frac{1}{N} \left(\sum_{i=1}^N x_i \right)^2 \right] \quad (113)$$

Mientras que la desviación estándar de una estimación, para la cual se han tomado N mediciones de una variable, se tiene:

$$\hat{\sigma}_{\hat{\mu}} = \frac{\sigma}{\sqrt{N}} \quad (114)$$

Si se considera mediciones de las variables que han sido tomadas a la vez con dos instrumentos distintos con una diferente precisión, se puede tomar una estimación adecuada que tiene la siguiente media y varianza.

$$\hat{\mu}_3 = \frac{m_1 \cdot \sigma_2^2 + m_2 \cdot \sigma_1^2}{\sigma_1^2 + \sigma_2^2} \quad (115)$$

$$\hat{\sigma}_3^2 = \frac{1}{\frac{1}{\sigma_1^2} + \frac{1}{\sigma_2^2}} \quad (116)$$

De estas ecuaciones, se deduce que el error de estimación es menor que en las mediciones individualmente, es decir que es más preciso y exacto. Como conclusión, para cualquier medición tomada, no importa que tanto sea el error en ésta, de igual manera es útil para obtener una mejor estimación del valor real de la variable de interés.

Si las estimaciones se toman en instantes distintos, el mejor estimador del estado es el siguiente escrito en dos formas equivalentes. [34]

$$\hat{x}(t_2) = \hat{x}(t_1) + \left[\frac{\sigma_1^2}{\sigma_1^2 + \sigma_2^2} \right] [m_2 - \hat{x}(t_1)] \quad (117)$$

$$\hat{x}(t_2) = \hat{x}(t_1) + K(t_2) \cdot [m_2 - \hat{x}(t_1)] \quad (118)$$

De esta manera, el estimador luego de la primera medición es precisamente esta medición ($\hat{x}(t_1) = m_1$), mientras que K es la llamada ganancia de Kalman, finalmente $[m_2 - \hat{x}(t_1)]$ es

la innovación. Ahora se tiene la estructura “predictor-corrector” que se había mencionado anteriormente, la cual se encuentra basada en la información previa disponible, la cual genera una primera estimación, la cual se vuelve a corregir con la siguiente medición, de tal forma que la medición se puede reescribir de la siguiente forma:

$$\sigma_x^2(t_2) = \sigma_x^2(t_1) - K(t_2) \cdot \sigma_x^2(t_1) \quad (119)$$

Si se toma este procedimiento con respecto a una variable o señal que depende del tiempo, la cual posee una dinámica lineal simple mostrada a continuación, y a su vez se utiliza

$$\frac{dx}{dt} = u + w \quad (120)$$

Se tiene que u es la variable y w es un ruido que representa al efecto de las perturbaciones no medidas y errores en el modelo.

Si se actualiza la estimación justo antes de la toma de una nueva medición, se debe considerar la estimación del instante anterior y del modelo:

$$\hat{x}(t_3^-) = \hat{x}(t_2) + u \cdot [t_3 - t_2] \quad (121)$$

Para la cual, la estimación actualizada de la covarianza será:

$$\hat{\sigma}_x^2(t_3^-) = \hat{\sigma}_x^2(t_2) + \sigma_w^2 \cdot [t_3 - t_2] \quad (122)$$

Luego se procede a corregir la estimación a partir de una nueva medición (m_3). Ahora la media y la varianza de la estimación corregida será:

$$\hat{x}(t_3) = \hat{x}(t_3^-) + K(t_3) \cdot [m_3 - \hat{x}(t_3^-)] \quad (123)$$

$$\sigma_x^2(t_3) = \sigma_x^2(t_3^-) - K(t_3) \cdot \sigma_x^2(t_3^-) \quad (124)$$

$$K(t_3) = \frac{\sigma_x^2(t_3^-)}{\sigma_x^2(t_3^-) + \sigma_m^2} \quad (125)$$

El algoritmo recursivo de cálculo para el filtro de Kalman resumido en sistemas continuos es mostrado a continuación.

- Generador de la medición

$$\mathbf{x}_{k+1} = \mathbf{x}_k + \mathbf{u}_k \quad (126)$$

$$\mathbf{m}_{k+1} = \mathbf{x}_{k+1} + \mathbf{v}_{k+1}; \quad \mathbf{v}_k = \mathcal{N}(\mathbf{0}, \sigma_v^2) \quad (127)$$

- Modelo del proceso: para un proceso contaminado con ruido, siendo la constante “a” la representación de la incertidumbre del modelo.

$$\hat{\mathbf{x}}_{k+1}^- = \hat{\mathbf{x}}_k + \mathbf{a} \cdot \mathbf{u}_k \quad (128)$$

$$\sigma_{k+1}^{2-} = \sigma_k^2 + \sigma_w^2 \quad (129)$$

- Algoritmo corrector

$$\mathbf{K}_{k+1} = \frac{\sigma_{k+1}^{2-}}{\sigma_{k+1}^{2-} + \sigma_v^2} \quad (130)$$

$$\hat{\mathbf{x}}_{k+1} = \hat{\mathbf{x}}_{k+1}^- + \mathbf{K}_{k+1} \cdot (\mathbf{m}_{k+1} - \hat{\mathbf{x}}_{k+1}^-) \quad (131)$$

$$\sigma_{k+1}^2 = \sigma_{k+1}^{2-} - \mathbf{K}_{k+1} \cdot \sigma_{k+1}^{2-} = (1 - \mathbf{K}_{k+1}) \cdot \sigma_{k+1}^{2-} \quad (132)$$

Los valores de la matriz de covarianzas se deberán ajustar por prueba y error hasta conseguir una estimación que se considere adecuada según el modelo que se esté planteando.

- Modelo lineal discreto [51]

El filtro de Kalman es una generalización del algoritmo planteado anteriormente a modelos lineales con mayor complejidad, el cual incluye una mayor cantidad de variables. Se suele representar en modelo de espacios de estado discretos como se muestra a continuación.

$$\begin{aligned}
\mathbf{x}_{k+1} &= \mathbf{A}\mathbf{x}_k + \mathbf{B}\mathbf{u}_k + \mathbf{w}_k \\
\mathbf{y}_k &= \mathbf{C}\mathbf{x}_k + \mathbf{v}_k \\
\mathbf{x}_k &\in \mathcal{R}^n: \text{ vector de estados} \\
\mathbf{u}_k &\in \mathcal{R}^m: \text{ vector de entradas} \\
\mathbf{y}_k &\in \mathcal{R}^p: \text{ vector de mediciones} \\
\mathbf{w}_k &\in \mathcal{R}^n: \text{ vector de ruido de proceso; } \rho(\mathbf{w}) = N(0, \mathbf{Q}) \\
\mathbf{v}_k &\in \mathcal{R}^p: \text{ vector de ruido de mediciones; } \rho(\mathbf{v}) = N(0, \mathbf{R}) \\
\mathbf{A}, \mathbf{B} \text{ y } \mathbf{C} &\text{ son matrices constantes de dimensiones adecuadas}
\end{aligned} \tag{133}$$

Siendo las matrices de covarianzas de los ruidos \mathbf{Q} y \mathbf{R} , que se supondrán diagonales, es decir, serán modeladas como ruidos independientes.

El algoritmo del filtro de Kalman consta de dos grupos de ecuaciones: [51]

- Ecuaciones de actualización temporal

$$\hat{\mathbf{x}}_{k+1}^- = \mathbf{A}\hat{\mathbf{x}}_k + \mathbf{B}\mathbf{u}_k \tag{134}$$

$$\hat{\mathbf{P}}_{k+1}^- = \mathbf{A}\hat{\mathbf{P}}_k \mathbf{A}^T + \mathbf{Q} \tag{135}$$

- Ecuaciones de actualización por medición

$$\mathbf{K}_{k+1} = \hat{\mathbf{P}}_{k+1}^- \mathbf{C}^T (\mathbf{C}\hat{\mathbf{P}}_{k+1}^- \mathbf{C}^T + \mathbf{R})^{-1} \tag{136}$$

$$\hat{\mathbf{x}}_{k+1} = \hat{\mathbf{x}}_{k+1}^- + \mathbf{K}_{k+1} (\mathbf{y}_{k+1} - \mathbf{C}\hat{\mathbf{x}}_{k+1}^-) \tag{137}$$

$$\hat{\mathbf{P}}_{k+1} = (\mathbf{I} - \mathbf{K}_{k+1} \mathbf{C}) \hat{\mathbf{P}}_{k+1}^- \tag{138}$$

De estas ecuaciones se puede deducir que cuando el ruido de las mediciones es bajo, la predicción solo considera las mediciones:

$$\lim_{\mathbf{R} \rightarrow 0} \mathbf{K}_k = \mathbf{C}^{-1} \tag{139}$$

Y que cuando la covarianza estimada es pequeña, la predicción sólo considera el modelo.

$$\lim_{\hat{\mathbf{P}}_k \rightarrow 0} \mathbf{K}_k = 0 \quad (140)$$

- Filtro de Kalman extendido

Es un algoritmo recursivo para el tratamiento óptimo de mediciones de un proceso dinámico no-lineal o con parámetros variables o desconocidos. Representa una generalización del filtro de Kalman. Este filtro es de utilidad debido a que permite estimar variables no medidas mediante el uso de modelos más realistas del proceso, y es usualmente usado ya que gran parte de modelos dinámicos de interés científico son de naturaleza no lineal, los cuales tienen parámetros desconocidos y variantes.

Para el desarrollo de este algoritmo se requiere:

- Un modelo dinámico no lineal discreto del proceso.
- Matrices Jacobianas respectivas
- Modelo extendido que considere como estados los parámetros desconocidos o variantes.

Como se explicó anteriormente, los modelos de campos discretos pueden ser representados de la siguiente manera [51]

$$\begin{aligned} \mathbf{x}_{k+1} &= \mathbf{A}\mathbf{x}_k + \mathbf{B}\mathbf{u}_k + \mathbf{w}_k \\ \mathbf{y}_k &= \mathbf{C}\mathbf{x}_k + \mathbf{v}_k \\ \mathbf{x}_k &\in R^n : \text{vector de estados} \\ \mathbf{u}_k &\in R^m : \text{vector de entradas} \\ \mathbf{y}_k &\in R^p : \text{vector de mediciones} \\ \mathbf{w}_k &\in R^n : \text{vector de ruido de proceso; } p(\mathbf{w}) = N(0, \mathbf{Q}) \\ \mathbf{v}_k &\in R^p : \text{vector de ruido de mediciones; } p(\mathbf{v}) = N(0, \mathbf{R}) \\ \mathbf{A}, \mathbf{B} \text{ y } \mathbf{C} &\text{ son matrices constantes de dimensiones adecuadas} \end{aligned} \quad (141)$$

Si el proceso no lineal se linealiza.

$$\mathbf{x}_{k+1} \approx \tilde{\mathbf{x}}_{k+1} + \mathbf{A}(\mathbf{x}_k - \hat{\mathbf{x}}_k) + \mathbf{W}\mathbf{w}_k \quad (142)$$

$$\mathbf{z}_k \approx \tilde{\mathbf{z}}_k + \mathbf{H}(\mathbf{x}_k - \tilde{\mathbf{x}}_k) + \mathbf{V}\mathbf{v}_k \quad (143)$$

Siendo $\tilde{\mathbf{x}}_{k+1}$ y $\tilde{\mathbf{z}}_k$: el vector de estados y el vector de mediciones aproximados respectivamente, mientras que \mathbf{x}_{k+1} y \mathbf{z}_k : son los vectores de estados y de mediciones reales respectivamente.

Las matrices A , W , H y V , son matrices Jacobianas, variables en el tiempo.

$$A_{[i,j]} = \frac{\partial f_{[i]}}{\partial x_{[j]}}(\hat{\mathbf{x}}_k, \mathbf{u}_k, \mathbf{0}) \quad (144)$$

$$H_{[i,j]} = \frac{\partial h_{[i]}}{\partial x_{[j]}}(\hat{\mathbf{x}}_k, \mathbf{0}) \quad (145)$$

$$W_{[i,j]} = \frac{\partial f_{[i]}}{\partial w_{[j]}}(\hat{\mathbf{x}}_k, \mathbf{u}_k, \mathbf{0}) \quad (146)$$

$$V_{[i,j]} = \frac{\partial h_{[i]}}{\partial v_{[j]}}(\hat{\mathbf{x}}_k, \mathbf{0}) \quad (147)$$

Se define el error de predicción $\tilde{\mathbf{e}}_{x_k} = \mathbf{x}_k - \tilde{\mathbf{x}}_k$, y el residuo de las mediciones $\tilde{\mathbf{e}}_{z_k} = \mathbf{z}_k - \tilde{\mathbf{z}}_k$.

Siendo \mathbf{x}_k el valor que se desea estimar, y \mathbf{z}_k es el valor medido.

Se tienen las matrices Q y R como matrices de covarianza de los errores de medición y proceso respectivamente.

El algoritmo del filtro extendido consta de dos partes:

- Ecuaciones de actualización temporal (predicción)

$$\hat{\mathbf{x}}_{k+1}^- = f(\hat{\mathbf{x}}_k, \mathbf{u}_k, \mathbf{0}) \quad (148)$$

$$\hat{\mathbf{P}}_{k+1}^- = \mathbf{A}_k \hat{\mathbf{P}}_k \mathbf{A}_k^T + \mathbf{W}_k \mathbf{Q} \mathbf{W}_k^T \quad (149)$$

- Ecuaciones de actualización por medición (corrección)

$$\mathbf{K}_{k+1} = \hat{\mathbf{P}}_{k+1}^- \mathbf{H}_{k+1}^T \left(\mathbf{H}_{k+1} \hat{\mathbf{P}}_{k+1}^- \mathbf{H}_{k+1}^T + \mathbf{V}_{k+1} \mathbf{R}_{k+1} \mathbf{V}_{k+1}^T \right)^{-1} \quad (150)$$

$$\hat{\mathbf{x}}_{k+1} = \hat{\mathbf{x}}_{k+1}^- + \mathbf{K}_{k+1} \left(\mathbf{z}_{k+1} - h(\hat{\mathbf{x}}_{k+1}^-, \mathbf{0}) \right) \quad (151)$$

$$\hat{\mathbf{P}}_{k+1} = \left(\mathbf{I} - \mathbf{K}_{k+1} \mathbf{H}_{k+1} \right) \hat{\mathbf{P}}_{k+1}^- \quad (152)$$

Las matrices \mathbf{A}_k , \mathbf{W}_k , \mathbf{H}_k y \mathbf{V}_k son dependientes del tiempo y su valor se recalcula en cada iteración.

3.3. Discusión

En este capítulo se han presentado dos de los modelos matemáticos más usados para bioprocesos, analizándose sus metodologías para el diseño de observadores. Siendo para ambos necesaria su formulación según el modelo de balance másico para la fermentación del cacao.

Se ha observado que para el observador asintótico será necesaria la inclusión de un flujo de glucosa, ya que de otra manera no será posible su desarrollo en ecuaciones diferenciales, por lo que se podría enfocar su utilización en fases de experimentación avanzadas, en las que ya se operen con flujos adicionales en el fermentador. Sin embargo, se ha observado que este observador estima correctamente en periodos avanzados de la fermentación, es decir que tiene una baja velocidad de convergencia, por lo cual se recomendaría su uso e implementación en los últimos días de fermentación.

