

**MODELAMIENTO DINÁMICO, DISEÑO Y CONTROL DE UN BIO-REACTOR
PARA LA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL ETILICO**

KATTY CANTERO VERGARA

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DEL NORTE
DIVISIÓN DE INGENIERÍAS
MAESTRÍA EN INGENIERÍA MECÁNICA
BARRANQUILLA
2009**

**MODELAMIENTO DINÁMICO, DISEÑO Y CONTROL DE UN BIO-REACTOR
PARA LA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL ETILICO**

KATTY CANTERO VERGARA

**Tesis presentada como requisito parcial para optar el título de
Magíster en Ingeniería Mecánica**

**Director de Investigación:
Ph. D. MARCO E. SANJUÁN MEJÍA**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DEL NORTE
DIVISIÓN DE INGENIERÍAS
MAESTRÍA EN INGENIERÍA MECÁNICA
BARRANQUILLA**

2009

NOTA DE ACEPTACIÓN

Firma del Director

Firma del Director de la Maestría

Firma del Corrector

DEDICATORIA

A Dios por haberme dado la oportunidad de continuar creciendo como persona y por haberme iluminado y llenado de sabiduría para comprender el camino a seguir para culminar mis estudios y esta investigación.

A mis padres y a mi madrina por haberme enseñado a enfrentar la vida con valentía, así como las herramientas para forjar mi carácter y querer siempre seguir adelante.

A mis hermanos por ser mis amigos y apoyarme incondicionalmente a través de este proceso inyectando una dosis de entusiasmo con las experiencias de sus vidas.

AGRADECIMIENTOS

Antes que nada le doy gracias a Dios por permitirme vivir la vida que he vivido y por brindarme las oportunidades que he recibido.

A mi familia por todo el amor, apoyo incondicional y valores que me han sembrado para continuar creciendo en todos los aspectos de mi vida.

A mi estimado Director de Tesis, tutor, Jefe y amigo Ing. Marco Sanjuán por su inmensa y constante confianza, por su comprensión y apoyo aún cuando yo creí no poder lograr las cosas, le agradezco por encontrar siempre en él un sabio consejo, una mano amiga, un asesoramiento científico cuando más lo necesité para continuar creciendo académicamente, profesionalmente y personalmente. Sin duda alguna este proyecto de vida que ya casi culmina no hubiera sido posible sin su ayuda, de todo corazón Ingeniero Muchas Gracias.

A todo el equipo docente de la maestría por contribuir constantemente a mi formación profesional y todo el afecto recibido de ustedes durante mi estancia en el programa.

A mi amigo y novio Néstor Durango D. por todo el amor, confianza y apoyo que me brindo durante todo este proceso.

A todos mis compañeros de maestría especialmente Pedro Villalba y Ramiro Chamorro por vivir juntos esta experiencia y descubrir su amistad y apoyo incondicional en momentos difíciles y no difíciles.

A todos los que de alguna forma estuvieron presentes e intervinieron en mi vida para tomar las decisiones que hoy me llevan a cumplir una nueva meta.

TABLA DE CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	3
1.1	ANTECEDENTES	4
1.2	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	10
1.3	JUSTIFICACIÓN	11
1.4	OBJETIVOS	15
1.4.1	Objetivo General	15
1.4.2	Objetivos Específicos	15
2	MARCO CONCEPTUAL Y ESTADO DEL ARTE	16
2.1	ETANOL A PARTIR DE DIFERENTES MATERIAS PRIMAS.....	17
2.1.1	Etanol A Partir de Caña de Azúcar	17
2.1.2	Etanol A Partir de Almidón	18
2.1.3	Etanol A Partir de Biomasa Lignocelulosa.	19
2.2	MICROORGANISMOS.....	19
2.2.1	Cinética Microbiana	20
2.2.2	Inhibición del Crecimiento Celular.	22
2.2.3	Inhibición por Concentración del Sustrato.....	22
2.2.4	Inhibición por Concentración de Productos.....	23
2.2.5	Influencia de la Temperatura y el pH.....	24
2.2.6	Principales Microorganismos Productores de Etanol	25
2.3	PRINCIPIOS DE MODELADO	31
2.3.1	Formulación de las Ecuaciones de Balance	33
2.3.2	Estequiometría y Coeficientes de Producción.	34
2.4	PRINCIPIOS DE CONTROL APLICADOS A PROCESOS NO LINEALES	36
3	MODELAMIENTO Y SIMULACIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE ETANOL	42

3.1	DESARROLLO DEL MODELO CINETICO DE FERMENTACIÓN	43
3.1.1	Balance de Biomasa	45
3.1.2	Balance de Masa del Sustrato	45
3.1.3	Balance de Masa del Etanol.....	46
3.1.4	Tasa de Consumo de Sustrato	47
3.1.5	Tasa de Producción de Etanol	47
3.1.6	Tasa de Crecimiento de Biomasa	48
3.1.7	Balance de Energía	53
3.1.8	Calor Generado por la Reacción.....	54
3.1.9	Parámetros del Modelo.....	55
3.2	SIMULACIÓN DEL MODELO DE FERMENTACIÓN PRODUCCIÓN DE ETANOL	57
3.2.1	Optimización del Proceso.....	59
4	IMPLEMENTACIÓN DE LA ESTRATEGIA DE CONTROL EN EL MODELO..	70
5	CONCLUSIONES	82
6	RECOMENDACIONES	85
7	REFERENCIAS	86

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Comportamiento de reservas de petróleo.....	11
Figura 2. Fluctuaciones de los precios del petróleo de 1947 a Mayo de 2008	12
Figura 3. Producción de alcohol carburante en Colombia.	13
Figura 4. Procesos presentes en la producción de etanol.....	17
Figura 5. Concentración de biomasa y sustrato	20
Figura 6. Pasos para el desarrollo de modelos matemáticos de fermentación.	31
Figura 7. Diferentes modelos basados en la estructura celular y poblacional.	32
Figura 8. Configuración del Bio-reactor	43
Figura 9. Comportamiento de la concentración de sustrato, biomasa y etanol.	57
Figura 10. Tasa específica de crecimiento y concentración de biomasa respecto al tiempo en operación en continuo.	58
Figura 11. Grafica de contorno de la producción	64
Figura 12. Gráfica de producción contra pasos de ascenso.	65
Figura 13. Influencia del pH sobre el crecimiento bacteriano.....	67
Figura 14. Influencia de la temperatura sobre la concentración de biomasa.	69
Figura 15. Bio-reactor, válvula y sensor en Matlab-Simulink®.....	74
Figura 16. Función de pertenencia para el factor K.	75
Figura 17. Función de pertenencia para la tasa de producción de etanol.	75
Figura 18. Bio-reactor con controlador implementado Matlab-Simulink®	76
Figura 19. Comportamiento del FLC y DMC basado en el vector Av1.	77
Figura 20. Comportamiento del FLC y DMC basado en el vector Av2.	77
Figura 21. Comportamiento del FLC y DMC basado en el vector Av1. en la etapa transitoria.	79

Figura 22. Comportamiento del FLC y DMC basado en el vector A_{v1} . en la etapa estable..... 79

Figura 23. Comportamiento del FLC y DMC basado en el vector A_{v2} en la etapa transitoria. 80

Figura 24. Figura 25. Comportamiento del FLC y DMC basado en el vector A_{v2} en la etapa estable. 80

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. Matrices construidas a partir del vector A_{v1} , y A_{v2} 94

1 INTRODUCCIÓN

Toda la problemática actual respecto a los intereses políticos, altos precios y mayor tendencia al consumo del petróleo ha ocasionado el interrogante de cuanto tiempo mas se podrá disfrutar de este hidrocarburo antes de agotar las reservas naturales, de acuerdo a un informe emitido por el *National Petroleum Council* (NPC) de Estados Unidos, se pronostica que los suministros mundiales de gas y petróleo tendrán insuficiencia del orden de 13 millones de barriles diarios como mínimo para el año 2030 [1]. Considerando el rápido crecimiento del consumo de petróleo a nivel mundial, de acuerdo a las estadísticas ofrecidas por industrias nacionales del sector petrolero como ECOPETROL en el año 1995 el consumo era 19.703 millones barriles diarios para Europa, 4.133 millones barriles diarios para Sur America, hacia el año 2005 el consumo fue de 20.350 millones barriles diarios para Europa y 4.776 millones barriles diarios para sur America, [2]; ante este panorama las investigaciones y desarrollos enfocan sus esfuerzos a lograr nuevos combustibles a partir de distintas fuentes renovables.

Entre los diferentes combustibles investigados se encuentra el biodiesel, el hidrógeno, el biogas y por supuesto el etanol. Los biocombustibles como el etanol son obtenidos en términos generales a partir de procesos de fermentación y biodegradación por medio de tecnologías desarrolladas inicialmente de manera empírica, que se han venido industrializando paulatinamente debido a las exigencias ambientales y gubernamentales, dichos procesos se encuentran en constante mejoramiento y actualmente se aplican técnicas de control y supervisión al diseño y operación con el objeto de mejorar su calidad y cumplir con las exigencias del producto bajo ciertas condiciones económicas. En general los bioprocesos normalmente involucran variables que deben ser mantenidas en rangos muy estrechos para garantizar la continuidad y buen desempeño del

proceso, involucrando para los sistemas de control grandes retos que pueden abarcar una amplia dinámica de control dependiendo de los rangos de producción así como no linealidades derivadas de sus diferentes niveles de alimentación-proceso- descarga, la cinética de las reacciones biológicas y algunas condiciones inciertas de equilibrio [3].

Debido a lo mencionado anteriormente esta investigación pretende estudiar el proceso de producción de etanol a través de modelos y relaciones basadas en la interacción microorganismo-sustrato bajo ciertas condiciones de operación como las obtenidos experimentalmente por Garro [4], por lo tanto se pretende estudiar la dinámica de la reacción biológica de producción de etanol con el propósito de simular un modelo teórico cuyos resultados se contrastarán con resultados experimentales de investigaciones previas, para permitir el diseño e implementación, a nivel de simulación, de una estrategia de control capaz de compensar no-linealidades utilizando un DMC (*Dynamic Matrix Control*) supervisado por un controlador FLC (*Fuzzy Logic Control*).