Por otro lado, el filtro de Kalman extendido si permite estimar correctamente el estado de los compuestos con distinta precisión y sin la necesidad de requerir de un flujo externo en el lecho del biorreactor. Por esta razón, el filtro de Kalman parece ser el más recomendado para filtrar el ruido de las señales medidas en los sensores y estimar otros compuestos como ácidos y azúcares con resultados aceptables.

Capítulo 4.

Aplicación de estimación de estados a proceso de fermentación de cacao

4.1. Observadores asintóticos

Se han elegido como compuestos medibles (ξ_1) a la glucosa, fructosa, dióxido de carbono y oxígeno. Mientras que los demás componentes del balance másico se encuentran en el vector que se va a estimar. Se observa el código simulado en el Anexo 3.

$$\xi_1 = \begin{bmatrix} X_0 \\ X_1 \\ X_8 \\ X_9 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \text{Glucosa} \\ \text{Fructosa} \\ \text{CO}_2 \\ \text{O}_2 \end{bmatrix} \quad (153)$$

$$\xi_2 = \begin{bmatrix} X_2 \\ X_3 \\ X_4 \\ X_5 \\ X_6 \\ X_7 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \text{Etanol} \\ \text{Ác.Láctico} \\ \text{Ác.Acético} \\ \text{S.serevissae} \\ \text{L.plantarum} \\ \text{A.pasterianus} \end{bmatrix} \quad (154)$$

De acuerdo a esto se calculan las demás matrices

$$K_1 = \begin{bmatrix} -1.9806 & 0 & -3.33 & 0 \\ 0 & -13.33 & 0 & 0 \\ k_{14} & k_{15} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -k_{16} \end{bmatrix} \quad (155)$$

$$K_2 = \begin{bmatrix} 0.3 & 3.25 & 0 & -9.55 \\ 0 & 2.5307 & 1.24 & 0 \\ 0 & 2.95 & 0 & 6.84 \\ 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 2 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (156)$$

$$G = \begin{bmatrix} 0 & 0.07502 & 1 & 0 \\ 0 & -0.07502 & 0 & 0 \\ -0.3003 & -0.04462 & -0.595 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1 \end{bmatrix} \quad (157)$$

$$A = \begin{bmatrix} 0 & 0.22131 & -0.3 & -9.55 \\ 0.3724 & 0.2452 & 0.7375 & 0 \\ 0 & 0.2213 & 0 & 6.84 \\ 0 & -0.07502 & -1 & 0 \\ 0.3003 & 0.1947 & 0.595 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (158)$$

Para poder incorporar el modelo de observadores no lineales, se incorporó un flujo externo de glucosa, la cual actúa incorporando el término de disolución D , del cual depende el error de convergencia del modelo de observadores asintóticos. Para un flujo de glucosa de 0.5 mg/l con un período de cada 12 horas durante 1.2 horas de flujo continuo. La respuesta del sistema para esta variación es la siguiente:

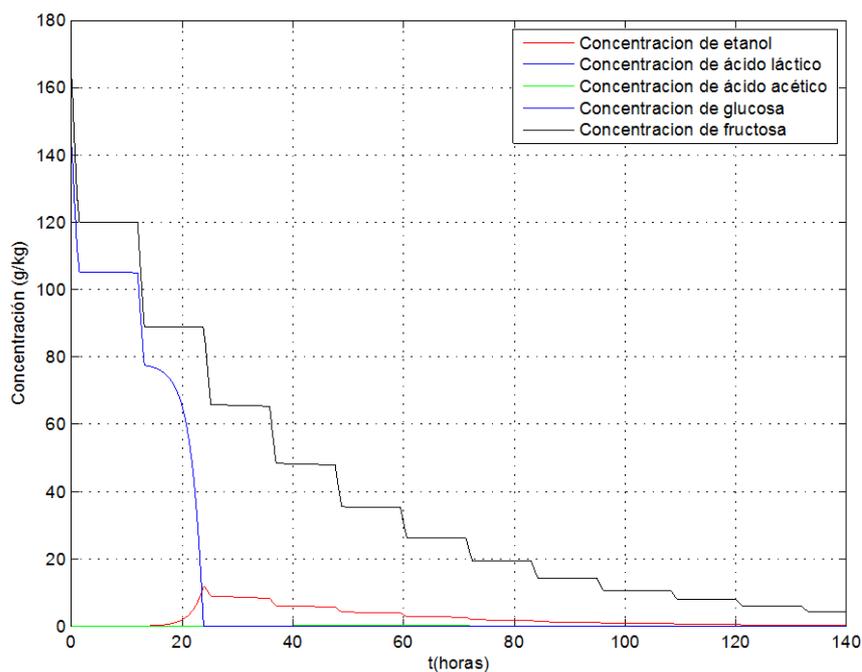


Figura 54. Concentración de compuestos frente al flujo de glucosa. Fuente: Propia

En la figura anterior se observa que la concentración de azúcares desciende de la manera esperada, aunque el descenso de la concentración de estos es menos pronunciado. La presencia de etanol es menor a lo largo de toda la fermentación. El porcentaje de ácido acético y ácido láctico es muy pequeño, por lo que casi no es apreciado en la gráfica, lo que indica que no se desarrolla en la fermentación debido al flujo ingresado de glucosa.

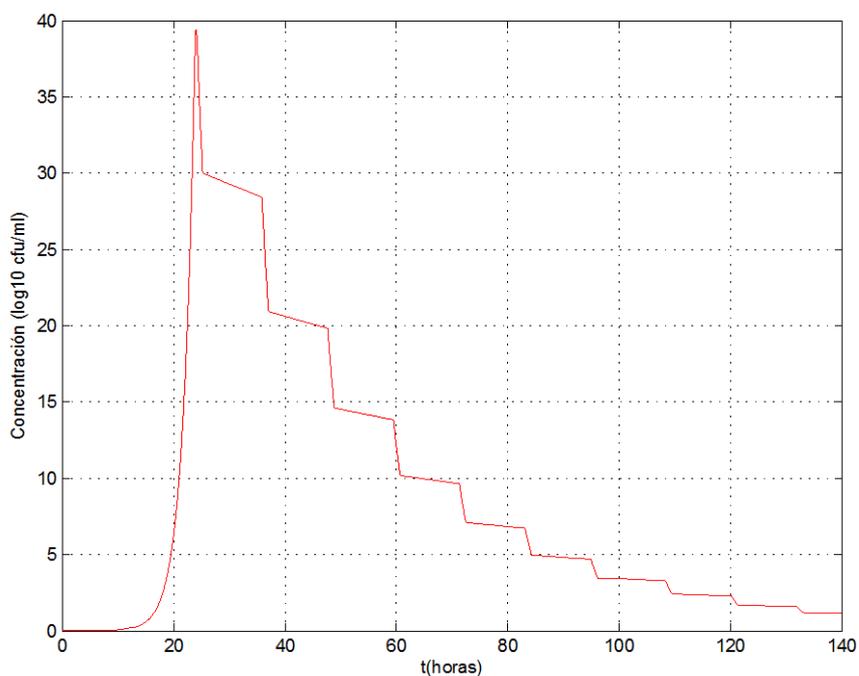


Figura 55. Concentración de *Saccharomyces cerevisiae* frente al flujo de glucosa. Fuente: Propia

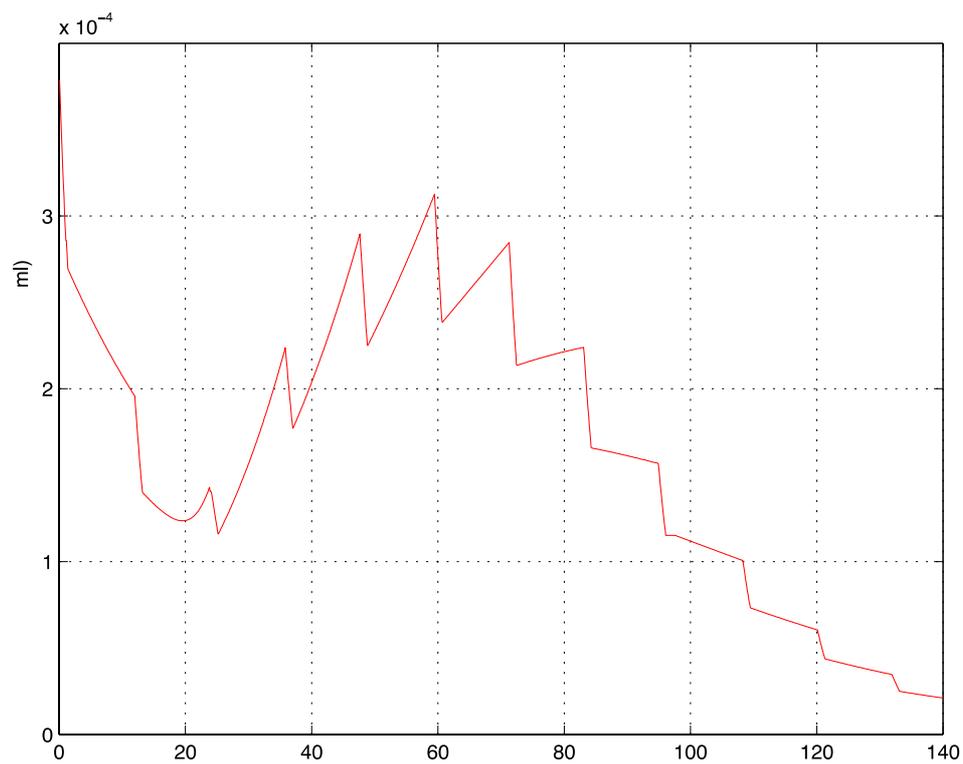


Figura 56. Concentración de *Acetobacter pasteurianus* frente al flujo de glucosa. Fuente:
Propia

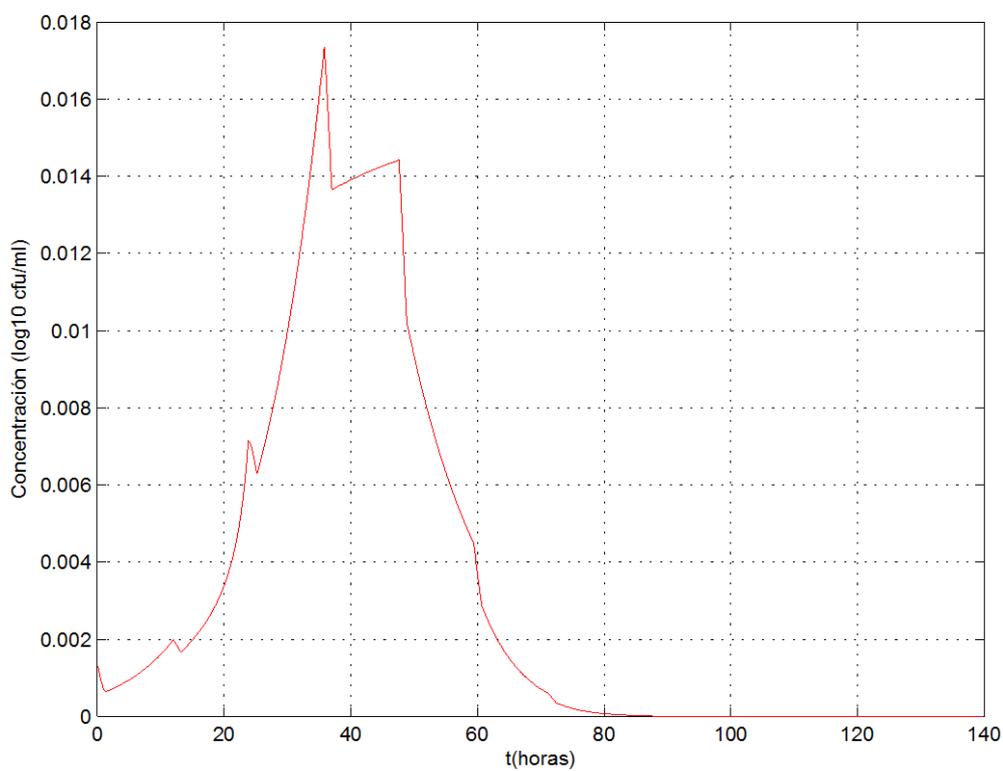


Figura 57. Concentración de *Lactobacillus plantarum* frente al flujo de glucosa. Fuente:
Propia

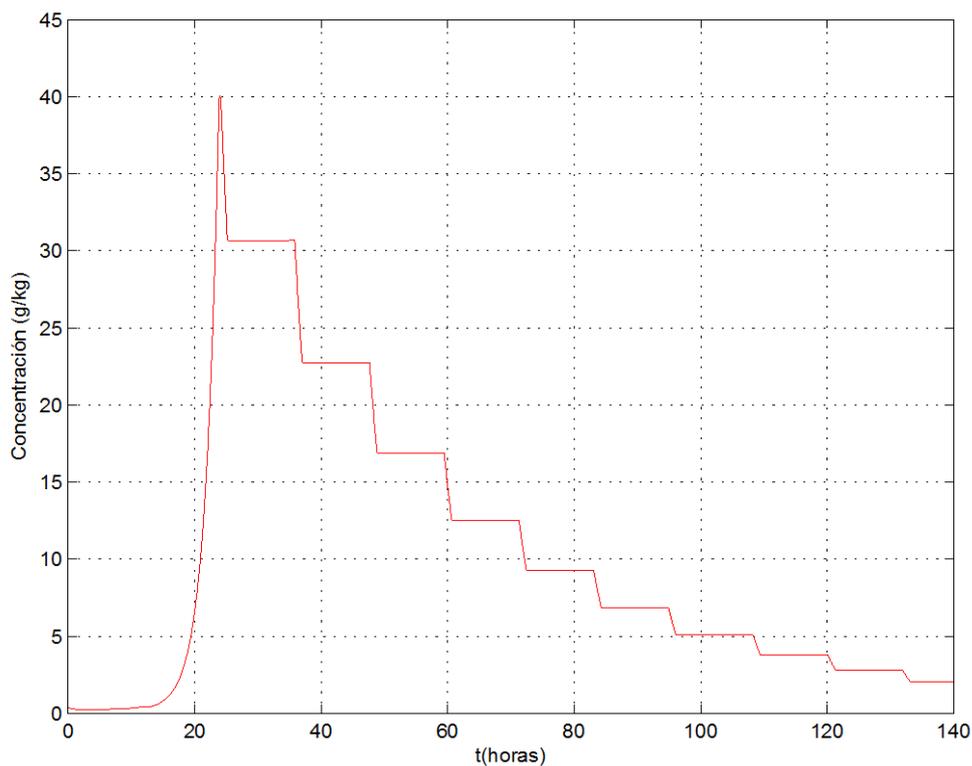


Figura 58. Concentración de dióxido de carbono frente al flujo de glucosa. Fuente: Propia

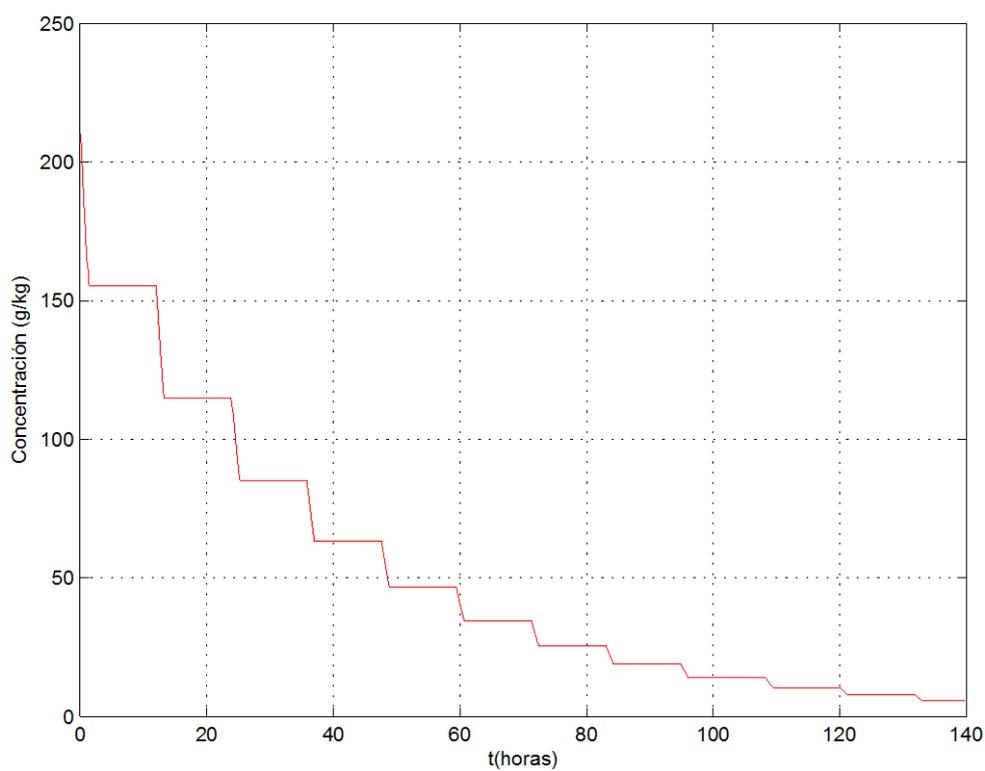


Figura 59. Concentración de oxígeno frente a flujo de glucosa. Fuente: Propia

Se puede observar en estas figuras presentadas que la concentración de levaduras aumenta notablemente impidiendo el desarrollo de las bacterias lácticas y acéticas. Por lo

que se produce una mayor concentración de etanol, y menos de los ácidos, ya que la acción de las bacterias que los generan no se ha desarrollado normalmente. Con respecto a la concentración de dióxido de carbono y oxígeno se puede decir que el flujo de glucosa logra aumentar la concentración de dióxido de carbono y disminuir la de oxígeno en mayor medida que, lo que es esperado en estas condiciones de fermentación.

Se tiene entonces el siguiente sistema:

$$\begin{bmatrix} \dot{Z}_2 \\ \dot{Z}_3 \\ \dot{Z}_4 \\ \dot{Z}_5 \\ \dot{Z}_6 \\ \dot{Z}_7 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -DX_0 \\ -D(X_1 - 0.3724 * Glucosa_{in}) \\ -DX_4 \\ -DX_5 \\ -D(X_6 - 0.3003 * Glucosa_{in}) \\ -DX_7 \end{bmatrix} \quad (159)$$

$$\hat{\xi}_2 = \hat{\zeta}_2 - Ay_1 \quad (160)$$

A continuación, se presentan las simulaciones realizadas.

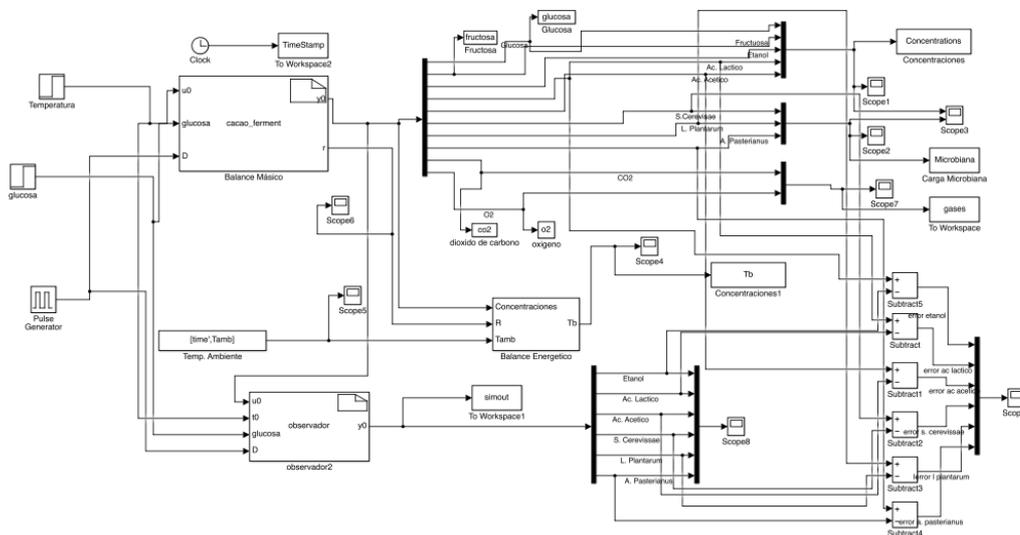


Figura 60. Simulación en Simulink. Fuente: Propia

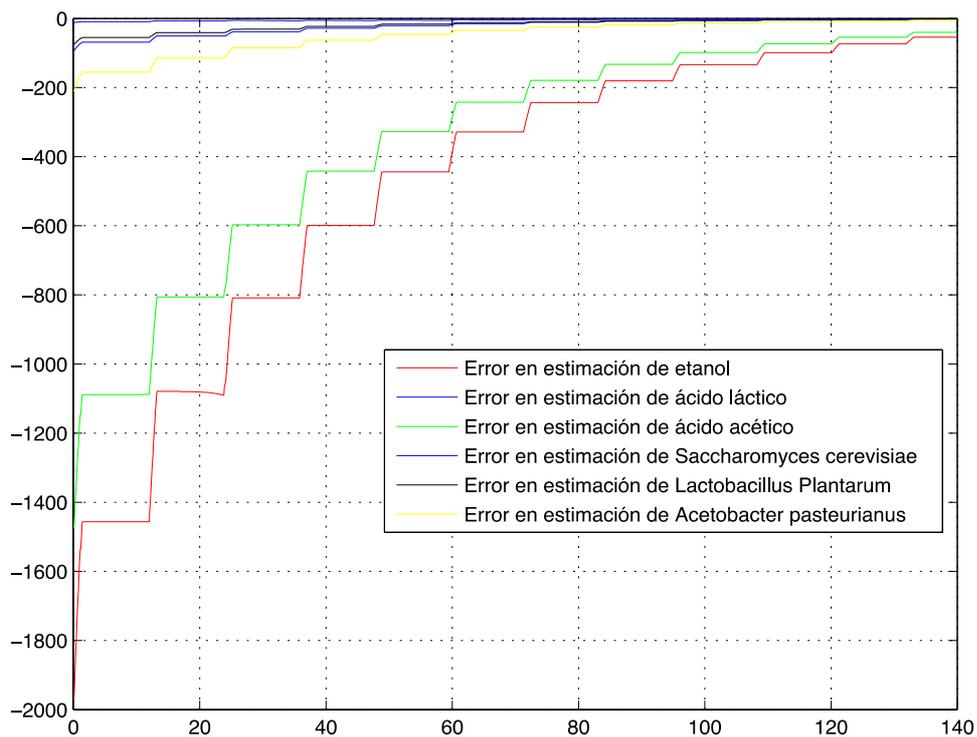


Figura 61. Errores de estimación. Fuente: Propia

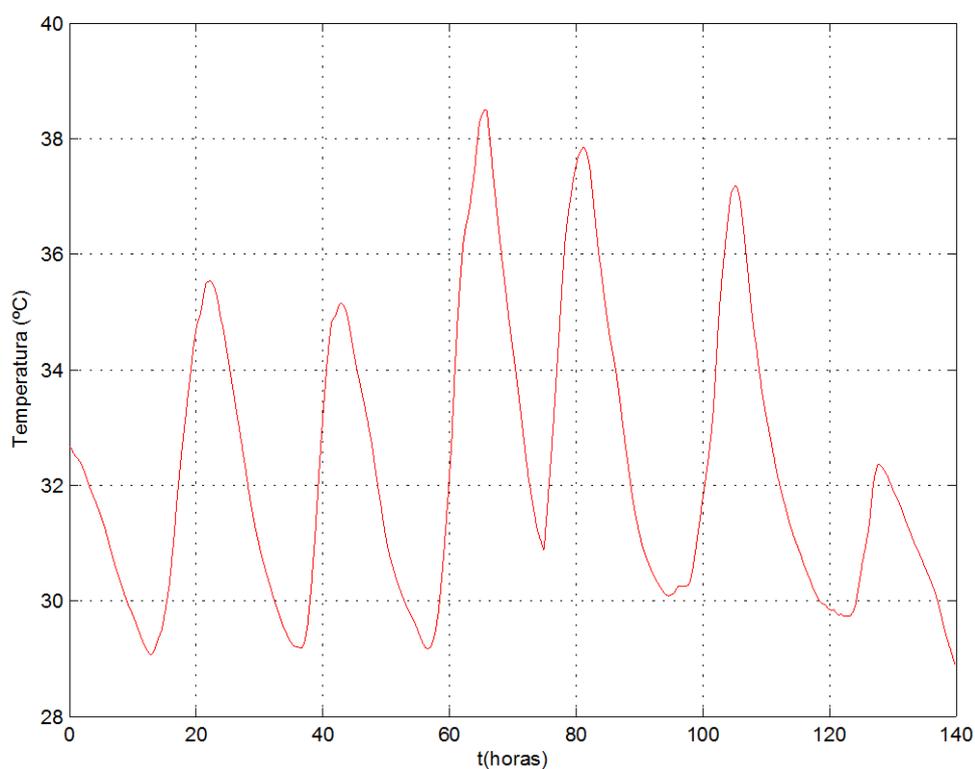


Figura 62. Temperatura en el lecho luego de flujo de glucosa. Fuente: Propia

Se puede observar en la Figura 55 que el observador converge a cero a medida que el tiempo transcurre con lo cual se podría decir que está estimando correctamente en

comparación con los resultados calculados mediante el modelo por balance másico del proceso de fermentación, sin embargo, esta estimación se observa que es sólo llega a estimar correctamente al culminar la fermentación. Con respecto a la temperatura del lecho se puede decir que desciende cada vez que ingresa el flujo de glucosa, por lo que no llega a pasar los 40°C, de manera que el inocular un flujo de glucosa puede ser una buena forma de controlar la temperatura del lecho y así manejar el desarrollo de ácido en el proceso de fermentación del cacao.

4.2. Filtro de Kalman extendido

Para aplicar el algoritmo del filtro de Kalman extendido al proceso de fermentación del cacao, se han elegido como variables medibles al dióxido de carbono (X_8) y al oxígeno (X_9), mientras que se estimará la concentración de glucosa (X_0), fructosa (X_1), etanol (X_2), ácido láctico (X_3) y ácido acético (X_4). Mediante la aproximación de Euler se definen las siguientes ecuaciones para cada compuesto mencionado anteriormente. Se toman las concentraciones de dióxido de carbono y oxígeno como las medidas, las cuales se toman de la salida del modelo matemático de fermentación del cacao.

$$X_{8_{k+1}} = X_{8_k} + (k_{14}r_1 + k_{15}r_2) * \Delta t + w_{8k} \quad (161)$$

$$X_{9_{k+1}} = X_{9_k} + (-k_{16}r_4) * \Delta t + w_{9k} \quad (162)$$

$$X_{0_{k+1}} = X_{0_k} + (-k_1r_1 - k_{10}r_3) * \Delta t + w_{0k} \quad (163)$$

$$X_{1_{k+1}} = X_{1_k} + (-k_3r_2 - k_6r_2) * \Delta t + w_{1k} \quad (164)$$

$$X_{2_{k+1}} = X_{2_k} + (k_2r_1 + k_5r_2 - r_4k_{12} - X_{2_k} kdE) * \Delta t + w_{2k} \quad (165)$$

$$X_{3_{k+1}} = X_{3_k} + (k_4r_2 + k_{11}r_3 + k_7r_2 - X_{3_k} kdL) * \Delta t + w_{3k} \quad (166)$$

$$X_{4_{k+1}} = X_{4_k} + (k_4r_{13} + k_8r_2) * \Delta t + w_{4k} \quad (167)$$

Para las velocidades de reacción química siguientes

$$r_1 = u_{max1} * X_5 * \frac{X_0}{k_{s1} + X_0} \quad (168)$$

$$r_2 = u_{\max 2} * X_6 * \frac{X_1}{ks_2 + X_1 + X_0^2 / ksi_2} \quad (169)$$

$$r_3 = u_{\max 2} * X_6 * \frac{X_0}{ks_3 + X_0 + X_0^2 / ksi_3} \quad (170)$$

$$r_4 = u_{\max 3} * X_7 * \frac{X_2}{ks_4 + X_2 + X_2^2 / ksi_4} \quad (171)$$

Se calculan los Jacobianos respectivos

$$A_{11} = 1$$

$$A_{12} = 0$$

$$A_{13} = \left(\left(\frac{X_5 * k_{14} * u_{\max 1} * ks_1}{(ks_1 + X_0)^2} \right) - \frac{k_{15} * u_{\max 2} * X_6 * 2 * X_0 * X_1}{(ksi_2 * (ks_2 + X_1 + (X_0^2) / ksi_2)^2)} \right) * dt$$

$$A_{14} = dt * k_{15} * u_{\max 2} * X_6 * \frac{(ks_2 + (X_0^2) / ksi_2)}{(ks_2 + X_1 + (X_0^2) / ksi_2)^2}$$

$$A_{15} = 0$$

$$A_{16} = 0$$

$$A_{17} = 0$$

$$A_{21} = 0$$

$$A_{22} = 1$$

$$A_{23} = 0$$

$$A_{24} = 0$$

$$A_{25} = -k_{16} * u_{\max 3} * X_7 * dt * \frac{(ks_4 - (X_2^2) / ksi_4)}{(ks_4 + X_2 + (X_2^2) / ksi_4)^2}$$

$$A_{26} = 0$$

$$A_{27} = 0$$

$$A_{31} = 0$$

$$A_{32} = 0$$

$$A_{33} = 1 + dt * \left(-\frac{k_1 * u_{\max 1} * X_5 * ks_1}{(ks_1 + X_0)^2} - k_{10} * u_{\max 2} * X_6 * \left(\frac{ks_3 - (X_0^2) / ksi_3}{(ks_3 + X_0 + (X_0^2) / ksi_3)^2} \right) \right)$$

$$A_{34} = 0$$

$$A_{35} = 0$$

$$A_{36} = 0$$

$$A_{37} = 0$$

$$A_{41} = 0$$

$$A42 = 0$$

$$A43 = dt * \left(\frac{k6 * umax2 * X6 * 2 * X0 * X1}{(ksi2 * (ks2 + X1 + (X0^2) / ksi2)^2)} + \frac{k3 * umax2 * X6 * 2 * X0 * X1}{(ksi2 * (ks2 + X1 + (X0^2) / ksi2)^2)} \right)$$

$$A44 = 1 - dt * (k6 + k3) * umax2 * X6 * \frac{(ks2 + (X0^2) / ksi2)}{(ks2 + X1 + (X0^2) / ksi2)^2}$$

$$A45 = 0$$

$$A46 = 0$$

$$A47 = 0$$

$$A51 = 0$$

$$A52 = 0$$

$$A53 = dt * \left(\frac{k2 * umax1 * X5 * ksi}{(ks1 + X0)^2} - \frac{k5 * umax2 * X6 * 2 * X0 * X1}{(ksi2 * (ks2 + X1 + (X0^2) / ksi2)^2)} \right)$$

$$A54 = \frac{dt * k5 * umax2 * X6 * (ks2 + (X0^2) / ksi2)}{(ks2 + X1 + (X0^2) / ksi2)^2}$$

$$A55 = 1 + dt * \left(- \frac{umax3 * X7 * k12 * (ks4 - (X2^2) / ksi4)}{(ks4 + X2 + (X2^2) / ksi4)^2} - kdE \right)$$

$$A56 = 0$$

$$A57 = 0$$

$$A61 = 0$$

$$A62 = 0$$

$$A63 = dt * \left(\frac{(k4 + k7) * umax2 * X6 * 2 * X0 * X1}{(ksi2 * (ks2 + X1 + (X0^2) / ksi2)^2)} + \frac{k11 * umax2 * X6 * (ks3 - (X0^2) / ksi3)}{(ks3 + X0 + (X0^2) / ksi3)^2} \right)$$

$$A64 = \frac{dt * (k4 + k7) * umax2 * X6 * (ks2 + (X0^2) / ksi2)}{(ks2 + X1 + (X0^2) / ksi2)^2}$$

$$A65 = 0$$

$$A66 = 1 + dt * (-kdL)$$

$$A67 = 0$$

$$A71 = 0$$

$$A72 = 0$$

$$A73 = dt * \left(\frac{k8 * umax2 * X6 * 2 * X0 * X1}{(ksi2 * (ks2 + X1 + (X0^2) / ksi2)^2)} \right)$$

$$A74 = dt * \left(\frac{k8 * umax2 * X6 * (ks2 + (X0^2) / ksi2)}{(ks2 + X1 + (X0^2) / ksi2)^2} \right)$$

$$A75 = \frac{dt * k13 * umax3 * X7 * k12 * (ks4 - (X2^2) / ksi4)}{(ks4 + X2 + (X2^2) / ksi4)^2}$$