1.1 ANTECEDENTES

El etanol ha sido considerado desde hace muchas décadas un combustible alternativo y promisorio, poco después de la primera guerra mundial debido a las limitaciones de importación de petróleo, Francia creó un mercado artificial del etanol logrando obtener un parque automotor de 2 millones de vehículos funcionando con una mezcla de gasolina etanol. Por otro lado durante la segunda guerra mundial países escasos de petróleo como Alemania, desarrollan fuertemente la tecnología de producción de etanol y metanol, así como de la industria petroquímica que hicieron que el precio del litro de gasolina llegara a ser seis veces más bajo que el de etanol [5]. Hacia 1958 el etanol mezclado con gasolina inició su tendencia a desaparecer, a causa de la relativa estabilidad de

petróleo, sin embargo en los años setenta los precios del crudo llegaron a valores exorbitantes en países como Brasil, impulsando nuevamente las posibilidades de producir alcohol carburante y logrando sustituir los volúmenes de petróleo requeridos para importar, posicionando a Brasil como uno de los principales productores de alcohol carburante [5]. Si bien es cierto, la principal forma de producir etanol es a través de procesos de fermentación, también llamados bioprocesos.

A través de la historia el hombre se ha dedicado a comprender y entender el complejo funcionamiento de sistemas biológicos que conforman los distintos bioprocesos, logrando que la industria biotecnológica se expanda rápidamente [6]. Un creciente mercado biotecnológico es la producción de alcohol carburante, el cual durante 1998 presentó una producción de 31.2 billones de litros en todo el mundo y 6.4 billones de litros en los Estados Unidos, de los cuales dos tercios fueron utilizados para aplicaciones de biocombustibles [7], lo que demuestra la tendencia mundial de incluir el etanol como combustible alternativo.

Considerando que la producción de etanol se desarrolla básicamente a partir de procesos biológicos se han desarrollado un sin número de investigaciones en torno a éste y a las tecnologías asociadas; entre los temas investigados algunos han centrado su estudio en la obtención de modelos de fermentación para la producción de etanol a partir de distintos microorganismos y materias primas.

Garro, 1995 [4], presentó un modelo de fermentación alcohólica utilizando como sustrato glucosa y *Zymomonas mobilis*. Su estudio se basó principalmente en determinar los valores de los parámetros involucrados en un modelo matemático no-estructurado que representa el comportamiento de un proceso de fermentación alcohólica para operación por lotes y en continuo, la experimentación fue llevada a cabo bajo distintas concentraciones de glucosa y operación por lote y en continuo,

para observar la variación en las concentraciones de etanol, biomasa y glucosa residual; en todos los casos experimentados se encontró que la mayor tasa de producción de etanol se da cuando la concentración inicial de glucosa es mayor.

Lee y Huang, 2000 [8], presentaron un modelo de fermentación de etanol a partir de *Zymomonas mobilis* (*Z. mobilis*) utilizando como sustrato glucosa y fructosa. Con el fin de desarrollar el modelo utilizaron un análisis metabólico básico y encontraron algunos parámetros de manera experimental de acuerdo al tipo de sustrato utilizado; experimentaron con glucosa como único sustrato y luego con una mezcla glucosa fructosa; al utilizar glucosa se encontraron una estrecha correlación del crecimiento de biomasa con respecto a la fuente de carbono la cual puede describir el proceso de fermentación con *Z. mobilis* para un bio-reactor de operación por lotes o en continuo, el modelo utilizado para la operación por lotes fue el modelo no-estructurado propuesto por Veeramallu y Agrawal en 1990 [9]. Para que este modelo lograra describir la operación en continuo en estado estable le realizaron algunos ajustes a la tasa específica de consumo de sustrato. Al experimentar con la mezcla de sustrato glucosa fructosa notaron claramente la formación de biomasa, etanol y sorbitol como productos metabolizados por la *Z. mobilis*. Al comparar el modelo experimental con el modelo teórico se encontró una correlación de $R^2 = 0.999$ lo cual demuestra estrecha relación entre ambos modelos.

Kobayashi y Nakamura, 2004 [10], presentaron un modelo matemático de producción de etanol a partir de almidón con un cultivo de amilasa recombinante inmovilizadas y *Saccharomyces cerevisiae*. Estimaron la dinámica del comportamiento del crecimiento celular basados en la ecuación de Monod modificada, degradación de almidón, acumulación de glucosa, producción de etanol y glucoamilasa sintetizada por levadura inmovilizada. El modelo fue comparado con datos experimentales para valores de concentración celular,

almidón, etanol, y glucoamilasa en bio-reactores de operación por lotes y continuos cuyo sustrato fuera almidón, de esta comparación encontraron que el modelo tiene una buena aproximación. Se analizaron las tasas de dilución de lavado y se compararon con valores de otros procesos sin inmovilizar encontrando que la producción de etanol es mayor cuando se trabaja en cultivos inmovilizados.

Phisalaphong et, al 2005 [11] establecieron un modelo matemático para investigar los efectos de la temperatura en los parámetros cinéticos de fermentación en la producción de etanol, a partir de *Saccharomyces cerevisiae* y glucosa como sustrato en un bio-reactor de operación por lotes, se tomaron como variables para describir el modelo la biomasa, el etanol, el sustrato y 12 parámetros cinéticos. Investigaron y cuantificaron la influencia de la temperatura y la concentración inicial de glucosa en la actividad celular. Establecieron parámetros de la relación de Arrhenius como energía de activación para el crecimiento, tasa de producción de etanol y tasa de mortandad celular. En el desarrollo de la misma investigación experimentaron en un bio-reactor de operación por lote para diferentes valores de concentración de glucosa en el rango de 17 a 22 % y se mantuvieron fijos diferentes valores de temperatura entre 30 °C y 42 °C, se encontró que una alta temperatura conlleva a bajas concentraciones de etanol y bajos coeficientes de conversión pero también que una alta concentración de glucosa inicial aumenta el efecto de inhibición por esfuerzo osmótico, pero analizando las bajas concentraciones de glucosa al inicio del proceso se encontró una alta correlación con la limitación de crecimiento celular y mayor tasa de mortandad.

En cuanto a investigaciones en el área de estrategias de control aplicadas a bioprocesos se puede mencionar a Quintero y di Sciascio [12] quienes presentaron y simularon un modelo dinámico de fermentación alcohólica en continuo con recirculación de microorganismos utilizando *Zymomonas mobilis*, quienes poseen un comportamiento altamente oscilatorio, el cual se ve afectado al

combinar determinadas concentraciones de sustrato y tasas de dilución. Implementaron el algoritmo del Filtro de Kalman Extendido (FKE) con la finalidad de determinar los estimadores de estados del proceso de fermentación presentado considerando como variable de interés la cantidad de biomasa. La comparación entre Los resultados de la observación de los estados del sistema, y las características estadísticas asignadas a cada una de las variables arrojó desviaciones estándar comprendidas entre 0.05 y 0.1. También fue implementado el FKE para la estimación del parámetro correspondiente al retardo de inhibición de la *Zymomonas mobilis* en donde se obtuvieron desviaciones estándar de los estados entre 0.005 y 0.1.

Baruch et, al [13] desarrollaron una estrategia de control neuronal adaptable con término integral para un proceso de fermentación aerobio por lotes cuyo microorganismo de fermentación es la bacteria *Bacillus thuringiensis* (Bt) y los productos de interés son una serie de proteínas con propiedades tóxicas para larvas de insectos dañinos en la agricultura. Para llevar a cabo esta investigación se representó el proceso de fermentación a partir de ecuaciones diferenciales ordinarias y posteriormente implementaron dos redes neuronales recurrentes entrenables. La primera red representó una aproximación de la salida del bio-reactor y la segunda se encargó de generar la señal de control de tal forma que la concertación de biomasa fuera regulada mediante la alimentación de un flujo con nutrientes al bio-reactor.

Aun con la variedad de estrategias de control disponibles que pueden ser implementadas en bio-reactores aun muchos de los bio-reactores que actualmente trabajan con lazos de control cerrados bajo el mando de controladores PID para mantener las condiciones en los valores deseados, sabiéndose que una característica de los bio-reactores es el manejo de dinámicas muy lentas las

cuales son caracterizadas por el tiempo de residencia para operaciones continuas [6].

Entre las estrategias que se han establecido a procesos industriales se encuentra El Modelo de Control Predictivo (MPC) que se ha establecido como la estrategia de control que permite el cumplimiento de requerimientos previos. Sin embargo, las estrategias MPC son diseñadas basadas en un modelo con limitada capacidad de adaptación, y la industria está empezando a proveer herramientas para compensar estos modelos. Pero el modelo de adaptación no tiene una clara solución aún [3]. Algunas de las últimas investigaciones en control de bio-reactores demostraron que la aplicación estándar de MPC no es suficiente para lograr un buen rendimiento. Recientemente, un modelo fenomenológico, junto con un filtro de ruido [14] se aplicó a compensar la dinámica en distintos lotes de sustrato de fermentación sólida en bio-reactores. Se observó que el rendimiento del MPC disminuyó a medida que el proceso se aleja de la región de concepción, e incluso el modelo fenomenológico degradó el desempeño del controlador. Otros enfoques para la utilización del modelado matemático de los datos obtenidos de la bioinformática o métodos de monitoreo en tiempo real [15], pueden resultar muy limitados en una planta a escala debido a la intensa vigilancia de reacción relacionados con las variables. Una interesante estrategia implementa un controlador no lineal basado en un polinomio de tiempo discreto modela (NARMAX) y evalúa su desempeño en un fermentador [16]. Desafortunadamente, este tipo de estrategia no es apoyado por las tecnologías industriales DCS (*Distributed Control Systems*), que requieren un sistema autónomo para la planta de escala aplicación.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el mundo entero la producción de etanol carburante se lleva a cabo a partir de un proceso de fermentación en el cual las mieles o azúcares de los diferentes cultivos se transforman en alcohol a partir de levaduras o bacterias específicas. Los recipientes donde es llevado a cabo el proceso de fermentación son denominados bio-reactores. Estos equipos no solo se utilizan para la producción de etanol, se utilizan para muchos propósitos como por ejemplo en la producción de medicamentos, enzimas, alimentos, desarrollos médicos y científicos, que son objeto de significativos estudios por parte de la industria química, farmacéutica y alimenticia, ya que con esto se puede sintetizar un sin número de sustancias muy valiosas en la economía actual.

El éxito en la producción de etanol depende en gran medida del cuidado de los microorganismos cultivados y el mantenimiento de las condiciones de operación (Presión, temperatura, pH, velocidad de agitación entre otras) en un punto óptimo [6]. Con el fin de lograr el mejor crecimiento microbiano, de una forma sana sin ruptura en las estructuras de crecimiento de los microorganismos, sin contaminación y sobre todo sin permitir que la tasa de mortandad microbiana alcance altos niveles, por lo tanto, se requiere un control robusto capaz de mantener estas variables en puntos de operación seguros, el control debe ser capaz de trabajar con perturbaciones, no-linealidades y tiempos de respuesta lento.

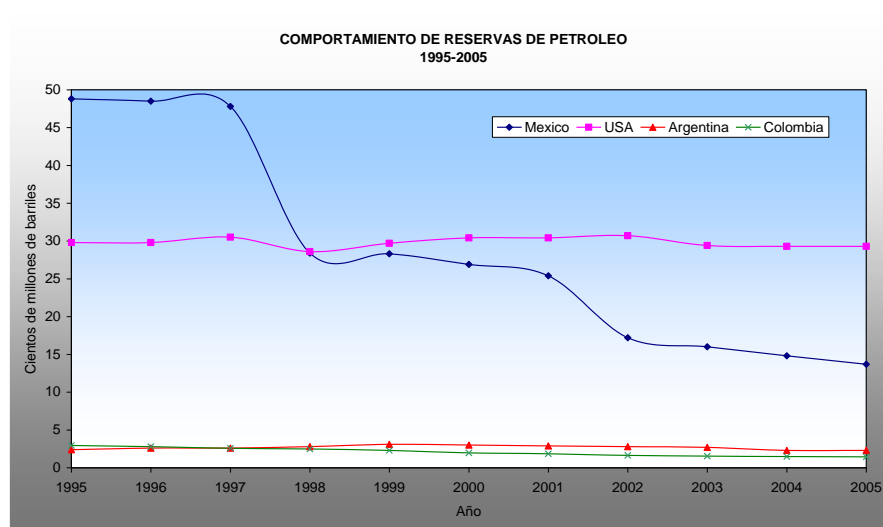
En esta investigación se pretende desarrollar un modelo dinámico de un bio-reactor de fermentación alcohólica de operación en continua para luego implementar una estrategia de control adaptativo capaz de compensar no-linealidades del proceso biotecnológico y buscar condiciones idóneas de

operación, haciendo uso de herramientas disponibles en las plataformas de control industrial, como el DMC (*Dynamic Matrix Control*) y lógica difusa.

1.3 JUSTIFICACIÓN

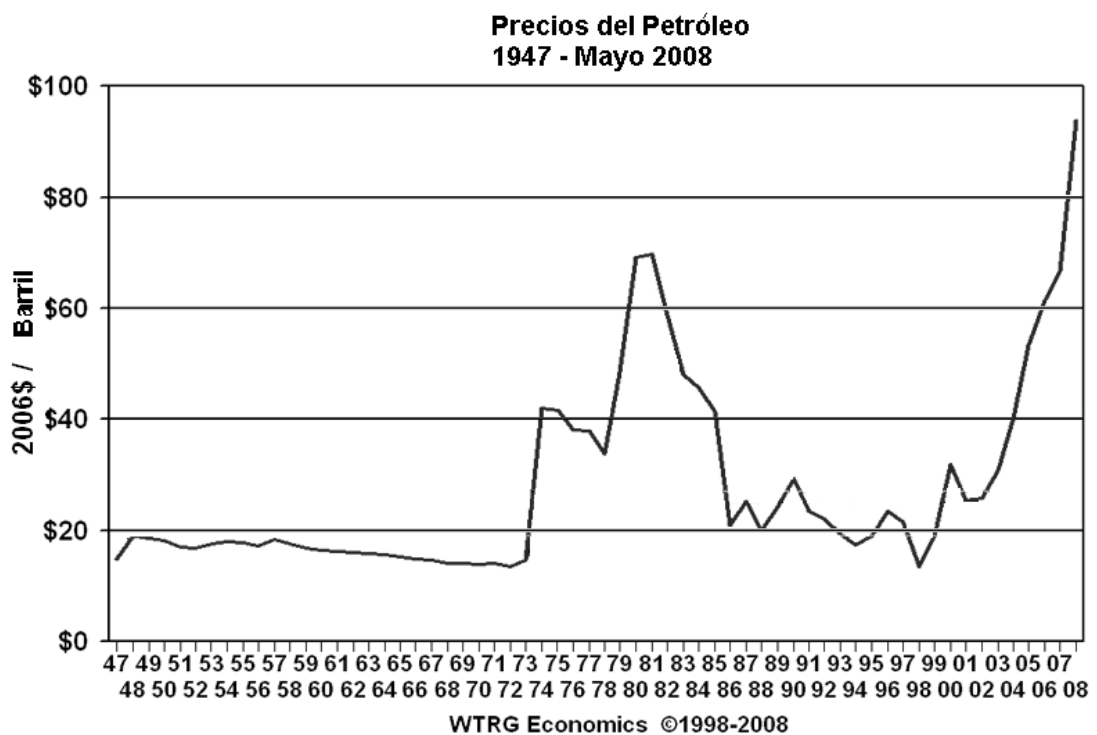
El petróleo ha sido reconocido como principal fuente productora de energía, tanto que muchos países dependen netamente de la importación de este producto, a tal punto que ha tomado un papel importante en las decisiones de la economía mundial. Esta mezcla de hidrocarburos que en cierto tiempo parecía inmensamente grande hoy día se cuestiona cuánto tiempo más se podrá gozar de este recurso. De acuerdo a estadísticas ofrecidas por ECOPETROL [2] las reservas de petróleo en ciertos países como Estados Unidos y México tienden a escasear. En la figura 1 se muestra el comportamiento de disponibilidad de reservas desde el año 1995 hasta el año 2005 para Estados Unidos, México, Argentina y Colombia.

Figura 1. Comportamiento de reservas de petróleo.



A todo lo anterior se le suman también, intereses políticos, la demanda y la oferta lo cual han ocasionado una tendencia de alzas en los precios del petróleo, para muchos desmesurada si se compara con los precios de hace algunos años. En la figura 2 se muestra el comportamiento fluctuante de los precios del petróleo desde el año 1947 hasta mayo de 2008.

Figura 2. Fluctuaciones de los precios del petróleo de 1947 a Mayo de 2008

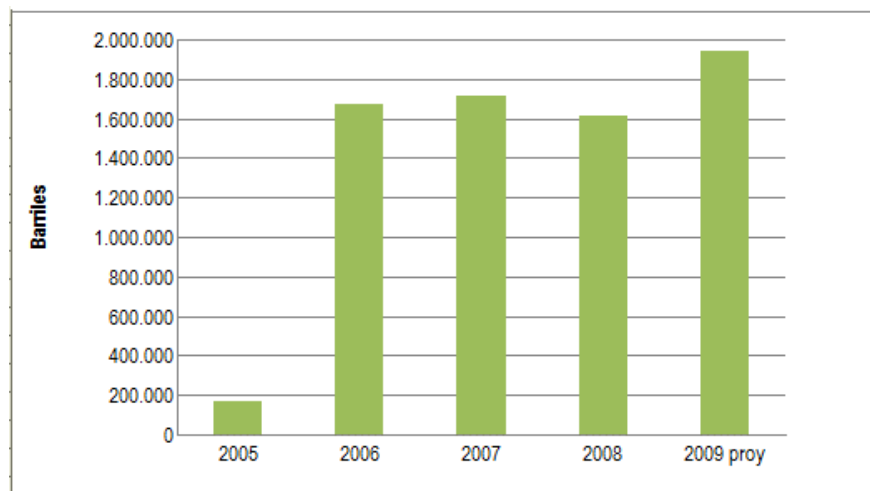


Fuente: www.wtrg.com/prices [17]

Teniendo en cuenta los factores antes mencionados, en los últimos años se ha estado trabajando fuertemente en el posicionamiento de los biocombustibles, cada día se emiten nuevas normativas que apoyan y promueven el uso de estos, con el fin de reducir la dependencia de los hidrocarburos y contribuir a la reducción de emisiones contaminantes. Entre los biocombustibles estudiados a nivel mundial

y con grandes perspectiva se encuentra el biodiesel, el etanol, el hidrógeno, el biogás entre otros. En algunos de estos los procesos de producción son más sencillos como el caso del biodiesel y el etanol, de tal forma que actualmente se cuenta con muchas plantas productoras a nivel mundial de biodiesel y etanol. En la figura 3 se presenta la producción de alcohol carburante en Colombia en los últimos cuatro años y la proyección de año 2009.

Figura 3. Producción de alcohol carburante en Colombia.



Fuente: <http://www.sipg.gov.co/> [18]

El etanol producido actualmente es utilizado como aditivo para mezclarlo con la gasolina. Las concentraciones de mezcla de etanol varían generalmente entre 5 y 10%, pero pueden alcanzar hasta 85% para los vehículos policarburantes [19] dependiendo de las normativas de cada país.

Considerando la panorámica mundial Colombia se ha puesto a la tarea de ir a la vanguardia en el estudio de los biocombustibles especialmente en la producción de etanol a tal punto que se considera el segundo productor de etanol en

Latinoamérica con una producción por encima de un millón de litros diarios, después de Brasil con 48 millones de litros diarios [19]. Concretando entonces una proyección para Colombia de veintisiete plantas productoras de etanol para el año 2020. Sin duda alguna el rápido desarrollo en el campo de biocombustibles hace de él un negocio insospechado cinco años atrás, sin duda alguna este negocio representa una alta rentabilidad y cada día que pasa se vuelve más competitivo, por lo tanto los procesos involucrados en la producción deben ser lo suficientemente exigentes de tal forma que se cumplan con las especificaciones de productos requeridas por las leyes existentes [5].

Ante el crecimiento del mercado del etanol y los beneficios económicos y ambientales los procesos de fermentación en los bio-reactores se le deben revisar las cinéticas que conforman la reacción, parámetros de operación y ser cuidadosamente controlados garantizando el manejo de no-linealidades asociadas a cambios de tiempo muerto, cambios de ganancias o regiones dinámicas variables en el interior del proceso. Considerando la proyección económica del etanol y de las plantas productoras a nivel mundial el modelamiento y simulación de procesos permiten experimentar y diseñar estrategias de control de un modo seguro sin comprometer muchos recursos y dinero en inversión para la construcción de plantas.

1.4 OBJETIVOS

A continuación se encuentran el objetivo general y los específicos de la presente investigación.