A76 = 0

A77 = 1

Se realiza la simulación para un tiempo de muestreo de 0.1 horas, para 140 horas de fermentación e inclusión para el dióxido de carbono y para el oxígeno una fuente de ruido blanco. Se tomaron como condiciones iniciales de los compuestos: glucosa 142.4 g/ml, fructosa 162.5 g/ml, etanol 0 g/ml, ácido láctico 0 g/ml, ácido acético 0 g/ml, dióxido de carbono 0.35 g/ml , oxígeno 210 g/ml. Se muestra el código empleado para la simulación en el Anexo 4.

Para los siguientes parámetros del filtro, se obtienen los resultados siguientes.

$Q = [100\ 0\ 0\ 0\ 0\ 0\ 0; 0\ 0.001\ 0\ 0\ 0\ 0\ 0; 0\ 0\ 1\ 0\ 0\ 0\ 0; 0\ 0\ 0\ 1\ 0\ 0\ 0; 0\ 0\ 0\ 0\ 0.01\ 0\ 0; 0\ 0\ 0\ 0\ 0\ 10000\ 0; 0\ 0\ 0\ 0\ 0\ 0\ 1000];$

$R = 1;$

La simulación se realiza con la inclusión de un ruido blanco para simular el ruido en las mediciones de dióxido de carbono.

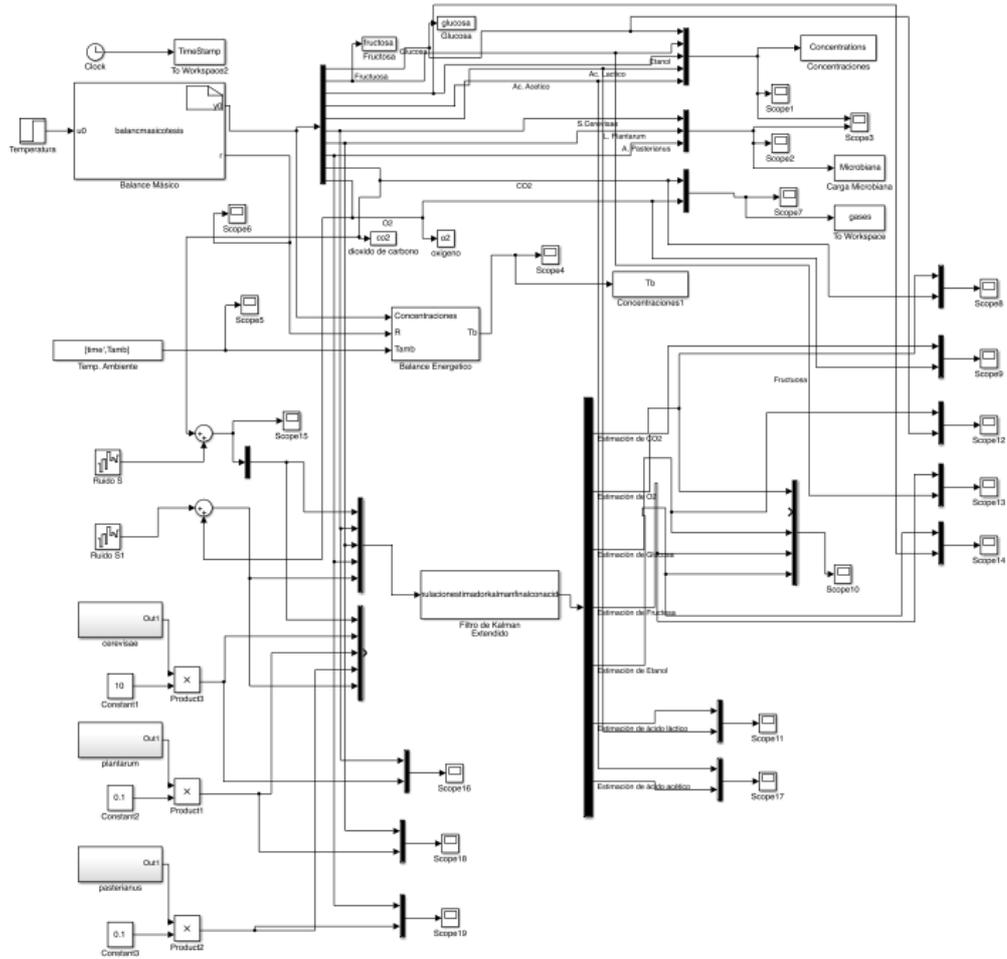


Figura 63. Simulación de estimador. Fuente: Propia

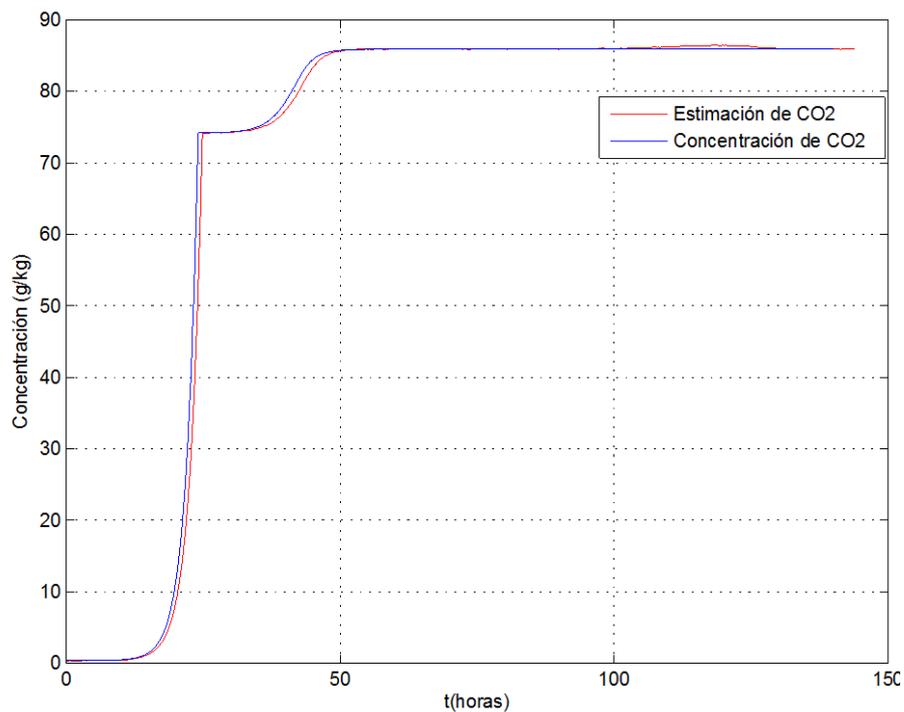


Figura 64. Comparación entre estimación de dióxido de carbono y resultados del modelo.

Fuente: Propia

Se observa que el estimador de Kalman sigue correctamente a la curva de CO₂, por lo que el resultado es el adecuado. Para el CO₂ el ruido es atenuado correctamente, por lo que el filtro de Kalman está sintonizado.

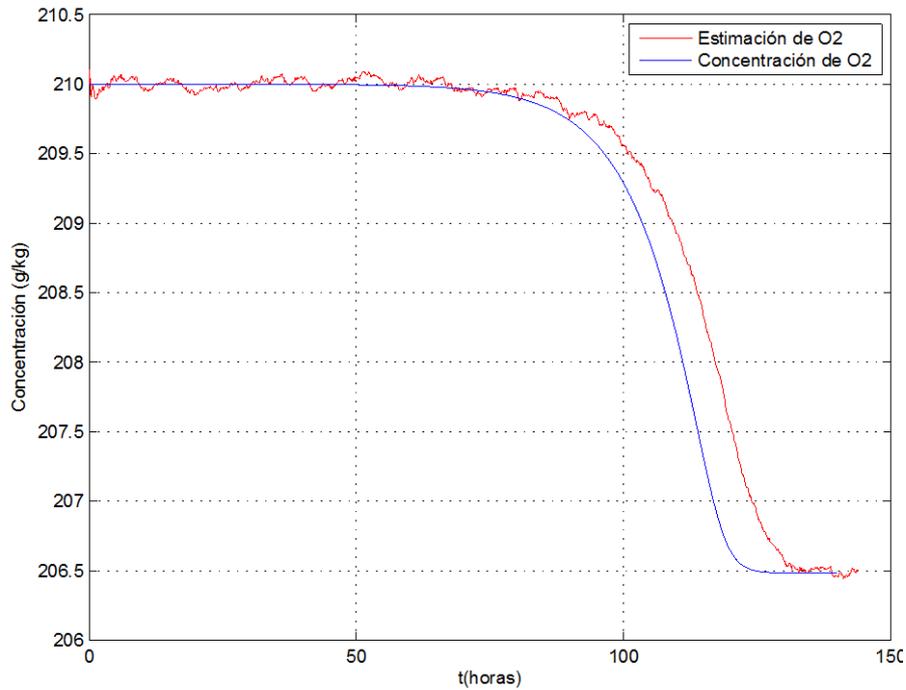


Figura 65. Comparación entre estimación de oxígeno y resultados del modelo. Fuente:
Propia

Se observa ahora que, en el caso del oxígeno, sigue a la curva del modelo, pero se percibe que el error del ruido blanco afecta en un mayor grado a la curva. En las últimas cincuenta horas estimadas, la estimación toma reduce con mayor rapidez la concentración de oxígeno, sin embargo, en el rango en que se encuentra (de 210 a 206.5 g/kg) no se aprecia una variación considerable.

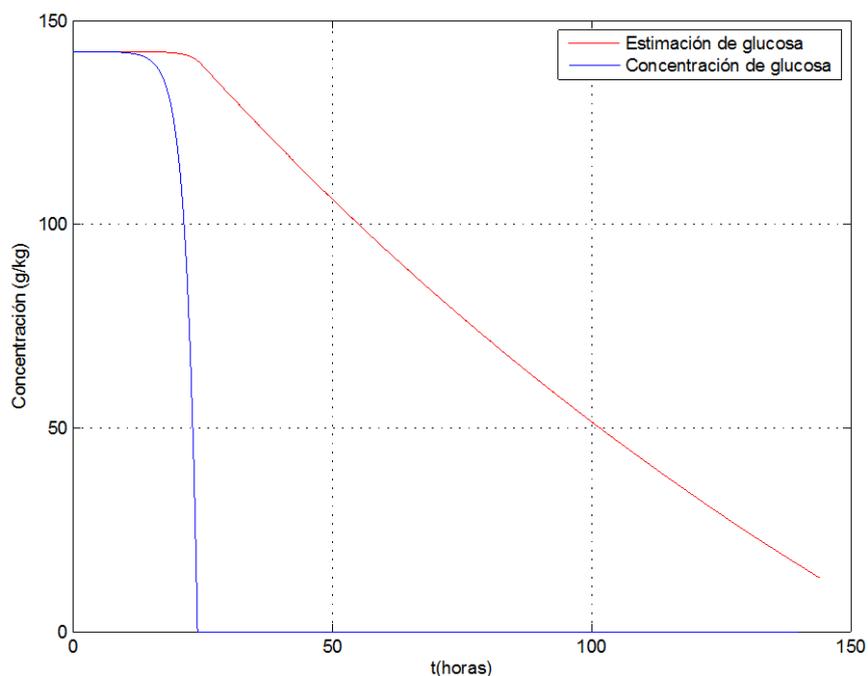


Figura 66. Comparación entre estimación de glucosa y resultados del modelo. Fuente:

Propia

Se observa que la estimación toma el descenso de la glucosa es más similar a la encontrada en los experimentos de fermentación, ya que según el modelo la concentración de glucosa desciende rápidamente luego del primer día de fermentación. Por lo tanto, el resultado es adecuado y se ajusta mejor a los experimentales.

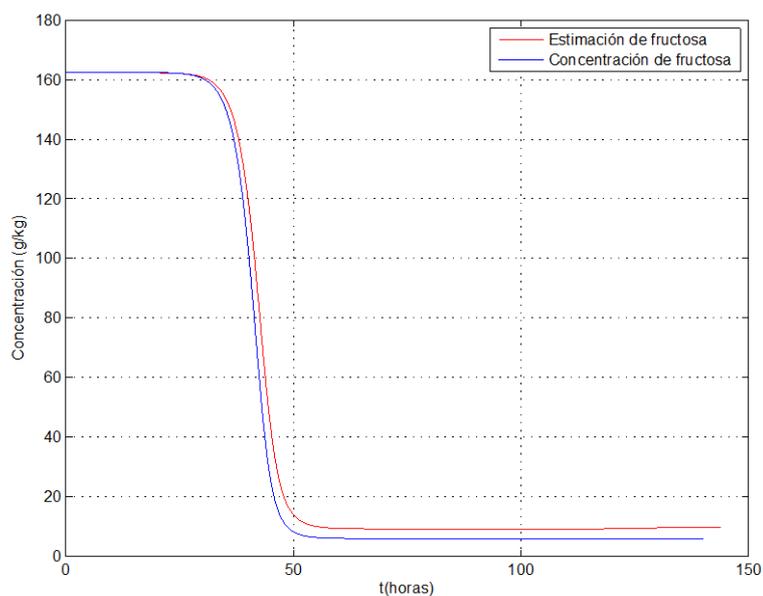


Figura 67. Comparación entre estimación de fructosa y resultados del modelo. Fuente:

Propia

Para esta gráfica, se observa que la concentración de fructosa sigue a la encontrada en el modelo y sin verse alterada por el ruido blanco, por lo que el resultado es óptimo.