1.4.1 Objetivo General

Desarrollo de un modelo dinámico de un bio-reactor de producción de alcohol etílico por vía biológica, implementando una estrategia de control avanzado.

1.4.2 Objetivos Específicos

Para alcanzar el objetivo general descrito es necesario apuntar hacia los siguientes objetivos específicos.

- Caracterizar la cinética de la reacción biológica, evaluando las variables relevantes a partir de investigaciones previas.
- Analizar la producción de etanol a partir de diferentes tipos de cultivos biológicos.
- Obtener y simular a partir de un modelo dinámico el comportamiento de las variables significativas de un bio-reactor productor de etanol.
- Diseñar una estrategia de control capaz de garantizar las condiciones óptimas que permitan producir las mayores cantidades de etanol, además de conservar un medio adecuado para la supervivencia del agente biológico.
- Simular y optimizar las condiciones de operación del bio-reactor que permita evaluar el desempeño global del controlador implementado.

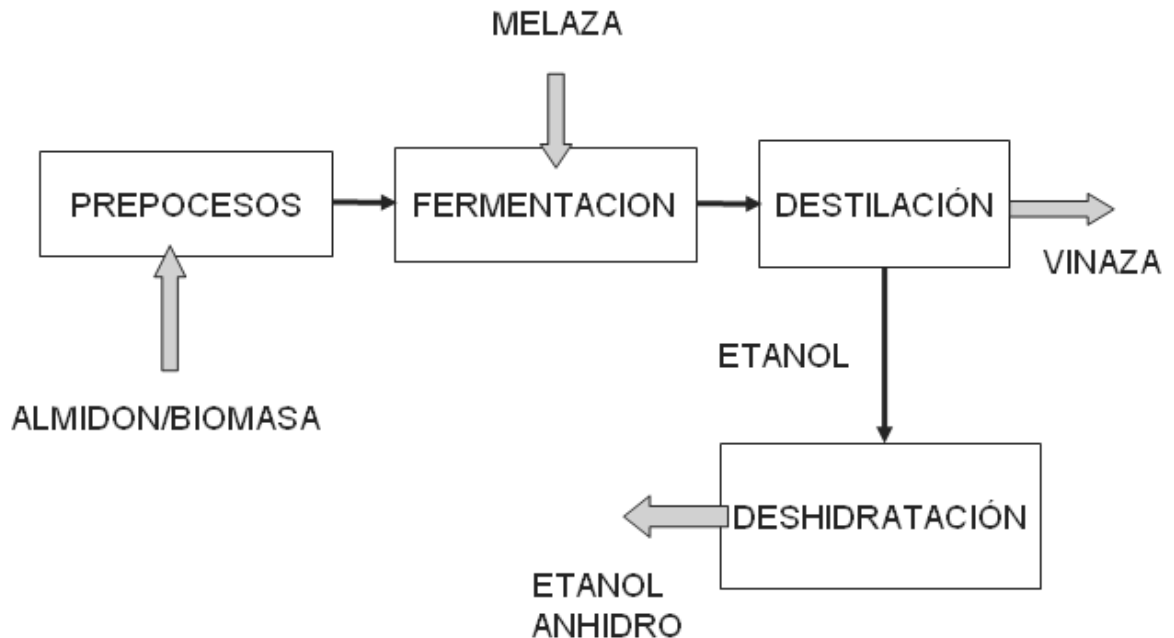
2 MARCO CONCEPTUAL Y ESTADO DEL ARTE

El etanol o alcohol carburante es un compuesto orgánico líquido inflamable de naturaleza diferente a los hidrocarburos, que tiene en su molécula un grupo hidroxilo (OH) enlazado a un átomo de carbono [20]. No posee olor ni color característico de los alcoholes. Normalmente es utilizado para realizar mezclas con combustibles básicos derivados del petróleo hidrocarburos.

El etanol puede ser obtenido a partir de diferentes fuentes o cultivos, entre estos se puede mencionar yuca, papa, maíz, remolacha, caña de azúcar, y residuos forestales, el proceso es posible debido a que estos cultivos poseen de alguna forma carbohidratos, los cuales pueden ser fermentados y transformarse en alcohol [19].

El primer paso para la obtención del alcohol carburante es la fermentación, que es un proceso donde los azúcares contenidos en los jugos y las mieles de los diferentes cultivos se transforman en alcohol con la ayuda de microorganismos. Después el alcohol fermentado, pasa a unas columnas de destilación donde a través de un proceso de evaporación se separan compuestos obteniéndose el alcohol más puro. Durante este proceso de separación aparece como subproducto una mezcla de fósforo, potasio y aluminio conocida como vinaza. Luego el etanol es llevado a la etapa final de deshidratación donde se retira el agua del alcohol y se obtiene el alcohol carburante o anhidro [19]. Ver figura 4.

Figura 4. Procesos presentes en la producción de etanol.



De acuerdo con el cultivo utilizado como materia prima se adicionan ciertos preprocesos para lograr la obtención de los azúcares que algunas veces no se encuentran de forma directa. A continuación se mencionan algunas formas de obtención de etanol.

2.1 ETANOL A PARTIR DE DIFERENTES MATERIAS PRIMAS

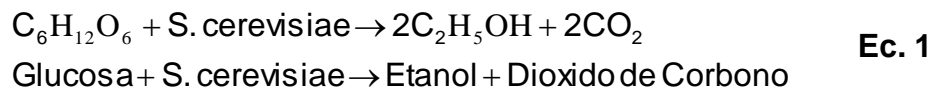
El etanol es un producto que puede ser obtenido a partir de diferentes fuentes de carbono, entre ellas glucosa, almidón y biomasa.

2.1.1 Etanol A Partir de Caña de Azúcar

La principal materia prima para la producción de etanol en países tropicales como Brasil e India es la caña de azúcar en forma de melazas y el principal

microorganismo utilizado para la fermentación es la *Saccharomyces cerevisiae* [21].

La estequiométrica de la reacción esta dada por la siguiente ecuación

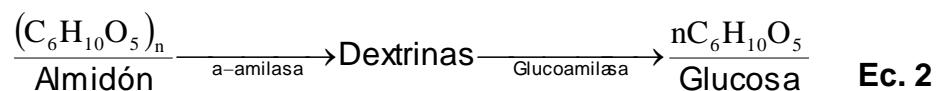


Donde el microorganismo al que se hace referencia es una levadura, sin embargo también pueden ser utilizados hongos o bacterias.

2.1.2 Etanol A Partir de Almidón

En países como Estados Unidos la principal materia prima para la obtención de etanol es el almidón. Para desarrollar un proceso de fermentación a partir de este sustrato es necesario primero llevar a cabo un proceso de hidrólisis, el cual consiste en romper las cadenas de este polisacárido para obtener jarabe de glucosa que será metabolizado por los microorganismos encargados de fermentar. Se conoce que aproximadamente de cada 100g de almidón se pueden obtener teóricamente 111g de glucosa lo que implica una relación estequiométrica de 9:10 [21].

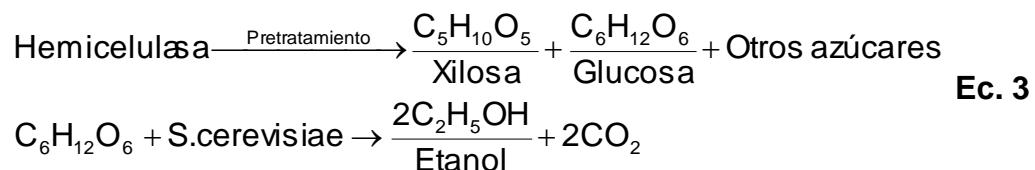
El proceso de hidrólisis se lleva a cabo a partir de la siguiente ecuación estequiométrica.



2.1.3 Etanol A Partir de Biomasa Lignocelulosa.

La lignocelulosa es una de la materias primas mas recientes para la obtención de etanol, esta puede ser obtenida de la madera, residuos de la industria papelera, bagazo de caña, desechos agrícolas, frutas etc.

El principal reto en la producción de etanol a partir de lignocelulosa es el pre-tratamiento e hidrólisis de la materia prima. El complejo lignoceluloso esta compuesto principalmente de una matriz de carbohidratos compuesta por celulosa y lignina enlazadas por cadenas de hemicelulosa. El pre-tratamiento tiene como objetivo desintegrar esta matriz de tal manera que la celulosa reduzca su grado de cristalinidad y aumente la celulosa amorfa, que es más adecuada para el ataque enzimático. En la etapa posterior la celulosa es sometida a hidrólisis con celulasas exógenas, lo cual hace que se obtenga una solución de azúcares fermentables. [21]. La estequiometría del preproceso esta dada de la siguiente manera y la transformación a etanol ocurre igual que en los otros procesos.



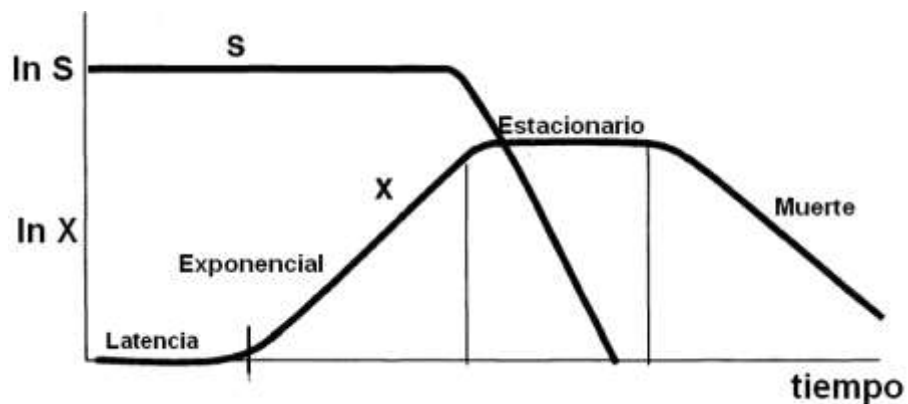
2.2 MICROORGANISMOS

Los microorganismos son organismos microscópicos que a simple vista no pueden ser observados, pueden encontrarse como virus, bacterias, hongos o protozoos. Aunque normalmente son asociados a infecciones y enfermedades los microorganismos también tienen aplicaciones industriales ya que se utilizan en la síntesis de productos químicos como son acetona, ácidos orgánicos, enzimas, alcohol y muchos medicamentos. [22]

2.2.1 Cinética Microbiana

El crecimiento bacteriano inicia al inocular nutrientes con una pequeña cantidad de células. Durante el crecimiento bacteriano se identifican claramente cuatro fases. Una fase de latencia en la cual los microorganismos se adaptan al medio en el cual iniciarán la fase de crecimiento exponencial, durante esta fase el crecimiento bacteriano es máxima y es la más importante durante todo el proceso de producción. Al presentarse un agotamiento de los nutrientes iniciales se inicia una fase estacionaria donde los microorganismos limitan su crecimiento y posteriormente entran a la fase de muerte. En la figura 5 se presenta de forma esquemática cada una de estas etapas.

Figura 5. Concentración de biomasa y sustrato



Fuente: *Biological Reaction Engineering* [23]

Teniendo en cuenta la fase de crecimiento exponencial se puede definir la tasa general de formación de biomasa, r_x . [23]

$$r_x = \frac{dX}{dt} = kX \quad \text{Ec. 4}$$

Donde; X es la cantidad de biomasa.

k es la constante cinética de crecimiento celular.

La solución analítica de la ecuación diferencial de primer orden planteado anteriormente es de la forma.

$$\frac{X}{X_0} = e^{k \cdot t} \quad \text{Ec. 5}$$

Donde X_0 representa la concentración inicial de biomasa en el tiempo $t=0$.

De acuerdo a la fase de muerte celular la tasa de muerte puede expresarse de la siguiente manera.

$$r_d = -k_d X \quad \text{Ec. 6}$$

Donde k_d es una tasa específica de muerte.

Aunque existen muchas leyes para la tasa de crecimiento de células nuevas, la expresión más usada es la ecuación de Monod para describir el crecimiento exponencial.

$$r_x = \mu C_x \quad \text{Ec. 7}$$

Donde, C_x Concentración de células
 μ Tasa de Crecimiento específica

La tasa de crecimiento específica se denomina ecuación de Monod y se expresa como:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_s}{K_s + C_s} \quad \text{Ec. 8}$$

Donde,

μ_{\max} es la tasa de crecimiento específica máxima, Representa la velocidad de crecimiento en condiciones favorables sin limitación del sustrato..

C_s Concentración de sustrato limitante.

K_s Constante de saturación de Monod. Representa el grado de afinidad del microorganismo por el sustrato.

2.2.2 Inhibición del Crecimiento Celular.

Durante un proceso de fermentación alcohólica, el etanol se acumula en grandes concentraciones de tal forma que la actividad metabólica del microorganismo es suprimida, como la presencia de etanol disminuye la velocidad específica de crecimiento la ecuación de Monod es extendida o modificada adicionando algunos términos para relacionar la inhibición por productos o exceso de sustrato [24].

2.2.3 Inhibición por Concentración del Sustrato

Algunos sustratos pueden ser metabolizados por los microorganismos en concentraciones bajas, sin embargo cuando las concentraciones de sustrato son

altas puede ocurrir que los microorganismos sean inhibidos. Por lo tanto la ecuación de Monod modificada que permite incluir este tipo de inhibición se expresa de la siguiente manera [24]

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_S}{K_S + C_S + \frac{C_S^2}{K_I}} \quad \text{Ec. 9}$$

Donde K_I es la constante de inhibición.

2.2.4 Inhibición por Concentración de Productos

En muchos sistemas el exceso de producto generado por la metabolización del sustrato por los microorganismos inhibe la tasa de crecimiento. Por lo tanto la ecuación de Monod modificada incluyendo este efecto se presenta a continuación.

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_S}{K_S + C_S + \frac{C_P}{K_I}} \quad \text{Ec. 10}$$

Donde, C_P es la concentración de producto.

K_I es la constante de inhibición por productos.

En varios estudios sobre la cinética del etanol fue observado que la inhibición por etanol afecta la tasa específica máxima de crecimiento pero no afecta la constante de Monod [23]. Una de las relaciones destacadas es mostrada a continuación.

$$\mu = \mu_{\max} \frac{C_S}{C_S + K_S} \left(1 - \frac{C_P}{K_I} \right) \quad \text{Ec. 11}$$

Donde $\frac{C_P}{K_I}$ es el término de inhibición de productos.

2.2.5 Influencia de la Temperatura y el pH

En la tasa de crecimiento bacteriano también juegan un papel importante la temperatura y el pH, en la mayoría de procesos biológicos es deseable mantener la temperatura y el pH en valores constantes asociados a los óptimos de operación y son considerados como parámetros del cultivo para diferenciarlo de las otras variables del proceso.

La influencia de la temperatura en la tasa específica de crecimiento de microorganismos se asocia a la actividad enzimática. Donde al aumentar la temperatura hasta cierto punto, se inicia la desnaturalización de la proteína. Por debajo de esta temperatura la tasa de crecimiento celular se incrementa de la forma [24]:

$$\mu_{\max} = A e^{-\frac{E_g}{RT}} \quad \text{Ec. 12}$$

Donde, A representa una constante

E_g es la energía de activación para que inicie el proceso de crecimiento.

La influencia del pH en la actividad celular es determinada con base en la sensibilidad de las enzimas individuales a los cambio de pH. Las enzimas son normalmente activas dentro de un cierto intervalo de pH y la actividad total del conjunto de enzimas representa funciones complejas del pH del medio en el que

se encuentran [24]. Si la actividad celular se encuentra asociada a la actividad enzimática entonces la tasa máxima de crecimiento está dada por la siguiente expresión.

$$\mu_{\max} = \frac{1}{1 + \frac{[H^+]}{K_1} + \frac{K_2}{[H^+]}} \quad \text{Ec. 13}$$

Donde, K_1 y K_2 son constantes de disociación que se ajustan a un gran número de microorganismos.

2.2.6 Principales Microorganismos Productores de Etanol

En la producción de etanol se trabaja normalmente con glucosa como sustrato, pero existe una gran variedad de microorganismos que pueden generar etanol a partir de este sustrato, algunos con mejores desempeños que otros. En los últimos años se han otorgado 281 patentes en aspectos relacionados con organismos productores de etanol, algunos incluyen la formación de otros productos como el butanol, isopropil, ácidos orgánicos, polioles, ketones o varios gases como metano y dióxido de carbono. En la tabla 1 se presentan una lista de los microorganismos según su categoría capaces de producir etanol como producto primario.

Tabla 1. Organismos utilizados para la fermentación alcohólica.

Categoría	Microorganismo
Levaduras	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Saccharomyces cerevisiae</i> - <i>Saccharomyces ellipsodides</i> - <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> - <i>Saccharomyces fragilis</i> - <i>Saccharomyces ovaru</i> - <i>Saccharomyces pastorianus</i> - <i>Schizosaccharomyces pombe</i> - <i>Kluyveromyces marxianus IMB3</i> - <i>Pichia stipites</i>
Hongos	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Aspergillus oryzae</i> - <i>Aspergillus awamori</i> - <i>Candida shehatae</i>
Bacterias	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Escherichia coli</i> - <i>Zymomonas mobilis</i> - <i>Thermoanaerobacter mathrani</i> - <i>Clostridium acetobutylicum</i> - <i>Clostridium beijerinckii</i>

Fuente: Bullock. G. E., 2003 [25]

En la tabla 2 se presenta una lista del rendimiento de distintos microorganismos productores de etanol con respecto a la glucosa metabolizada.

Tabla 2. Rendimiento de algunos microorganismos fermentadores.

Microorganismos.	mmol de etanol producido / mmol de glucosa metabolizada. Por encima de:
<i>Clostridium sporogenes (Patogena)</i>	4.15
<i>Clostridium indolins (Patogena)</i>	1.9
<i>Clostridium sordelli</i>	1.8
<i>Zymomonas mobilis (Anaeróbica)</i>	1.9
<i>Zymomonas mobilis Ssp. Pomace</i>	1.7
<i>Spirochaeta aurantía</i>	1.5
<i>Sperichaeta litoralis</i>	0.8
<i>Erwinia amylovora</i>	1.2
<i>Leuconostac mesenteroides</i>	1.1
<i>Streptococcus lactis</i>	1.0
<i>Sarcina ventriculi (syn Zymosarcina)</i>	1.0

Fuente: *Evaluation and Isolation of Ethanol Producer Strain* [26]

Como se puede ver en la tabla anterior algunas bacterias poseen rendimientos relativamente altos para la producción de etanol, como lo son las cepas de *Clostridium*, sin embargo la cantidad de etanol producido, dióxido de carbono, hidrogeno, acetato y lactato, dependen ampliamente de si son especies mesófilas y termófilas [27]. Al menos 30 especies de *Clostridium* han sido reportadas de producir etanol en cantidades que varían desde pequeños trazos hasta máximos teóricos. En la mayoría de las especies la naturaleza y concentración del sustrato, factores de operación como pH y temperatura alteran

drásticamente la cantidad de etanol producido [28]. Debido a esto la *Zymomonas mobilis* se postula como la bacteria más atractiva para la producción de etanol.

Normalmente la mayor preocupación en la producción de etanol es la inhibición por producto [29], debido a esto se ha investigado en tecnologías para modificar esta inhibición, aunque seleccionar un microorganismo con altas tolerancia al etanol podría ayudar a solucionar este problema. La *Z. mobilis* fue descubierta durante 1912 solo hasta 1931 fue conocida su eficiencia para la producción de alcohol. En 1934 se demostró que cuando la *Z. mobilis* es cultivada en presencia de glucosa el 98% del sustrato es transformado en etanol.

Si bien la *Saccharomyces cerevisiae* y la *Zymomonas mobilis* son las mejores opciones para la producción de etanol a nivel industrial, resulta que esta última posee una alta tolerancia al etanol sin inhibición, mayores velocidades específicas de consumo de sustrato y producción de etanol, por lo tanto tiene un mayor rendimiento de etanol producido por glucosa fermentada, cerca de 5 a 10 % con respecto a *Saccharomyces cerevisiae* [8] [30], además, posee una ruta metabólica completamente anaerobia. Sin embargo *Z. mobilis* no es capaz de convertir carbohidratos complejos como celulosa, hemicelulosa y almidón a etanol, pero son capaces de metabolizar sustratos como fructosa, sacarosa y glucosa para producir distintas sustancias orgánicas como etanol, sorbitol y ácido glicólico de forma aeróbica y logrando la máxima producción de etanol cuando se utiliza la glucosa como medio [31]. Otra limitación *Z. mobilis* es la ausencia de esporas por lo tanto no se garantiza la dispersión y supervivencia por largo tiempo en condiciones adversas y de constituyentes de almacenamiento celular por lo tanto resulta ineficiente para la producción de biomasa.