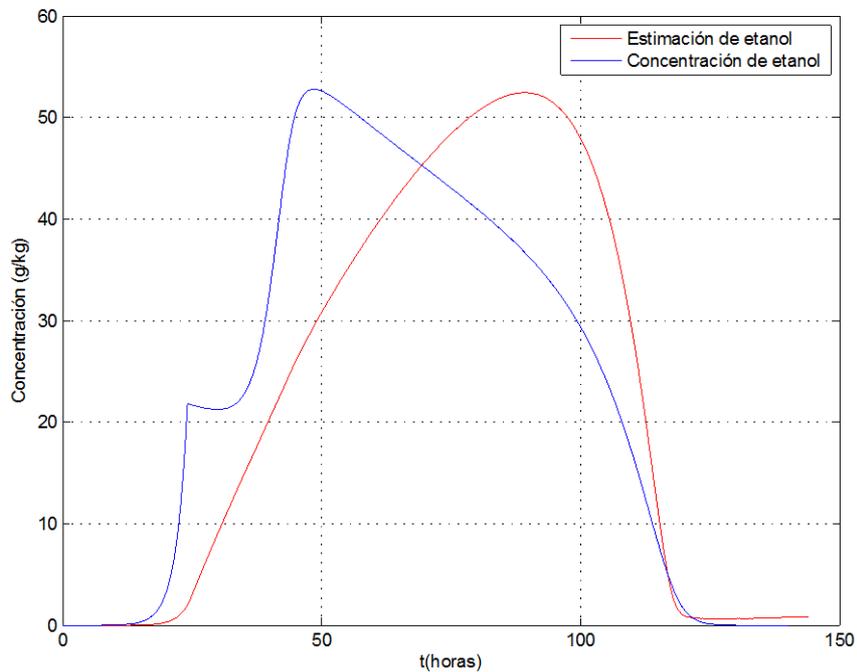


Figura 68. Comparación entre estimación de etanol y resultados del modelo. Fuente:
Propia

Se observa en la gráfica comparativa del etanol, que la gráfica de estimación es un reflejo en sentido contrario de esta, por lo que su resultado no sigue la dinámica del proceso simulado, pero coincide en el inicio y en el final de la concentración.

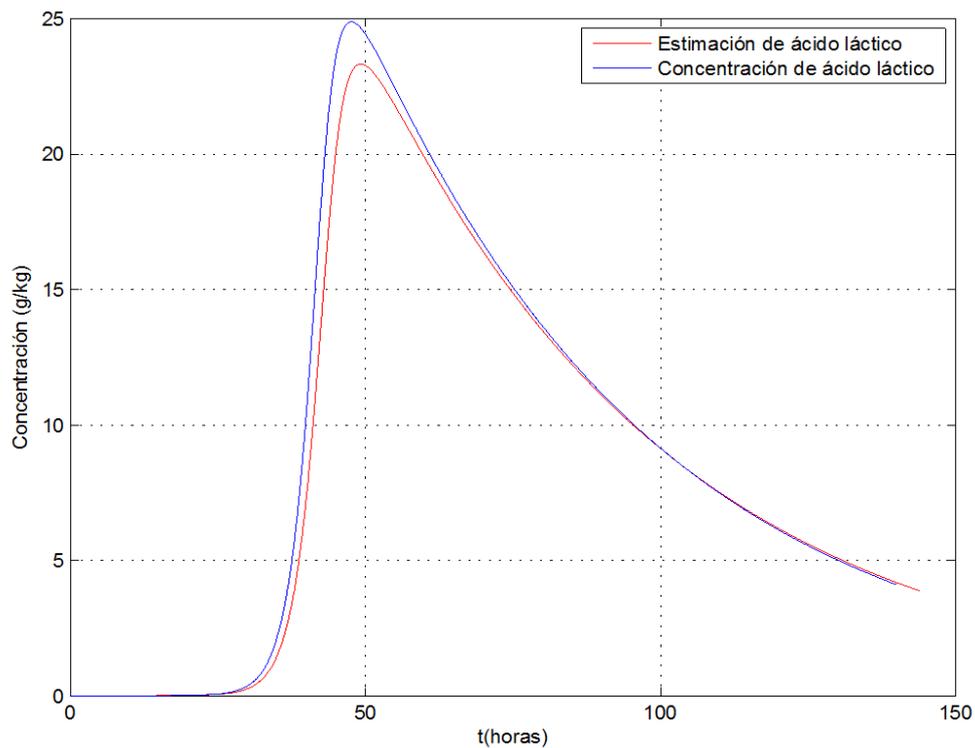


Figura 69. Comparación entre estimación de ácido láctico y resultados del modelo. Fuente: Propia

Para esta gráfica, se observa que la concentración de ácido láctico sigue a la encontrada en el modelo y sin verse alterada por el ruido blanco, por lo que el resultado es adecuado.

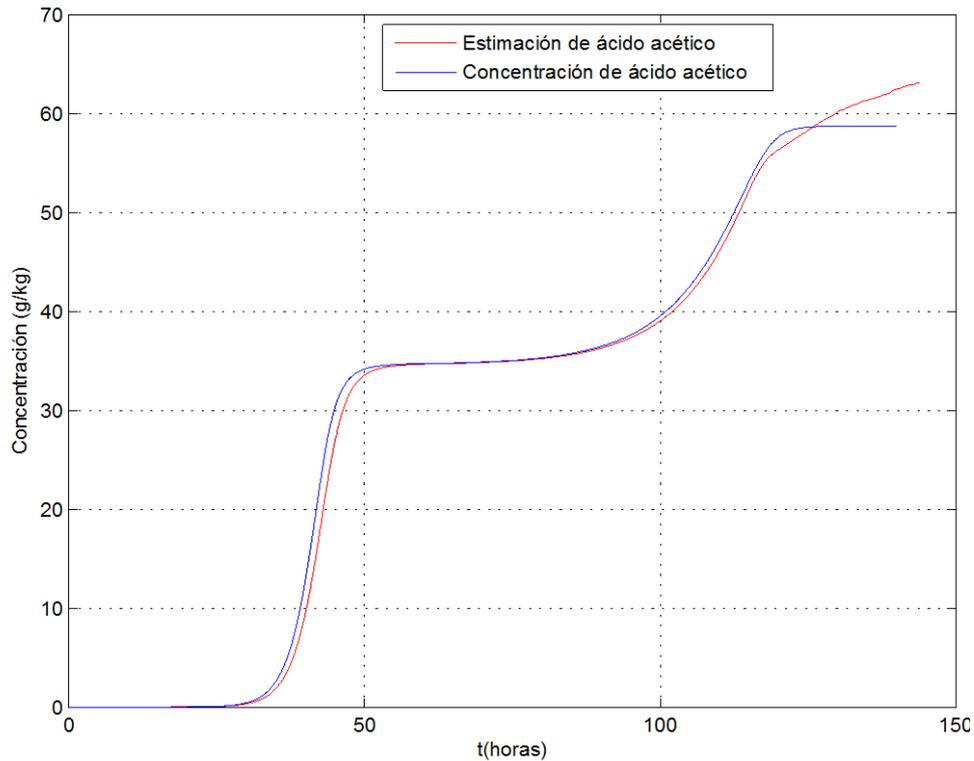


Figura 70. Comparación entre estimación de ácido acético y resultados del modelo. Fuente: Propia

Para esta gráfica, se observa que la concentración de ácido acético sigue a la encontrada en el modelo y sin verse alterada por el ruido blanco, por lo que el resultado es correcto exceptuando a la parte final, en la que, según la estimación, esta sigue aumentando, lo que difiere del modelo, en el cuál disminuye.

4.3. Discusión

Se ha observado que para el observador asintótico fue necesaria la inclusión de un flujo de glucosa, ya que de otra manera no era posible su desarrollo en ecuaciones diferenciales, por lo que se podría enfocar su utilización en fases de experimentación avanzadas, en las que ya se operen con flujos adicionales en el fermentador, para el cual el estimador de estado por observador asintótico operará, sin embargo se ha observado que este observador estima correctamente en periodos avanzados de la fermentación, es decir que tiene una baja velocidad de convergencia, por lo cual se recomendaría su uso e implementación en los últimos días de fermentación.

Por otro lado, el filtro de Kalman extendido si permite estimar correctamente el estado de los compuestos con distinta precisión y sin la necesidad de requerir de un flujo externo en el lecho del biorreactor. Por esta razón, el filtro de Kalman parece ser el más recomendado para filtrar el ruido de las señales medidas en los sensores y estimar otros compuestos como ácidos y azúcares con resultados aceptables.

Capítulo 5. Conclusiones

- Para el proceso de fermentación del cacao, por su accesibilidad, bajos costos tecnológicos para los agricultores en Piura y una alta productividad, los procesos de fermentación se deben llevar a cabo en estado sólido. Se recomienda en bandejas y tambor rotatorio sin deflectores, porque sería frecuente el aglutinamiento de masa fermentativa los estos. Son los más adecuados porque no requieren aireación forzada (no requieren máquinas especiales para esa función). Actualmente en Piura se realiza la fermentación en bandejas y se está estudiando en el Laboratorio de Sistemas Automáticos de Control, la viabilidad del uso de tambor rotatorio, que ya se ha desarrollado en otros países como Venezuela, Colombia o Ghana y se está construyendo un prototipo en la Universidad de Piura.
- El proceso de fermentación del cacao sigue, generalmente, un mismo proceso en todos los lugares donde se cultiva, con sutiles diferencias debido a factores externos (temperatura, presión, humedad, entre otros) o propios de la variación de la composición química y microorgánica en distintas regiones (como se ha visto anteriormente), por lo que se pueden encontrar los cambios químicos que ocurren y así caracterizarlos.
- El proceso de fermentación del cacao sigue, generalmente, un mismo proceso en todos los lugares donde se cultiva, con sutiles diferencias debido a factores externos (temperatura, presión, humedad, entre otros) o propios de la variación de la composición química y microorgánica en distintas regiones (como se ha visto anteriormente), por lo que se pueden encontrar los cambios químicos que ocurren y así caracterizarlos.

- La estimación de parámetros es un método realmente útil para la medición fuera de línea de variables del proceso, para el cuál se han necesitado mediciones de dióxido de carbono y oxígeno, con la finalidad de estimar la concentración de azúcares y ácidos. Entre los tipos de estimadores que se han estudiado los observadores asintóticos y mediante el filtro de Kalman extendido, siendo para el primero una condición necesaria el incluir un flujo ingresante. Mientras que para el segundo sí es posible el estudio de un modelo batch.
- De los resultados obtenidos por las simulaciones, se ha encontrado que el observador asintótico estimará estados del proceso cuando ya se encuentra en un estado avanzado de fermentación. Mientras que el filtro de Kalman extendido sí puede estimar en cualquier momento de la fermentación, por lo que es el más adecuado para su implementación, ya que no sólo filtra el ruido, sino que estima apropiadamente los estados de los compuestos que intervienen durante el proceso de fermentación del cacao.
- Como proyección para trabajos futuros, se puede usar el estimador por filtro de Kalman extendido en conjunto con las mediciones de gases, y de esta manera se podrá comparar y tener un mejor conocimiento de cómo se está realizando la fermentación en los cajones de fermentación o en el tambor rotatorio. Esta información puede ser útil para trabajos de control de la fermentación que se vienen desarrollando en el laboratorio de control automatizado en los cuales se está controlando la temperatura de la sala de fermentación para evitar el desarrollo de compuestos indeseables en la fermentación u otros efectos como la sobrefermentación, la cual ocasiona una mala calidad del grano final.

Referencias

1. Viniegra-González, G.; Favela-Torrez, E.; Aguilar, C.; Romero-Gómez, S.; Díaz-Godinez, G. y Augur, C. (2003). Artículo: “Advantages of fungal enzyme production in solid-state over liquid fermentation systems”. *Biochemical Engineering Journal* 13, 157-167.
2. H. A. Ruíz-Leza, R. M. Rodríguez-Jasso, R. Rodríguez-Herrera. Artículo: Diseño de biorreactores para fermentación en medio sólido. 2013
3. Mónica Lizeth Chávez González. Artículo: Aspectos básicos de la fermentación en medio sólido. Science Direct. 2011
4. H. Kh. Q. Ali and M. M. D. Zulkali (2002). Artículo: Design Aspects of Biorreactors for Solid. State fermentation: A review. *Chemist Journal*. Springer
5. David A. Mitchell. Nadia Krieger. Marin Berovic. *Solid-State Fermentation Biorreactors*. Springer. 2006.
6. Pandey, A., Selvakumar, P., Soccol, C.R., Nigam, P., 1999. Solid-state fermentation for the production of industrial enzymes. *Curr. Sci. India* 77, 149-162.
7. Rocío del P. Pineda. Artículo: Influencia de la fermentación y el secado al sol sobre las características del grano de cacao TSH 565 e ICS 60.
8. Pedro García Alamilla (2000). Tesis Maestría. Caracterización microbiana, bioquímica y cinética del proceso de fermentación tradicional durante el beneficio de cacao. Universidad Autónoma Metropolitana.
9. Rosane F. Schwan & Alan E. Wheals (2004) Artículo: The Microbiology of Cocoa Fermentation and its Role in Chocolate Quality, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44:4, 205-221, DOI: 10.1080/10408690490464104
10. Jacobo Rodriguez Campos. Artículo: Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa. *Food Chemistry* 132 (2012) 277-288.
11. Roelofsen, Pieter Anton. 1958. Libro: Fermentation, drying and storage of cocoa beans. Academic Press.
12. Jacobo Rodriguez Campos. Artículo: Dynamics of volatile and non-volatile compounds in Cocoa during fermentation and drying processes using principal components analysis. *Food Research International* 44 (2011) 250-258.
13. Rubén Rivera Fernández, Freddy Mecías, Ángel Guzmán (2012). “Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao*)

- L.) Tipo nacional” (Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí). Ecuador.
14. Clímaco Álvarez, Lumidla Tovar, Héctor García (2010). “Evaluación de la calidad comercial del grano del cacao (*Theobroma Cacao* L.) usando dos tipos de fermentadores”. Instituto Nacional de Investigación Agrícola. Venezuela.
 15. E. Portillo, L.Graziani de Farinas y E. Betancourt (2007). “Análisis químico del cacao criollo Porcelana (*Theobroma Cacao* L.) en el sur del lago de Maracaibo”. Departamento de Agronomía. Facultad de Agronomía. LUZ Apdo Postal. Venezuela.
 16. Ligia Ortiz de Bertorelli, Lucia Graziani de Fariñas y Gervaise Rovedas (2009). “Influencia de Varios Factores Sobre Características Del Grano Cacao Fermentado y Secado al Sol”; Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela.
 17. Elvis Portillo Paéz, Andreina Portillo (2012). Características químicas del cacao criollo (*Theobroma cacao* L.). Universidad de Zulia, Facultad de Agronomía. Venezuela.
 18. Oneida Torres, Lucía Graziani de Fariñas, Ligia Ortiz de Bertorelli (2003). “Efecto del tiempo transcurrido entre la cosecha y el desgrane de la mazorca del cacao tipo forastero de cuyagua sobre características del grano en fermentación”.. Universidad Central de Venezuela / Facultad de Agronomía. Venezuela.
 19. E. Portillo, L.Graziani de Farinas, E. Betancourt. (2004). “Efecto de los Tratamientos Post-Cosecha sobre la Temperatura y el Índice de Fermentación en la Calidad del Cacao Criollo Porcelana (*Theobroma Cacao* L.) en el Sur del Lago de Maracaibo” (Facultad de Agronomía de LUZ / Departamento de Química. UCV) Venezuela.
 20. Jacobo Rodríguez Campos. Artículo: Dynamics of volatile and non-volatile compounds in Cocoa during fermentation and drying processes using principal components analysis. *Food Research International* 44 (2011) 250-258.
 21. Jacobo Rodríguez Campos (2011). Tesis Doctorado. Estudio de los compuestos volátiles de *Theobroma cacao* L. durante el proceso tradicional de fermentación, secado y tostado. . Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. P. 43-50.
 22. Roelofsen, Pieter Anton. 1958. Libro: *Fermentation, drying and storage of cocoa beans*. Academic Press.
 23. Ángela Palacios Cedeño (2008). Tesis de Grado: Establecimiento de parámetros (físicos, químicos y organolépticos) para diferenciar y valorizar el cacao producido en dos zonas identificadas al norte y sur del litoral ecuatoriano. Universidad Técnica de Manabí. P. 92
 24. M. Fernández, J.R. Pérez-Correa, I. Solar, E. Agosin. *Automation of a solid substrate cultivation pilot reactor*. *Bioprocess Engineering* 16 (1996). Springer-Verlag 1996.
 25. Neil A. Campbell & Jane B. Reece (2005). Libro: *Biology*. P.175
 26. Alicia Decheco E. Tesis Maestría. Fermentaciones microbianas, fermentaciones lácticas de hexosas y pentosas. Universidad Nacional del Callao. Capítulos 2 y 3.
 27. Timothy Lefeber, Maarten Janssens, Nicholas Camu. (2010). Artículo: *Kinetic*