En cuanto a aplicaciones Industriales solo hasta los años 60 la bacteria fue utilizada a nivel industrial para la producción de una bebida alcohólica mexicana con

cocultivo [32] , de acuerdo este ha sido el único momento donde la de *Z mobilis* ha sido utilizada a escala industrial. Aunque no es recomendada para la producción de bebidas alcohólicas la bacteria presenta un gran potencial en para la producción de alcohol carburante y procesos de síntesis química.

Entrando a revisar otros factores de la *Z. mobilis* se ha encontrado que tiene cierto comportamiento de crecimiento a diferentes temperaturas y pH. Donde las cepas de *Zymomonas* anaerobias crecen en el rango de pH comprendido ente 3.4 a 7.5 [34].

Con respecto al crecimiento de *Zymomonas* a diferentes temperaturas se encontró que por encima de los 30°C la tendencia de las cepas es al no crecimiento, en la tabla 3 se presentan algunos resultados del porcentaje de crecimiento de las cepas en un medio estándar a diferentes temperaturas con pH constante. A temperaturas cercanas a 60°C las bacterias no resisten más de 5 minutos antes de morir [34]. En la tabla 3 también se muestran los porcentajes de crecimiento en un medio estándar a diferentes rangos de pH y temperatura manteniendo una temperatura constante en el cultivo de las cepas.

Tabla 3. Crecimiento de las cepas de *Zymomonas* a diferentes valores de Ph y Temperatura

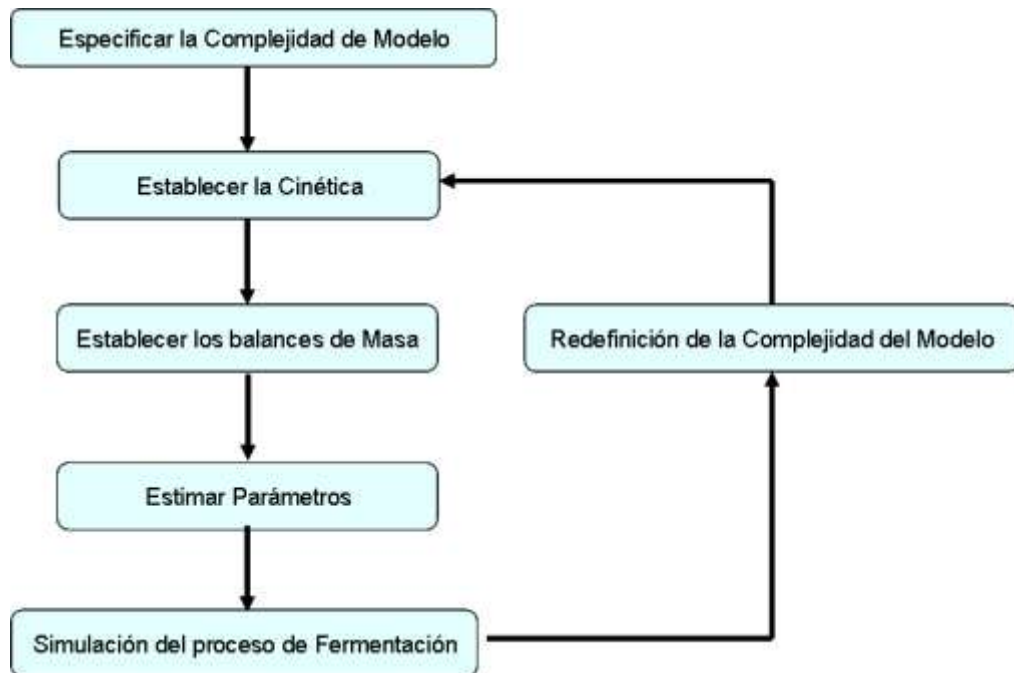
pH inicial	% de crecimiento de las cepas		Temperatura	% de crecimiento de las cepas
3.05	0		30	100
3.5	43		34	97
3.7	71		36	97
3.85	90		38	74
5-7	100		40	5
7.50	87		-	-
8.0	0		-	-

Fuente: *The Biology of Zymomonas* [32]

2.3 PRINCIPIOS DE MODELADO

El modelamiento de procesos es frecuentemente utilizado en distintas investigaciones, con el fin de representar matemáticamente procesos físicos, sin embargo para desarrollar un modelo matemático es necesario cumplir la serie de pasos mostrados en la figura 6.

Figura 6. Pasos para el desarrollo de modelos matemáticos de fermentación.



Fuente: *Bioreaction Engineering Principles* [24].

Donde el paso más importante es la especificación de la complejidad del modelo, lo cual depende de cierta forma del uso del modelo y el alcance final de estudio de este. Las especificaciones de la complejidad del modelo envuelven la definición de reacciones asociadas a la concentración del sustrato, productos metabolizados y

crecimiento celular, así como el desarrollo apropiado de balances de masas y energía. Al completar este grupo de ecuaciones se puede entonces modelar matemáticamente un proceso de fermentación. Sin embargo es necesario definir una serie de valores asignados a los distintos parámetros presentes en el modelo.

Los modelos de fermentación pueden dividirse en cuatro grupos dependiendo del nivel de detalle en el modelo. De acuerdo con la figura 7, la descripción más simple es el llamado modelo no-estructurado, donde la biomasa es descrita como una simple variable y donde la segregación de la población de las células no es considerada, es decir la biomasa es considerada completamente homogénea; cuando en el modelo se consideran grupos de células individuales entonces este modelo es llamado segregado, y cuando la biomasa es descrita por mas de una variable se le llama modelo estructurado [24] [33].

Figura 7. Diferentes modelos basados en la estructura celular y poblacional.



Fuente: *Bioreaction Engineering Principles* [24].

2.3.1 Formulación de las Ecuaciones de Balance

Uno de los principios básicos de modelado es la conservación de masa, en un bio-reactor las condiciones de operación cambian en función del tiempo, por lo tanto los balances de masa en estado estable son inapropiados, por lo tanto se plantean balances de masa dinámicos, tales como los que se muestran a continuación.

$$\left(\begin{array}{l} \text{Tasa de acumulación} \\ \text{de masa en el sistema} \end{array} \right) = \left(\begin{array}{l} \text{Tasa de masa} \\ \text{que entra al sistema} \end{array} \right) - \left(\begin{array}{l} \text{Tasa de masa} \\ \text{que sale del sistema} \end{array} \right)$$

$$\frac{dm}{dt} = \sum m_{\text{entra}} - \sum m_{\text{sale}} \quad \text{Ec. 14}$$

La expresión anterior representa la acumulación de masa total en el sistema con respecto al tiempo. En la práctica se encuentra que algunas corrientes de entrada salida poseen más de un componente químico o biológico en su composición, en tal caso se plantean balances de masa de acuerdo a los componentes presentes.

$$\left(\begin{array}{l} \text{Tasa de acumulación} \\ \text{de masa del componente} \\ \text{en el sistema} \end{array} \right) = \left(\begin{array}{l} \text{Flujo de masa del} \\ \text{componente al interior} \\ \text{del sistema} \end{array} \right) - \left(\begin{array}{l} \text{Flujo de masa del} \\ \text{componente al exterior} \\ \text{del sistema} \end{array} \right)$$

De la misma forma se encuentran sistemas en los cuales se llevan a cabo una serie de reacciones ya sean de consumo o aparición de nuevos componentes, ante estos casos es necesario incluir los términos debido a las reacciones, a continuación se muestra la estructura de balances de componentes con reacción.

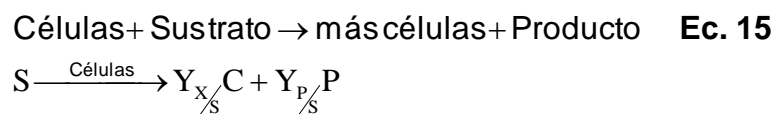
$$\left(\begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{acumulaci3n} \\ \text{de masa del} \\ \text{componente} \\ \text{en el sistema} \end{array} \right) = \left(\begin{array}{c} \text{Flujo de} \\ \text{masa del} \\ \text{componente} \\ \text{al interior} \\ \text{del sistema} \end{array} \right) - \left(\begin{array}{c} \text{Flujo de} \\ \text{masa del} \\ \text{componente} \\ \text{al exterior} \\ \text{del sistema} \end{array} \right) \pm \left(\begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{producci3n/} \\ \text{consumo} \\ \text{del componente} \\ \text{por la reacci3n} \end{array} \right)$$

Los balances de energa son necesarios cuando los cambios de temperatura son importantes, debido a las reacciones desarrolladas o por el simple control de temperatura. El balance de energa general en un bio-reactor se expresa de la siguiente forma:

$$\left(\begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{acumulaci3n} \\ \text{de energa} \\ \text{en el sistema} \end{array} \right) = \left(\begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{energa} \\ \text{debido al} \\ \text{flujo de} \\ \text{entrada} \end{array} \right) - \left(\begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{energa} \\ \text{debido al} \\ \text{flujo de} \\ \text{salida} \end{array} \right) - \left(\begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{energa} \\ \text{que sale} \\ \text{debido} \\ \text{a la} \\ \text{transferencia} \\ \text{de calor} \end{array} \right) \pm \left(\begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{producci3n/} \\ \text{consumo} \\ \text{de energa} \\ \text{por la reacci3n} \end{array} \right)$$

2.3.2 Estequiometrfa y Coeficientes de Producci3n.

La estequiometrfa de crecimiento celular varia de acuerdo al microorganismo y nutrientes seleccionados, asf como de las condiciones del entorno [36]. En general se tiene que:



Donde el coeficiente estequiom3trico o coeficientes de producci3n relacionan la cantidad de biomasa formada con la masa de sustrato consumido y se define

como la relación de la tasa de crecimiento del microorganismo y la tasa de consumo del sustrato o fuente de carbono disponible en el sistema. Los coeficientes de producción son variables propias de reacciones biológicas. Los coeficientes de producción se consideran, comúnmente, independientes del tiempo y son calculados basados en consideraciones globales [23].

$$Y_{x/s} = \frac{\text{masa de células nuevas formadas}}{\text{masa de sustrato consumida para producir células nuevas}}$$

y el coeficiente estequiométrico que relaciona la cantidad de producto formado con la masa de sustrato consumido se define como:

$$Y_{p/s} = \frac{\text{masa de producto formado}}{\text{masa de sustrato consumida para formar producto}}$$

Además del sustrato consumido para la reproducción de biomasa parte de él se utiliza para mantener las actividades diarias de las células. Por lo tanto el término de mantenimiento celular se define como:

$$m = \frac{\text{masa de sustrato consumida para mantenimiento}}{\text{masa de células} \cdot \text{tiempo}}$$

Por lo tanto la tasa de consumo de sustrato por el microorganismo, r_s , se expresa en función del crecimiento y el mantenimiento celular.

$$r_s = \frac{-r_x}{Y_{x/s}} - mX \quad \text{Ec. 16}$$

La tasa de formación de productos, r_P , se define generalmente a partir del modelo planteado por Luedeking-Piret [35].

$$r_P = \left(\frac{\mu}{Y_{X/P}} + b \right) \cdot [X] \quad \text{Ec. 17}$$

Donde b representa la formación de producto no relacionada con el crecimiento.

Los coeficientes de producción de energía relacionan la cantidad de calor producido con respecto al consumo de alguna de las fuentes energéticas en el sistema, así por ejemplo, el coeficiente de producción de energía respecto a la degradación del sustrato esta determinado por siguiente expresión [33],

$$Y_{Q/S} = \frac{r_Q}{r_S} = \frac{\text{Cantidadde calor rechazado}}{\text{Cantidadde la fuente de carbono consumida}}$$

2.4 PRINCIPIOS DE CONTROL APLICADOS A PROCESOS NO LINEALES

Los procesos biotecnológicos se llevan a cabo bajo cinéticas de reacción microbianas las cuales involucran altas no-linealidades, por lo tanto este tipo de procesos se reconocen como procesos no-lineales, requiriendo entonces estrategias de control capaces de lidiar con este tipo de comportamiento. Actualmente se implementan controladores desde PID (*Proportional Integral Derivative*) hasta sistemas avanzados de control, los cuales tienen la finalidad de mantener condiciones de operaciones que permitan garantizar la producción. En esta investigación se abordará la combinación del Control Predictivo Basado en modelos, MPC (*Model Predictive Control*) y el Control por Lógica Difuso, FLC.

El control predictivo MPC fue desarrollado a finales de la década de los setenta y desde entonces ha tenido un desarrollo considerable, a tal punto que últimos años ha alcanzado un nivel muy significativo de aceptabilidad industrial en aplicaciones prácticas de control de procesos [38], debido a su facilidad de incorporar dentro de su lógica criterios operacionales a través de la utilización de una función objetivo y restricciones para el cálculo de las acciones de control así como la capacidad de llevar a cabo sistemas de control altamente eficiente, desarrollado para operar durante largos periodos de tiempo con escasa intervención del recurso humano. El MPC corresponde a una estrategia de control basada principalmente en la utilización explícita de un modelo matemático del proceso con el fin de predecir la evolución futura de las variables controladas a lo largo de un horizonte de predicción finito, la imposición de una estructura en las variables manipuladas futuras, el establecimiento de una trayectoria deseada futura, o referencia, para las variables controladas y la aplicación del control siguiendo una política de horizonte móvil.

La ventaja más destacada del control predictivo (MPC) es la capacidad de admitir una representación matemática concebida bajo la forma de funciones objetivo (modelo representativo del proceso), lo cual hace de esta metodología capaz de manejar las variables y responder de forma sistemática y eficaz a los requerimientos del proceso. Otra ventaja del control predictivo es la fácil aplicación en sistemas con múltiples entradas y múltiples salidas (MIMO) lo cual le ha permitido ganar gran popularidad en entornos académicos e industriales.

Sin embargo el MPC tiene la necesidad de un modelo apropiado del proceso, ya que la elaboración del modelo debe recoger o ser lo más fiel a la dinámica real del proceso de modo que las predicciones del comportamiento futuro del proceso sea igual o aproximado al comportamiento real, de acuerdo a esto el desempeño de la

estrategia de MPC se verá afectado significativamente por el modelo dinámico del proceso, es decir el éxito del control basado en modelos depende principalmente básicamente de la construcción del modelo del proceso.

Pese a lo atractivo que es el MPC, cuando se tiene la existencia de procesos con dinámicas no lineales, tales como estados de equilibrio variables, comportamientos variables en las regiones de entradas y salidas el modelo lineal en el cual se basa la ley de control del DMC se limita a pequeñas regiones, considerando que el desempeño del controlador se encuentra altamente relacionado con la exactitud del modelo, el DMC presenta una disminución en su rendimiento a medida que se aleja de la zona de diseño origina [39].

Con la firme idea de darle solución a los problemas de control de procesos no lineales algunos autores han propuesto diferentes métodos de modificación en el algoritmo original de control del DMC. García [40] propuso emplear directamente las formulas no lineales en el algoritmo ampliando la formula QDMC (*Quadratic Dynamic Matrix Control*). La idea general propuesta para este controlador no lineal es calcular la variable del proceso por integración no lineal y ecuaciones diferenciales ordinarias del modelo sobre el horizonte de predicción manteniendo constante la salida del controlador. Durante el proceso de muestreo un modelo lineal es obtenido linealizando el modelo no lineal. El modelo lineal es usado posteriormente con el fin de calcular el coeficiente de respuesta a aplicar en la siguiente predicción.

Krishnan y Kosanovich, [41], plantearon el desarrollo de un control predictivo múltiple modelos a partir de la linealización del modelo matemático del proceso asociado a las trayectorias de referencia de las variables del proceso. Otro método similar consiste en linealizar las ecuaciones analíticas no lineales producto de la actual medición de las variables del proceso en cada tiempo de muestreo para

obtener ecuaciones discretas lineales de los estados de espacio. [42][43][44][45]. Los estados del proceso se calculan aplicando técnicas de identificación recursiva que implican el uso de un filtro de Kalman.

Bajo el mismo esquema Lakshmanan and Arkun [46] usaron modelos analíticos no lineales para obtener modelos de estado de espacio lineal en diferentes niveles de operación. Internamente el modelo del DMC se actualiza de acuerdo a la ponderación lineal de un estimado Bayesiano basado en los datos antes medidos. Una simplificación de este método es emplear un modelo de convolución, en el cual el modelo del DMC se divide en una parte dinámica lineal, que consta de la constante de tiempo y el tiempo muerto. Y en un estado estable no lineal, constituido por las ganancias del proceso. El estado estable no lineal es desarrollado a partir del modelo analítico del proceso [47]

Por otro lado algunos autores como [48] no incorporan cambios directamente en el algoritmo del DMC sino que calculan una perturbación como una combinación de perturbaciones del exterior y no-linealidades en el proceso, por lo tanto la perturbación se convierte en no lineal y tiempo variable, permitiendo mantener la respuesta del DMC con el algoritmo tradicional.

Todos los métodos expuestos coinciden en el desarrollo de metodologías para controlar procesos no lineales que involucran solo variaciones en las regiones de operación utilizando controladores DMC con algoritmos modificados, sin embargo es posible combinar los DMC modificados con otras estrategias de control con el fin de mejorar el desempeño del controlador.

La metodología expuesta en un trabajo de investigación previo [3] define un modelo estable de referencia que representa el proceso en una región determinada. Las otras regiones vecinas a la región de referencia son

relacionadas con el modelo estable de referencia por medio de incrementos definidos entre los modelos de las n regiones de operación, dichos incrementos, varían de acuerdo a factores que cambian suavemente a medida que se aproximan o se alejan de una región permitiendo recalcular el modelo del proceso de acuerdo a la región de operación. Para calcular los valores en los que varían los factores se utiliza el control por lógica difusa.

Introduciendo el concepto de Control por Lógica Difusa, se resalta que en 1965 fue introducida la teoría de conjuntos difusos por Zadeh [49], este concepto tuvo una gran influencia en el pensamiento acerca de la incertidumbre, debido a que en ese momento la teoría de la probabilidad era considerada como la única representación de la incertidumbre, posteriormente la teoría de conjuntos difusos fue utilizada alternativamente en un importante número de aplicaciones de control, las cuales actualmente abarcan desde el controlador directo FLC (*Fuzzy Logic Control*) hasta supervisión difusa, sin duda alguna el control lógico difuso se ha establecido como una herramienta muy útil ampliamente utilizada en procesos no-lineales, debido a la capacidad de incorporar el conocimiento de operadores calificados y la utilización frecuente del control difuso en supervisión o adaptación de controladote PID, ha demostrando la habilidad de proveer controladores adaptables

Las aplicaciones de lógica difusa en supervisión de controladores ha demostrado la capacidad de mejorar el rendimiento en procesos no lineales, lo que ha llevado a proponer distintas estrategias de control lógico difuso aplicadas a los procesos ya sea de manera directa o indirecta. De acuerdo a los estudios en control por lógica difusa en bioprocesos se puede clasificar en inferencia difusa directa e inferencia difusa indirecta. La primera clasificación se asocia a la determinación directa de las salidas a partir del conocimiento base y los datos en línea del proceso [50][51][52][56] La segunda se relaciona a la utilización de la lógica difusa

para estimar estados o fases del proceso para luego emplearlas en otras estrategias de control [53][54][55][57], dentro de esta clasificación se puede mencionar la supervisión de controladores por lógica difusa.