- Analysis of Strains of Lactic Acid Bacteria and Acetic Acid Bacteria in Cocoa Pulp Simulation Media toward Development of a Starter Culture for Cocoa Bean Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*. P.2,3
28. A. Montaña. Transformaciones bioquímicas durante la fermentación de productos vegetales. Instituto de la Grasa y sus Derivados. España. P. 4
 29. R. W. Eltz & P. J. Vandemark (1960). Artículo: Fructose Dissimilation by *Lactobacillus Brevis*. *Journal of Bacteriology*. 79(6):763. P.2
 30. Armando D. Assandri. Introducción al modelado y simulación de sistemas. Instituto de Automática. Universidad Nacional de San Juan-Argentina.
 31. J.Hong. Communications to the Editor. Yield Coefficients for Cell Mass and Product Formation. Biochemical Engineering Program, School of Engineering, University of California, Irvine, California 92717. Marzo 7,1988.
 32. Mitchell; N. Krieger; M. Berovic (eds). “Solid-State Fermentation Bioreactors” Fundamentals of Design and Operation. D.A ©Springer; Printed in Germany – 2006.
 33. Raúl Chiu Nazaralá. Análisis y desarrollo de observador empleando LMI aplicado a bioprocesos. (2009). Grupo de Control y Sistemas Complejos. Departamento de Ingeniería de Sistemas y Automática. Universidad Politécnica de Valencia.
 34. Ricardo Pérez & Claudio Gelmi. Filtro de Kalman. Universidad de Piura. Piura. 2015.
 35. Grewal, M. S., Kalman Filtering: Theory and practice using Matlab, 2nd ed., Wiley, New York, 2001.
 36. Maybeck, P. S., Stochastic Models, Estimation, and Control, Volume 1, Academic Press, New York, 1979.
 37. Welch, G. & G. Bishop, An Introduction to the Kalman Filter, UNC-Chapel Hill, TR 95-041, Octubre, 1998.
 38. Bevington, Data reduction and error analysis, 2003.
 39. Grewal, M. S., Kalman Filtering: Theory and practice using Matlab, 2nd ed., Wiley, New York, 2001.
 40. Leigh, J.R. (2004). Control Theory (2nd Edition). Institution of Engineering and Technology. Online version available at:
 41. Love, Jonathan (2007). Process Automation Handbook - A Guide to Theory and Practice. Springer - Verlag. Online version available at:
 42. Maybeck, P. S., Stochastic Models, Estimation, and Control, Volume 1, Academic Press, New York, 1979.
 43. Taylor, An introduction to error analysis, 1997.
 44. Welch, G. & G. Bishop, An Introduction to the Kalman Filter, UNC-Chapel Hill, TR 95-041, Octubre, 1998.
 45. Elena Bunciu y Dorin Sendrescu. State Estimation for an Anaerobic Bioprocess using an Interval Observer. 2011 2nd International Conference on Networking and Information Technology. Department of Automatic Control, University of Craiova, Craiova, Romania.
 46. Adriana Amicarello, Olga Quintero y Fernando di Sciascio. Behavior comparison

- for biomass observers in batch processes. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering* (2013).
47. Enrique J. Herrera-Lopez, Bernardino Castillo-Toledo, Jesús Ramirez-Córdova y Eugenio C. Ferreira. Takagi-Sugeno Fuzzy Observer for a Switching Bioprocess: Sector Nonlinearity Approach. Institute for Biotechnology and Bioengineering, Universidad de Minho, Braga.
 48. R. Dondo. Measurement Processing for State Estimation and Fault Identification in Batch Fermentations. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. Vol. 21, No. 03, pp. 367-392, July-September 2004.
 49. Ph. Bogaerts. A hybrid asymptotic-Kalman observer for bioprocesses. *Bioprocess Engineering* 20 (1999) 249-255. Springer-Verlag 1999.
 50. Lopez, Robinson. Desarrollo de un Modelo Matemático para la Fermentación del Cacao Criollo Blanco. Tesis Maestría. Universidad de Piura. Piura, Marzo 2016.
 51. Denis Dochain. *Automatic Control of Bioprocesses*. Editorial: John Wiley & Sons, Inc. 2001. USA.

Anexos

Anexo 1

Código modelo matemático del biorreactor en Ecosimpro. Fuente: Propia

Código del modelo matemático del biorreactor:

```
COMPONENT reactor
DATA
--CTES DEL MODELO
REAL Yxs=0.5
REAL ms=0
REAL Ym=0.5
REAL Yw=0.3
REAL awg=0.87
REAL Yq= 8.366*10**6
REAL hws=5
REAL yinv=2.414*10**6
--COEFICIENTES CALORIFICOS
REAL cpm=1000
REAL cpw=4184
REAL cpg=1006
REAL cpv=1880
REAL cpb=420
REAL pi=3.14159

-GEOMETRIA
REAL D=0.75
REAL L=1
REAL z=0.05

--OTRAS CTES
REAL G=1.0073
REAL s=0.01057
REAL F=0.01
REAL Hin=0.1
REAL Tin=30 –TEMPERATURA FLUJO INGRESANTE
REAL Ag=1
REAL Ts=30 –TEMPERATURA ALREDEDORES
```

REAL B=5

REAL c1=0.6—CTE AJUSTE

REAL c2=0.1- -CTE AJUSTE

REAL c3=1.2 --CTE AJUSTE

DECLS

REAL k1, k2,k4,k5,k6,k7,k9,sacarosa,glucosa, fructosa, citrico, lactico, acetico, etanol

REAL M, X, W, Tb, Tw, Th, H, H1, H2, H4,H5, H6, H7, H9, b, c, i, p, f

REAL Ahw, Aws, Abh, Abw, mh2o,kw, hbh, Wsat, hbw , hhw, evap ,Heat

CONTINUOUS

--concentraciones

sacarosa = $(-1.2491 * 10^{**(-07)}) * (\text{TIME}/3600)^{**4} + (3.8954 * 10^{**(-05)}) * (\text{TIME}/3600)^{**3} + (-0.0031) * (\text{TIME}/3600)^{**2} - 0.1067 * (\text{TIME}/3600) + 20.5725$

glucosa = $(1.42416264235728 * 10^{**(-09)}) * (\text{TIME}/3600)^{**6} + (-6.67113797676066 * 10^{**(-07)}) * (\text{TIME}/3600)^{**5} + (0.000122762057753414) * (\text{TIME}/3600)^{**4} + (-0.0113049245358835) * (\text{TIME}/3600)^{**3} + (0.546447357631883) * (\text{TIME}/3600)^{**2} + (-13.0719716433509) * (\text{TIME}/3600) + 148.656935171454$

fructosa = $(2.06199033766137 * 10^{**(-09)}) * (\text{TIME}/3600)^{**6} + (-9.87618111886855 * 10^{**(-07)}) * (\text{TIME}/3600)^{**5} + (0.000185142747301923) * (\text{TIME}/3600)^{**4} + (-0.0171325116793601) * (\text{TIME}/3600)^{**3} + (0.802637125247503) * (\text{TIME}/3600)^{**2} + (-17.0610324868404) * (\text{TIME}/3600) + 160.595640453657$

lactico = $(-2.23639730762679 * 10^{**(-10)}) * (\text{TIME}/3600)^{**6} + (1.01041271322939 * 10^{**(-07)}) * (\text{TIME}/3600)^{**5} + (-1.78211583673094 * 10^{**(-05)}) * (\text{TIME}/3600)^{**4} + (0.00158200796166226) * (\text{TIME}/3600)^{**3} + (-0.0762435470249562) * (\text{TIME}/3600)^{**2} + (1.83831127141703) * (\text{TIME}/3600) + 0.437055041544875$

acetico = $(1.26639672194210 * 10^{**(-10)}) * (\text{TIME}/3600)^{**6} + (-5.56327174136299 * 10^{**(-08)}) * (\text{TIME}/3600)^{**5} + (9.42015470353105 * 10^{**(-06)}) * (\text{TIME}/3600)^{**4} + (-0.000756789412002267) * (\text{TIME}/3600)^{**3} + (0.0259843937247949) * (\text{TIME}/3600)^{**2} + 0.192087274375335 * (\text{TIME}/3600) + 0.001$

citrico = $(-3.33379994713373 * 10^{**(-10)}) * (\text{TIME}/3600)^{**6} + (1.49855244636234 * 10^{**(-07)}) * (\text{TIME}/3600)^{**5} + (-2.55119398175713 * 10^{**(-05)}) * (\text{TIME}/3600)^{**4} + (0.00201506434685687) * (\text{TIME}/3600)^{**3} - 0.0703172687555518 * (\text{TIME}/3600)^{**2} + (0.623780002788685) * (\text{TIME}/3600) + 16.1036521251608$

etanol = $(-1.60465594018017 * 10^{**(-09)}) * (\text{TIME}/3600)^{**6} + (7.61870354064567 * 10^{**(-07)}) * (\text{TIME}/3600)^{**5} + (-0.000139077789321300) * (\text{TIME}/3600)^{**4} + 0.0121538786636146 * (\text{TIME}/3600)^{**3} + (-0.511228838582931) * (\text{TIME}/3600)^{**2} + 8.71253122590971 * (\text{TIME}/3600) + 0.01$

--COMPONENTES QUIMICOS

sacarosa' = $-k1 * \text{sacarosa}$

glucosa' = $k1 * \text{sacarosa} - k2 * \text{glucosa}$

fructosa' = $k1 * \text{sacarosa} - 3 * k4 * \text{fructosa} - k5 * \text{fructosa}$

lactico' = $k4 * \text{fructosa} + k5 * \text{fructosa} + k6 * \text{citrico} - k9 * \text{lactico}$

acetico' = $k5 * \text{fructosa} + k6 * \text{citrico} + k7 * \text{etanol}$

citrico' = $-k6 * \text{citrico}$

etanol' = $2 * k2 * \text{glucosa} + k5 * \text{fructosa} - k7 * \text{etanol}$

--ENTALPIAS CON RESTRICCIONES PARA REACCIONES QUIMICAS

H1 = $((31.1 * 10^{**3}) / 342.2965) * (\text{sacarosa}) * M * k1$

```

H2=((70.7*10**3)/180.1559)*(glucosa)*M*k2
H4= ((122.503*10**3)/180.1559)*(fructosa)*k4*M
H5= ((74.81*10**3)/180.1559)*(fructosa)*M*k5
H6= ((434.21*10**3)/192.124)*(citrico)*M*k6
H7= ((492.5*10**3)/46.06844)*(etanol)*M*k7
H9=((4.09*10**3)/98.08)*(lactico)*M*k9
Heat=H1+H2+H4+H5+H6+H7*c1+H9
--GEOMETRIA
Ahw=0.60231*pi*D*L+0.35*pi*D**2
Aws=pi*(D+2*z)*(L+2*z)+(pi/2)*(D+2*z)**(2)
Abh=0.9475*D*L
Abw=0.39769*pi*D*L+0.15*pi*D**(2)
--ECUACIONES MASICAS
X=(sacarosa+glucosa+fructosa+acetico+citrico+etanol)*M*10**(-3)
M'=Ym*X'
b=M*W
b'=(Yw*X')-kw*Abh*(W-Wsat)
hbh=2.351*(((D**1.5)*s)**0.104)/(D*(F*(34.48276+55.556*Hin)*D/((D**2)*L)**0.667
)**0.535)
kw=hbh/6342
Wsat=((log(1-awg**0.32))/(-exp(2.9+0.004*Tb)))*(1/(1.275-0.0029*Tb))
c=G*H
c'=F*(Hin-H)+kw*Abh*(W-Wsat)
--ECUACIONES ENERGETICAS
--Balance de energía en el lecho
i=Tb*M*(cpm+cpw*W)
i'= hbh*Abh*(Th-Tb)+hbw*Abw*(Tw-Tb)-evap*c2+Heat*c3
evap=kw*Abh*(W-Wsat)* yinv
--Balance de energía en la cabecera
hbw=77100/D
p=Th*G*(cpg+cpv*H)
p'=F*cpg*(Tin-Th)+(F*cpv*(Hin*Tin-H*Th))+hhw*Ahw*(Tw-Th)-hbh*Abh*(Th-Tb)
hhw=114.224*(F/Ag)**0.8
--Balance de energía en las paredes
f=Tw*B*cpb
f'=hws*Aws*(Ts-Tw)-hbw*Abw*(Tw-Tb)-hhw*Ahw*(Tw-Th)
END COMPONENT

```

Código del experimento:

EXPERIMENT expl ON reactor.prueba

DECLS

OBJECTS

INIT

-- initial values for state variables

i = 8707320

X = 14.10194

b = 59.75

c = 0.30219

p = 47443.83

f = 63000

```

Th=30
BOUNDS
-- Set equations for boundaries: boundVar = f(TIME;...)
BODY
-- report results in file reportAll.rpt
REPORT_TABLE("reportAll.rpt", "*")
-- Set the tolerances (relative and absolute);
REL_ERROR = 1e-006
ABS_ERROR = 1e-006
-- Integrate the model
TIME = 0
TSTOP =490000
CINT = 3600
INTEG()
END EXPERIMENT

```

Anexo 2

Segundo código de modelo matemático en Ecosimpro. Fuente: Propia

```

COMPONENT otroreactor
DATA
REAL Yxs=0.5
REAL ms=0
REAL Ym=0.42
REAL Yw=0.3
REAL awg=0.87
REAL Yq= 8.366*10**6
REAL hws=5
REAL yinv=2.414*10**6
REAL cpm=1000
REAL cpw=4184
REAL cpg=1006
REAL cpv=1880
REAL cpb=420
REAL pi=3.14159
REAL D=0.75
REAL L=1
REAL z=0.05
REAL G=1.0073
--REAL e=2.71828
REAL s=0.01057
REAL F=0.01
--REAL mh2oo=59.75
REAL Hin=0.3
REAL Tin=30
REAL Ag=1
REAL Ts=30
REAL B=5
REAL k=10**(1.33)
--constantes de michaelis menten encontradas en bibliografia

```

REAL cm1=0.0046 --descomposicion del etanol
 REAL cm2=0.1843 --descomposicion del acido lactico
 DECLS
 REAL k1, k2,k4,k5,k6,k7,k9,sacarosa,glucosa, fructosa, citrico, lactico, acetico, etanol
 REAL M, X, W, Tb, Tw, Th, H, H1, H2, H4,H5, H6, H7, H9, b, c, i, p, f
 REAL Ahw, Aws, Abh, Abw, mh2o,kw, hbh, Wsat, hbw , hhw, oi,Heat
 --REAL Ts
 CONTINUOUS
 --Ts=30+2*sin(50*TIME)
 --concentraciones
 sacarosa = (-1.2491*10**(-07))*(TIME/3600)**4 +(3.8954*10**(-05))*(TIME/3600)**3
 +(-0.0031)*(TIME/3600)**2-0.1067*(TIME/3600) + 20.5725
 glucosa = (1.42416264235728*10**(-09))*(TIME/3600)**6 +(-
 6.67113797676066*10**(-07))*(TIME/3600)**5 +
 (0.000122762057753414)*(TIME/3600)**4 + (-0.0113049245358835)*(TIME/3600)**3
 + (0.546447357631883)*(TIME/3600)**2+(-
 13.0719716433509)*(TIME/3600)+148.656935171454
 fructosa = (2.06199033766137*10**(-09))*(TIME/3600)**6 + (-
 9.87618111886855*10**(-07))*(TIME/3600)**5 +
 (0.000185142747301923)*(TIME/3600)**4 + (-0.0171325116793601)*(TIME/3600)**3
 + (0.802637125247503)*(TIME/3600)**2 + (-17.0610324868404)*(TIME/3600) +
 160.595640453657
 lactico=(-2.23639730762679*10**(-10))*(TIME/3600)**6 + (1.01041271322939*10**(-
 07))*(TIME/3600)**5 + (-1.78211583673094*10**(-05))*(TIME/3600)**4 +
 (0.00158200796166226)*(TIME/3600)**3 + (-0.0762435470249562)*(TIME/3600)**2 +
 (1.83831127141703)*(TIME/3600) + 0.437055041544875
 acetico=(1.26639672194210*10**(-10))*(TIME/3600)**6 + (-5.56327174136299*10**(-
 08))*(TIME/3600)**5 + (9.42015470353105*10**(-06))*(TIME/3600)**4 + (-
 0.000756789412002267)*(TIME/3600)**3 + (0.0259843937247949)*(TIME/3600)**2 +
 0.192087274375335*(TIME/3600) +0.001
 citrico=(-3.33379994713373*10**(-10))*(TIME/3600)**6 + (1.49855244636234*10**(-
 07))*(TIME/3600)**5 + (-2.55119398175713*10**(-05))*(TIME/3600)**4 +
 (0.00201506434685687)*(TIME/3600)**3 -0.0703172687555518*(TIME/3600)**2 +
 (0.623780002788685)*(TIME/3600) + 16.1036521251608
 etanol=(-1.60465594018017*10**(-09))*(TIME/3600)**6 + (7.61870354064567*10**(-
 07))*(TIME/3600)**5 + -0.000139077789321300*(TIME/3600)**4 +
 0.0121538786636146*(TIME/3600)**3 + -0.511228838582931*(TIME/3600)**2 +
 8.71253122590971*(TIME/3600) + 0.01
 --COMPONENTES QUIMICOS
 sacarosa'=-k1*sacarosa
 glucosa'=k1*sacarosa-k2*glucosa
 fructosa'=k1*sacarosa-3*k4*fructosa-k5*fructosa
 lactico'=k4*fructosa+k5*fructosa+k6*citrico-k9*lactico/(lactico+cm2)
 acetico'=k5*fructosa+k6*citrico+k7*etanol/(etanol+cm1)
 citrico'=-k6*citrico
 etanol'=2*k2*glucosa+k5*fructosa-k7*etanol/(etanol+cm1)
 --X
 X=(sacarosa+glucosa+fructosa+acetico+citrico+etanol)*M*10**(-3)
 --GEOMETRIA
 Ahw=0.60231*pi*D*L+0.35*pi*D**2

```

Aws=pi*(D+2*z)*(L+2*z)+(pi/2)*(D+2*z)**(2)
Abh=0.9475*D*L
Abw=0.39769*pi*D*L+0.15*pi*D**(2)
--ECUACIONES MASICAS
M'=Ym*X'
b=M*W
b'=(Yw*X')-kw*Abh*(W-Wsat)
hbh=2.351*(((D**1.5)*s)**0.104)/(D*(F*(34.48276+55.556*Hin)*D/((D**2)*L)**0.667
)**0.535)
kw=hbh/6342
Wsat=((log(1-awg**0.32))/(-exp(2.9+0.004*Tb)))*(1/(1.275-0.0029*Tb))
c=G*H
c'=F*(Hin-H)+kw*Abh*(W-Wsat)
--entalpias
H1=((31.1*10**3-362.62*(Tb-25))/342.2965)*(sacarosa)*M*k1*10**(-3)
H2=((70.7*10**3-79.84*(Tb-25))/180.1559)*(glucosa)*M*k2*10**(-3)
H4=((122.503*10**3+122.93*(Tb-25))/180.1559)*(fructosa)*k4*M*10**(-3)
H5=((74.81*10**3-58.11*(Tb-25))/180.1559)*(fructosa)*M*k5*10**(-3)
H6=((434.21*10**3-387*(Tb-25))/192.124)*(citrico)*M*k6*10**(-3)
H7=((492.5*10**3-56.9*(Tb-25))/46.06844)*(etanol)*M*k7*10**(-3)
H9=((4.09*10**3+15.27*(Tb-25))/98.08)*(lactico)*M*k9*10**(-3)
Heat=(H1+H2+H4+H5+H7+H9+H6)
--ECUACIONES ENERGETICAS
i=Tb*M*(cpm+cpw*W)
oi=kw*Abh*(W-Wsat)*yinv
i'=-Heat*k+hbh*Abh*(Th-Tb)+hbw*Abw*(Tw-Tb)+oi
hbw=77100/D
p=Th*G*(cpg+cpv*H)
p'=F*cpg*(Tin-Th)+F*cpv*(Hin*Tin-H*Th)+hhw*Ahw*(Tw-Th)-hbh*Abh*(Th-Tb)
hhw=14.278*(F/Ag)**0.8
f=Tw*B*cpb
f'=hws*Aws*(Ts-Tw)-hbw*Abw*(Tw-Tb)-hhw*Ahw*(Tw-Th)
END COMPONENT
El experimento es el mismo que en el Anexo 1.

```

Anexo 3

Código de Observador Asintótico. Fuente: Propia.

- Derivadas Continuas:

```

float kco2=0.000106557;
float ko2=0.00295082;
float kl1=0.1;
float kl2=0.1;
if (xC[0]<0){
    dx[0]=0;

```

```

xC[0]=0;
}else{
dx[0]=-D[0]*(xC[0]);
//dx[0]=0.3*(k11*(1-(t0[0]+273.15)*kco2)*u0[8])+9.55*(k12*(1-
(t0[0]+273.15)*ko2)*u0[9])+D*GLUCOSAIN;
//dx[0]=-0.03*(k11*(u0[8]-kco2))-1.27*(k12*(u0[9]-ko2))+5*xC[0];
}
if (xC[1]<0){
dx[1]=0;
xC[1]=0;
}else{
dx[1]=-D[0]*(xC[1]-0.3724*glucosa[0]);
//dx[1]=-0.738*(k11*(1-(t0[0]+273.15)*kco2)*u0[8]);
//dx[1]=0.0738*(k11*(u0[8]-kco2));
}
if (xC[2]<0){
dx[2]=0;
xC[2]=0;
}else{
dx[2]=-D[0]*(xC[2]);
//dx[2]=-6.84*(k12*(1-(t0[0]+273.15)*ko2)*u0[9]);
//dx[2]=0.912*(k12*(u0[9]-ko2));
}
if (xC[3]<0){
dx[3]=0;
xC[3]=0;
}else{
dx[3]=-D[0]*(xC[3]);
//dx[3]=1*k11*(1-(t0[0]+273.15)*kco2)*u0[8];
//dx[3]=-0.1*k11*(u0[8]-kco2);
}
if (xC[4]<0){
dx[4]=0;
xC[4]=0;
}

```

```

}else{
    dx[4]=-D[0]*(xC[4]-0.3003*glucosa[0]);
    //dx[4]=-0.5948*(k11*(1-(t0[0]+273.15)*kco2)*u0[8]);
    //dx[4]=0.05948*(k11*(u0[8]-kco2));
}
if (xC[5]<0){
    dx[5]=0;
    xC[5]=0;
}else{
    dx[5]=-D[0]*(xC[5]);
    //dx[5]=-1*k12*(1-(t0[0]+273.15)*ko2)*u0[9];
    //dx[5]=0.133*k12*(u0[9]-ko2);
}

/* con la forma anterior
if (xC[0]<0){
    dx[0]=0;
    xC[0]=0;
}else{
    dx[0]=0.3*(k11*(1-(t0[0]+273.15)*kco2)*u0[8])+9.55*(k12*(1-
(t0[0]+273.15)*ko2)*u0[9])+D*GLUCOSAIN;
    //dx[0]=-0.03*(k11*(u0[8]-kco2))-1.27*(k12*(u0[9]-ko2))+5*xC[0];
}
if (xC[1]<0){
    dx[1]=0;
    xC[1]=0;
}else{
    dx[1]=-0.738*(k11*(1-(t0[0]+273.15)*kco2)*u0[8]);
    //dx[1]=0.0738*(k11*(u0[8]-kco2));
}
if (xC[2]<0){
    dx[2]=0;
    xC[2]=0;
}else{

```

```

dx[2]=-6.84*(k12*(1-(t0[0]+273.15)*ko2)*u0[9]);
//dx[2]=0.912*(k12*(u0[9]-ko2));
}
if (xC[3]<0){
    dx[3]=0;
    xC[3]=0;
}else{
    dx[3]=1*k11*(1-(t0[0]+273.15)*kco2)*u0[8];
    //dx[3]=-0.1*k11*(u0[8]-kco2);
}
if (xC[4]<0){
    dx[4]=0;
    xC[4]=0;
}else{
    dx[4]=-0.5948*(k11*(1-(t0[0]+273.15)*kco2)*u0[8]);
    //dx[4]=0.05948*(k11*(u0[8]-kco2));
}
if (xC[5]<0){
    dx[5]=0;
    xC[5]=0;
}else{
    dx[5]=-1*k12*(1-(t0[0]+273.15)*ko2)*u0[9];
    //dx[5]=0.133*k12*(u0[9]-ko2);
}

```

- Salidas

```

float A11=0;
float A12=0.2213;
float A13=-0.3;
float A14=-9.55;
float A21=0.3724;
float A22=0.2452;
float A23=0.7375;
float A24=0;
float A31=0;

```

```
float A32=0.2213;
float A33=0;
float A34=6.84;
float A41=0;
float A42=-0.075;
float A43=-1;
float A44=0;
float A51=0.3003;
float A52=0.1974;
float A53=0.5948;
float A54=0;
float A61=0;
float A62=0;
float A63=0;
float A64=1;
float a=1;
```

```
float p0=0.8;
float p1=0.8;
float p2=0.8;
float p3=0.8;
float p4=0.8;
float p5=0.8;
```

```
y0[0]=(xC[0]-(A11*u0[0]+A12*u0[1]+A13*u0[8]+A14*u0[9])+0*p0*(u0[3]-y0[0]))/a;
if (y0[0]<0) {
    y0[0]=-y0[0];
}
y0[1]=(xC[1]-(A21*u0[0]+A22*u0[1]+A23*u0[8]+A24*u0[9])+0*p1*(u0[4]-y0[1]))/a;
if (y0[1]<0) {
    y0[1]=-y0[1];
}
```

```

y0[2]=(xC[2]-(A31*u0[0]+A32*u0[1]+A33*u0[8]+A34*u0[9])+0*p2*(u0[5]-y0[2]))/a;
if (y0[2]<0) {
    y0[2]=-y0[2];
}

```

```

y0[3]=(xC[3]-(A41*u0[0]+A42*u0[1]+A43*u0[8]+A44*u0[9])+0*p3*(u0[6]-y0[3]))/a;
if (y0[3]<0) {
    y0[3]=-y0[3];
}

```

```

y0[4]=(xC[4]-(A51*u0[0]+A52*u0[1]+A53*u0[8]+A54*u0[9])+0*p4*(u0[7]-y0[4]))/a;
if (y0[4]<0) {
    y0[4]=-y0[4];
}

```

```

y0[5]=(xC[5]-(A61*u0[0]+A62*u0[1]+A63*u0[8]+A64*u0[9])+0*p5*(u0[8]-y0[5]))/a;
if (y0[5]<0) {
    y0[5]=-y0[5];
}

```

Anexo 4

Código de Estimador de estado mediante Filtro extendido de Kalman. Fuente: Propia

```

function [sys,x0,str,ts] = sfundsc1(t,x,u,flag)
% Filtro de Kalman Extendido del Fermentación de Cacao.
%
switch flag,
    %%%%%%%%%%%%%%%
    % Initialization %
    %%%%%%%%%%%%%%%
case 0,
    [sys,x0,str,ts]=mdlInitializeSizes;
    %%%%%%%%%%%%%%%
% Update %

```

```

%%%%%%%%%%
case 2,
    sys = mdlUpdate(t,x,u);
%%%%%%%%%%
% Output %
%%%%%%%%%%
case 3,
    sys = mdlOutputs(t,x,u);
%%%%%%%%%%
% Terminate %
%%%%%%%%%%
case 9,
    sys = [];
otherwise
    error(['unhandled flag = ',num2str(flag)]);
end
%
%=====
=====
% mdlInitializeSizes
% Return the sizes, initial conditions, and sample times for the S-function.
%=====
=====
%
function [sys,x0,str,ts]=mdlInitializeSizes

sizes = simsizes;

sizes.NumContStates = 0;
sizes.NumDiscStates = 63; %size(sys(mdlUpdate)) =49+7+7=63 : (K1, K2,K3,K4,K5 X,
S, mu, P11, P12, P13,P21,P22,...., P33)
sizes.NumOutputs = 7 ; %size(sys(mdlOutputs))=7 : (co2 o2 glucosa fructosa etanol
acidolactico acidoacetico)
sizes.NumInputs = 5; %size(u) =2 : (Sm_k+1, F_k)

```

```

sizes.DirFeedthrough = 0;
sizes.NumSampleTimes = 1;

sys = simsizes(sizes);
p0=[10 0 0 0 0 0 0; 0 10 0 0 0 0 0; 0 0 10 0 0 0 0;0 0 0 10 0 0 0;0 0 0 0 10 0 0;0 0 0 0 0 10
0;0 0 0 0 0 0 10 ];
x0 = [0 0 0 0 0 0 0 0.35 210 142.4 162.5 0 0 0 p0(1,1) p0(1,2) p0(1,3) p0(1,4) p0(1,5)
p0(1,6) p0(1,7) p0(2,1) p0(2,2) p0(2,3) p0(2,4) p0(2,5) p0(2,6) p0(2,7) p0(3,1) p0(3,2)
p0(3,3) p0(3,4) p0(3,5) p0(3,6) p0(3,7) p0(4,1) p0(4,2) p0(4,3) p0(4,4) p0(4,5) p0(4,6)
p0(4,7) p0(5,1) p0(5,2) p0(5,3) p0(5,4) p0(5,5) p0(5,6) p0(5,7) p0(6,1) p0(6,2) p0(6,3)
p0(6,4) p0(6,5) p0(6,6) p0(6,7) p0(7,1) p0(7,2) p0(7,3) p0(7,4) p0(7,5) p0(7,6) p0(7,7)];
str = [];
ts = [0.1 0];
%=====
=====
% mdlUpdate
% Handle discrete state updates, sample time hits, and major time step
% requirements.
%=====
=====
%
function sys = mdlUpdate(t,x,u)
% Parametros de ajuste del filtro
Q =[100 0 0 0 0 0 0; 0 0.001 0 0 0 0 0; 0 0 1 0 0 0 0;0 0 0 1 0 0 0;0 0 0 0 0.01 0 0; 0 0 0 0 0
10000 0;0 0 0 0 0 0 1000];
R = 1;
% Parámetros del modelo:

k1=1.9608;
k2=0.3;
k3=3.33;
k4=0.867;
k5=3.2523;
k6=10;

```

170

k7=1.6667;

k8=2.95;

k9=0.593;

k10=3.33;

k11=1.24;

k12=9.55;

k13=6.84;

k14=3;

k15=5;

k16=1;

kd1=0.005;

kd2=0.43;

kd3=0.03;

kdL=0.02; % Decomposition Rate Acid Lactic.

kdE=0.008; % [g/g]

ks1=0.0405194;

ks2=85.4;

ks3=10.5436;

ks4=7.25;

ksi2=145.5732;

ksi3=3.52;

ksi4=325;

umax1=0.01;

umax2=0.01;

umax3=0.01;

dt = 0.1;

% tiempo=time;

% X5=1.86678213376722*10^-06*tiempo^3-0.000408345659909568*tiempo ^2-
0.00794052410103241*tiempo+6.94942945703013;

X5=u(2);

% X7=1.77238137243288*10^-06*tiempo^3-
0.000606163524729542*tiempo^2+0.0389951015477007*tiempo+5.38445345360062;

X6=u(3);

```

% X6=2.6920003728772*10^-06*tiempo^3-
0.000979256488470923*tiempo^2+0.0952270510237620*tiempo+5.69517176847770;
X7=u(4);
% [h]
% Con el fin de evitar confusiones, se utilizará la siguiente nomenclatura:
% entradas
% X9m = u(2); % One input of Kalman_Filter is used for measurement input
X8m = u(1); % One input of Kalman-Filter is used for measurement input
X9m = u(5);
% Estados
X8 = x(8);
X9 = x(9);
X0 = x(10);
X1 = x(11);
X2 = x(12);
X3 = x(13);
X4 = x(14);

P(1,1) = x(15);
P(1,2) = x(16);
P(1,3) = x(17);
P(1,4) = x(18);
P(1,5) = x(19);
P(1,6) = x(20);
P(1,7) = x(21);

P(2,1) = x(22);
P(2,2) = x(23);
P(2,3) = x(24);
P(2,4) = x(25);
P(2,5) = x(26);
P(2,6) = x(27);
P(2,7) = x(28);

```

$$P(3,1) = x(29);$$

$$P(3,2) = x(30);$$

$$P(3,3) = x(31);$$

$$P(3,4) = x(32);$$

$$P(3,5) = x(33);$$

$$P(3,6) = x(34);$$

$$P(3,7) = x(35);$$

$$P(4,1) = x(36);$$

$$P(4,2) = x(37);$$

$$P(4,3) = x(38);$$

$$P(4,4) = x(39);$$

$$P(4,5) = x(40);$$

$$P(4,6) = x(41);$$

$$P(4,7) = x(42);$$

$$P(5,1) = x(43);$$

$$P(5,2) = x(44);$$

$$P(5,3) = x(45);$$

$$P(5,4) = x(46);$$

$$P(5,5) = x(47);$$

$$P(5,6) = x(48);$$

$$P(5,7) = x(49);$$

$$P(6,1) = x(50);$$

$$P(6,2) = x(51);$$

$$P(6,3) = x(52);$$

$$P(6,4) = x(53);$$

$$P(6,5) = x(54);$$

$$P(6,6) = x(55);$$

$$P(6,7) = x(56);$$

$$P(7,1) = x(57);$$

$$P(7,2) = x(58);$$

$$P(7,3) = x(59);$$

$$P(7,4) = x(60);$$

$$P(7,5) = x(61);$$

$$P(7,6) = x(62);$$

$$P(7,7) = x(63);$$

% Ecuaciones algebraicas:

$$A11 = 1;$$

$$A12 = 0;$$

$$A13 = (X5 * k14 * u_{max1} * (ks1 / (ks1 + X0)^2) -$$

$$k15 * u_{max2} * X6^2 * X0 * X1 / (ksi2 * (ks2 + X1 + (X0^2) / ksi2)^2)) * dt;$$

$$A14 = dt * k15 * u_{max2} * X6 * ((ks2 + (X0^2) / ksi2) / (ks2 + X1 + (X0^2) / ksi2)^2);$$

$$A15 = 0;$$

$$A16 = 0;$$

$$A17 = 0;$$

$$A21 = 0;$$

$$A22 = 1;$$

$$A23 = 0;$$

$$A24 = 0;$$

$$A25 = -k16 * u_{max3} * X7 * dt * ((ks4 - (X2^2) / ksi4) / (ks4 + X2 + (X2^2) / ksi4)^2);$$

$$A26 = 0;$$

$$A27 = 0;$$

$$A31 = 0;$$

$$A32 = 0;$$

$$A33 = 1 + dt * (-k1 * u_{max1} * X5 * ks1 / (ks1 + X0)^2 - k10 * u_{max2} * X6 * (ks3 - (X0^2) / ksi3) / (ks3 + X0 + (X0^2) / ksi3)^2);$$

$$A34 = 0;$$

$$A35 = 0;$$

$$A36 = 0;$$

$$A37 = 0;$$

$$A41 = 0;$$

$$A42 = 0;$$

$$A43 =$$

$$dt*(k6*umax2*X6*2*X0*X1/(ksi2*(ks2+X1+(X0^2)/ksi2)^2)+k3*umax2*X6*2*X0*X1/(ksi2*(ks2+X1+(X0^2)/ksi2)^2));$$

$$A44 = 1-dt*(k6+k3)*umax2*X6*(ks2+(X0^2)/ksi2)/(ks2+X1+(X0^2)/ksi2)^2;$$

$$A45 = 0;$$

$$A46 = 0;$$

$$A47 = 0;$$

$$A51 = 0;$$

$$A52 = 0;$$

$$A53 = dt*(k2*umax1*X5*ks1/(ks1+X0)^2-$$

$$k5*umax2*X6*2*X0*X1/(ksi2*(ks2+X1+(X0^2)/ksi2)^2));$$

$$A54 = dt*k5*umax2*X6*(ks2+(X0^2)/ksi2)/(ks2+X1+(X0^2)/ksi2)^2;$$

$$A55 = 1+dt*(-umax3*X7*k12*(ks4-(X2^2)/ksi4)/(ks4+X2+(X2^2)/ksi4)^2-kdE);$$

$$A56 = 0;$$

$$A57 = 0;$$

$$A61 = 0;$$

$$A62 = 0;$$

$$A63$$

$$= dt*((k4+k7)*umax2*X6*2*X0*X1/(ksi2*(ks2+X1+(X0^2)/ksi2)^2)+k11*umax2*X6*(ks3-(X0^2)/ksi3)/(ks3+X0+(X0^2)/ksi3)^2);$$

$$A64 = dt*(k4+k7)*umax2*X6*(ks2+(X0^2)/ksi2)/(ks2+X1+(X0^2)/ksi2)^2;$$

$$A65 = 0;$$

$$A66 = 1+dt*(-kdL);$$

$$A67 = 0;$$

$$A71 = 0;$$

$$A72 = 0;$$

$$A73 = dt*(k8*umax2*X6*2*X0*X1/(ksi2*(ks2+X1+(X0^2)/ksi2)^2));$$

$$A74 = dt*(k8*umax2*X6*(ks2+(X0^2)/ksi2)/(ks2+X1+(X0^2)/ksi2)^2);$$

A75 =dt*k13*umax3*X7*k12*(ks4-(X2^2)/ksi4)/(ks4+X2+(X2^2)/ksi4)^2;

A76 =0;

A77 =1;

H =[1 0 0 0 0 0 0;0 1 0 0 0 0 0];

A = [A11 A12 A13 A14 A15 A16 A17; A21 A22 A23 A24 A25 A26 A27; A31 A32 A33
A34 A35 A36 A37;A41 A42 A43 A44 A45 A46 A47;A51 A52 A53 A54 A55 A56 A57;
A61 A62 A63 A64 A65 A66 A67;A71 A72 A73 A74 A75 A76 A77];

%1. PREDICTION

xhat_kplus1_minus = [X8 +

dt*(k14*umax1*X5*(X0)/(ks1+X0)+k15*umax2*X6*X1/(ks2+X1+(X0^2)/ksi2));...

%co2

X9+dt*(-k16*umax3*X7*X2/(ks4+X2+(X2^2)/ksi4));... %o2

X0+dt*(-k1*umax1*X5*(X0)/(ks1+X0)-

k10*umax2*X6*X0/(ks3+X0+(X0^2)/ksi3));... %glucosa

X1+dt*(-350*k3*umax2*X6*X1/(ks2+X1+(X0^2)/ksi2)-

k6*umax2*X6*X1/(ks2+X1+(X0^2)/ksi2));... %fructosa

X2+dt*(6*k2*umax1*X5*(X0)/(ks1+X0)+3*k5*umax2*X6*X1/(ks2+X1+(X0^2)/ksi2)-

50*k12*umax3*X7*X2/(ks4+X2+(X2^2)/ksi4)-X2*kdE);... %etanol

%X1+dt*(-k3*umax2*X6*X1/(ks2+X1+(X0^2)/ksi2)-

k6*umax2*X6*X1/(ks2+X1+(X0^2)/ksi2));

%X2+dt*(k2*umax1*X5*(X0)/(ks1+X0)+k5*umax2*X6*X1/(ks2+X1+(X0^2)/ksi2)-

k12*umax3*X7*X2/(ks4+X2+(X2^2)/ksi4)-X2*kdE);];

X3+dt*(85*(k4+k7)*umax2*X6*X1/(ks2+X1+(X0^2)/ksi2)+k11*umax2*X6*X0/(ks3+X
0+(X0^2)/ksi3)-X3*kdL);...

X4+dt*(20*k13*umax3*X7*X2/(ks4+X2+(X2^2)/ksi4)+90*k8*umax2*X6*X1/(ks2+X1
+(X0^2)/ksi2));];

```

P_i = A*P*A'+Q; %matriz 5x5          %Phat_kplus1_minus=APA'+WQW', here:
W=W'=I
%2. CORRECTION
K = P_i*H'/(H*P_i*H'+R); %K es una matriz 5x2
% xhat_kplus1=xhat_kplus1_minus+K*([X8m;X9m]-H*xhat_kplus1_minus)    ;%(X8m-
H*xhat_kplus1_minus);%+K*(X9m-H*xhat_kplus1_minus);
xhat_kplus1(1)=xhat_kplus1_minus(1)+K(1,:)*([X8m;X9m]-H*xhat_kplus1_minus) ;
xhat_kplus1(2)=xhat_kplus1_minus(2)+K(2,:)*([X8m;X9m]-H*xhat_kplus1_minus) ;
xhat_kplus1(3)=xhat_kplus1_minus(3)+K(3,:)*([X8m;X9m]-H*xhat_kplus1_minus) ;
xhat_kplus1(4)=xhat_kplus1_minus(4)+K(4,:)*([X8m;X9m]-H*xhat_kplus1_minus) ;
xhat_kplus1(5)=xhat_kplus1_minus(5)+K(5,:)*([X8m;X9m]-H*xhat_kplus1_minus) ;
xhat_kplus1(6)=xhat_kplus1_minus(6)+K(6,:)*([X8m;X9m]-H*xhat_kplus1_minus) ;
xhat_kplus1(7)=xhat_kplus1_minus(7)+K(7,:)*([X8m;X9m]-H*xhat_kplus1_minus) ;
% acidolactico=X3K+dt*(k4*umax2*X6*X1/(ks2+X1+(X0^2)/ksi2)+k11*umax2*X6*X0/
(ks3+X0+(X0^2)/ksi3)+k7*umax2*X6*X1/(ks2+X1+(X0^2)/ksi2)-kdL*X3K);
% acidoacetico=X4K+dt*(k13*umax3*X7*X2/(ks4+X2+(X2^2)/ksi4)+K8*umax2*X6*X
1/(ks2+X1+(X0^2)/ksi2));
%X3K=acidolactico;
%X4K=acidoacetico;

P = (eye(7)-K*H)*P_i;

% SYSTEM OUTPUT
sys(1) = K(1);
sys(2) = K(2);
sys(3) = K(3);
sys(4) = K(4);
sys(5) = K(5);
sys(6) = K(6);
sys(7) = K(7);

sys(8) = xhat_kplus1(1);    %CO2
sys(9) = xhat_kplus1(2);    %O2
sys(10) = xhat_kplus1(3);    %X0 GLUCOSA

```

```
sys(11) = xhat_kplus1(4);      %X1 FRUCTOSA
sys(12) = xhat_kplus1(5);      %X2 ETANOL
sys(13) = xhat_kplus1(6);
sys(14) = xhat_kplus1(7);
sys(15) = P(1,1);
sys(16) = P(1,2);
sys(17) = P(1,3);
sys(18) = P(1,4);
sys(19) = P(1,5);
sys(20) = P(1,6);
sys(21) = P(1,7);
sys(22) = P(2,1);
sys(23) = P(2,2);
sys(24) = P(2,3);
sys(25) = P(2,4);
sys(26) = P(2,5);
sys(27) = P(2,6);
sys(28) = P(2,7);
sys(29) = P(3,1);
sys(30) = P(3,2);
sys(31) = P(3,3);
sys(32) = P(3,4);
sys(33) = P(3,5);
sys(34) = P(3,6);
sys(35) = P(3,7);
sys(36) = P(4,1);
sys(37) = P(4,2);
sys(38) = P(4,3);
sys(39) = P(4,4);
sys(40) = P(4,5);
sys(41) = P(4,6);
sys(42) = P(4,7);
sys(43) = P(5,1);
sys(44) = P(5,2);
```

```
sys(45) = P(5,3);
sys(46) = P(5,4);
sys(47) = P(5,5);
sys(48) = P(5,6);
sys(49) = P(5,7);
sys(50) = P(6,1);
sys(51) = P(6,2);
sys(52) = P(6,3);
sys(53) = P(6,4);
sys(54) = P(6,5);
sys(55) = P(6,6);
sys(56) = P(6,7);
sys(57) = P(7,1);
sys(58) = P(7,2);
sys(59) = P(7,3);
sys(60) = P(7,4);
sys(61) = P(7,5);
sys(62) = P(7,6);
sys(63) = P(7,7);
```

```
%
%=====
=====
% mdlOutputs
% Return the output vector for the S-function
%=====
=====
```

```
function sys = mdlOutputs(t,x,u)
sys = [x(8) x(9) x(10) x(11) x(12) x(13) x(14)];
% CO2 O2 X0 X1 X2 X3 X4
```