Entre las aplicaciones de la primera clasificación del control por lógica difusa se puede mencionar la implementación directa de un control por lógica difusa de la tasa de alimentación de azúcar en un proceso de fermentación de ácido glutámico expuesto por Nadadura et al. [51][56]

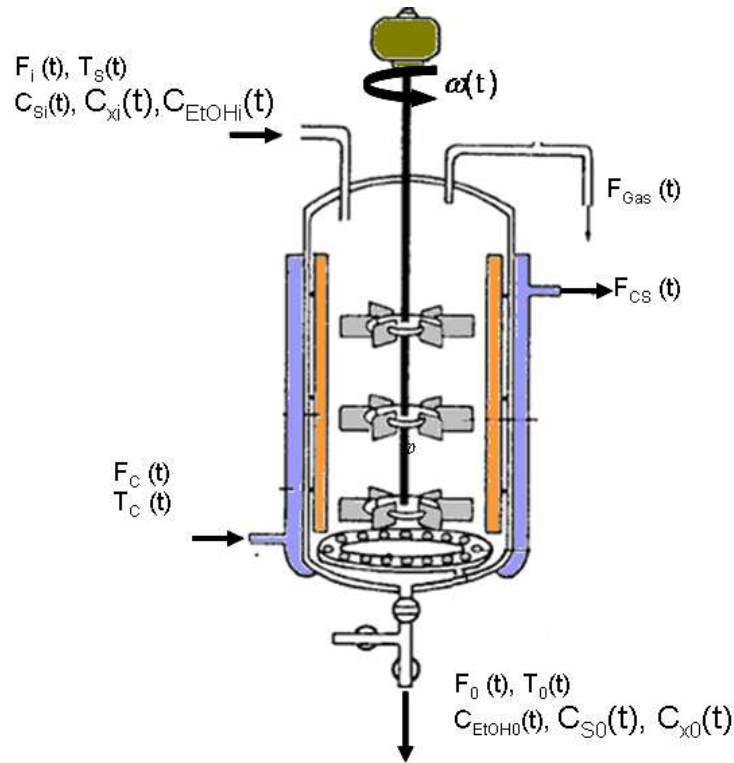
Mostrando las aplicaciones de control por lógica difusa indirecta Kavsek-Biasizzo et al. Presentaron una metodología de control predictivo no-lineal del pH basado en un modelo dinámico Takagi-Sugeno (TS) [57][59], en el cual la respuesta para los diferentes puntos de operación es obtenida en línea a partir del modelo lógico difuso no lineal y una modificación lineal en el algoritmo del DMC. Bajo el mismo estilo He et al. [58][59] propuso un control predictivo de múltiples modelos (MMPC) para el control de temperatura en una unidad de calentamiento de aire usando un modelo lógico difuso TS. Sin embargo la inferencia difusa también es combinada con métodos como los de sistemas expertos y redes neuronales. Kishimoto et, al. [60] construyeron un sistema experto usando inferencia difusa para el estudio de optimización de la producción de penicilina alimentando ácido glutámico. Zhi y Zimisu [61] desarrollaron el control de una red neuronal difusa (FNNs) con reconocimiento de patrones de sistemas de bio-reactores. Estas son algunas de las muchas aplicaciones del control por lógica difusa.

3 MODELAMIENTO Y SIMULACIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE ETANOL.

Para desarrollar el modelo dinámico de un proceso microbiano se deben considerar balances de materia respecto a la biomasa activa, productos y del sustrato primario el cual limita la tasa de crecimiento de la biomasa, dicho proceso debe contar también con un balance de energía y para completar el modelo se deben proporcionar expresiones para el crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y aparición de productos.

En la figura 8 se presenta el esquema del bio-reactor de operación continua y las especificaciones de las corrientes de entrada y salida bajo el cual se planteó el modelo dinámico. Para iniciar el proceso de producción en el bio-reactor primero debe ser cargado con una cantidad de biomasa y nutrientes (sustrato) con el fin de permitir la iniciación del crecimiento de la biomasa, una vez establecida la tasa de crecimiento de biomasa se alimenta continuamente los nutrientes a través de una corriente volumétrica de sustrato con concentración C_{Si} . A medida que los microorganismos consumen y metabolizan los nutrientes van apareciendo los productos de la reacción microbiana, entonces es necesario retirar los productos del bio-reactor continuamente a través de una corriente volumétrica de productos.

Figura 8. Configuración del Bio-reactor



3.1 DESARROLLO DEL MODELO CINETICO DE FERMENTACIÓN

El desarrollo del modelo cinético de fermentación se llevo a cabo aplicando inicialmente balances de masa para el sustrato, *Zymomonas mobilis* y etanol. Luego se definió la cinética microbiana bajo los modelos propuestos por Levenspiel, Piret y Luedeking. Considerando los efectos de inhibición por sustrato y productos. Finalmente se planteo un balance de energía de acuerdo al modelo propuesto por Nielsen y Birol. El primer paso para el desarrollo del modelo fue definir las condiciones iniciales y las variables de entrada del bio-proceso.

Tabla 4. Condiciones del bio-reactor.

Nombre de la Variable	Símbolo	Valor	Unidades
Concentración inicial de glucosa del bio-reactor	C_S^{Ini}	0.1	$\frac{gr}{dm^3}$
Concentración inicial de biomasa en del bio-reactor	C_X^{Ini}	0.1	$\frac{gr}{dm^3}$
Concentración inicial de etanol del bio-reactor	C_{EtOH}^{Ini}	0	$\frac{gr}{dm^3}$
Flujo de entrada sustrato	F_i	1	$\frac{dm^3}{h}$
Flujo de salida productos	F_0	1	$\frac{dm^3}{h}$
Flujo de líquido refrigerante	F_C	10	$\frac{dm^3}{h}$
Concentración de bacteria en el flujo de entrada	C_{Xi}	0	$\frac{gr}{dm^3}$
Concentración de glucosa en el flujo de entrada	C_{Si}	10	$\frac{gr}{dm^3}$
Concentración de etanol en el flujo de entrada	C_{EtOH_i}	0	$\frac{gr}{dm^3}$
Temperatura de entrada del sustrato	T_S	30	C
Temperatura de entrada refrigerante	T_C	28	C
Tasa de crecimiento de biomasa	r_X	-	$\frac{gr}{h - dm^3}$
Tasa de consumo de sustrato	r_S	-	$\frac{gr}{h - dm^3}$
Tasa de aparición de productos	r_{EtOH}	-	$\frac{gr}{h - dm^3}$

3.1.1 Balance de Biomasa

Considerando un balance de materia para la biomasa en el bio-reactor con respecto al tiempo.

$$\frac{d(m_{\text{biomasa}})}{dt} = \dot{m}_{\text{Biomasa}}^{\text{Ent}} - \dot{m}_{\text{Biomasa}}^{\text{Sale}} + \dot{m}_{\text{Biomasa}}^{\text{Generada}} \quad \text{Ec. 18}$$

Expresando la ecuación 18 en función de las concentraciones

$$C_{X_i}(t)F_i(t) - C_{X_0}(t)F_o(t) + r_X(t)V = \frac{d(C_{X_0}(t)V)}{dt} \quad \text{Ec. 19}$$

Considerando que concentración de biomasa en la corriente de entrada no existe, la ecuación 19 se reescribe como:

$$-C_{X_0}(t)F_o(t) + r_X(t)V = \frac{d(C_{X_0}(t)V)}{dt} \quad \text{Ec. 20} \quad [1 \text{ Ec, } 2 \text{ Inc.}] \{ r_X, C_{X_0} \}$$

3.1.2 Balance de Masa del Sustrato

Considerando un balance de materia para el sustrato fuente de carbono primaria en el bio-reactor con respecto al tiempo

$$\frac{d(m_{\text{Sustrato}})}{dt} = \dot{m}_{\text{Sustrato}}^{\text{Ent}} - \dot{m}_{\text{Sustrato}}^{\text{Sale}} + \dot{m}_{\text{Sustrato}}^{\text{Consume}} \quad \text{Ec. 21}$$

Expresando la ecuación 21 en función de las concentraciones

$$C_{Si}(t)F_i(t) - C_{S0}(t)F_0(t) + r_S(t)V = \frac{d(C_S(t)V)}{dt} \quad \text{Ec. 22} \quad [2 \text{ Ec, } 4 \text{ Inc.}] \{ r_S, C_S \}$$

3.1.3 Balance de Masa del Etanol

Durante la fermentación alcohólica el producto obtenido es etanol, por lo tanto un balance de materia de etanol en el bio-reactor con respecto al tiempo es.

$$\frac{d(m_{\text{EtOH}})}{dt} = \dot{m}_{\text{EtOH}}^{\text{Ent}} - \dot{m}_{\text{EtOH}}^{\text{Sale}} + \dot{m}_{\text{EtOH}}^{\text{Produce}} \quad \text{Ec. 23}$$

Expresando la ecuación 23 en función de las concentraciones

$$C_{\text{EtOH}_i}(t)F_i(t) - C_{\text{EtOH}_0}(t)F_0(t) + r_{\text{EtOH}}(t)V = \frac{d(C_{\text{EtOH}_0}(t)V)}{dt} \quad \text{Ec. 24}$$

Considerando que concentración de etanol en la corriente de entrada no existe, la ecuación 24 se reescribe como:

$$-C_{\text{EtOH}_0}(t)F_0(t) + r_{\text{EtOH}}(t)V = \frac{d(C_{\text{EtOH}_0}(t)V)}{dt} \quad \text{Ec. 25} \quad [3 \text{ Ec, } 6 \text{ Inc.}]$$

$\{ r_{\text{EtOH}}, C_{\text{EtOH}_0} \}$

El modelo dinámico definido hasta la ecuación 25 relaciona las concentraciones de sustrato, etanol y biomasa, sin embargo también se han involucrado variables como la tasa de consumo de sustrato, tasa de aparición de productos y tasa de crecimiento microbiano, con el fin de complementar el modelo dinámico no

estructurado se tuvo en cuenta las cinéticas de reacción de consumo de sustrato, producción de etanol y crecimiento de biomasa.

3.1.4 Tasa de Consumo de Sustrato

Utilizando la ecuación propuesta por Pirt [62], la tasa específica de consumo de sustrato se expresa como:

$$\frac{r_s(t)}{dt} = \frac{r_x(t)}{Y_{x/s}} + mC_{x0}(t) \quad \text{Ec. 26} \quad [4 \text{ Ec, 6 Inc.}]$$

Donde, $Y_{x/s}$ es el coeficiente de conversión y se define como:

$$Y_{x/s} = \frac{\text{masa de células nuevas formadas}}{\text{masa de sustrato consumida para producir células nuevas}}$$

Pero todo el sustrato no es metabolizado y transformado en productos, una parte del sustrato es consumido para la reproducción y mantenimiento de las actividades diarias de las células. El coeficiente de mantenimiento celular se define como:

$$m = \frac{\text{masa de sustrato consumida para mantenimiento}}{\text{masa de células} \cdot \text{tiempo}}$$

3.1.5 Tasa de Producción de Etanol

Considerando la ecuación dada por Luedeking y Piret [62] se expresa la tasa específica de formación de etanol de la siguiente forma:

$$\frac{r_{\text{EtOH}}(t)}{dt} = \alpha\mu(t)C_{x0}(t) + \beta C_{x0}(t) \quad \text{Ec. 27} \quad [5 \text{ Ec, } 7 \text{ Inc.}] \{ \mu \}$$

Donde α y β son constantes empíricas y μ es la tasa específica de crecimiento de biomasa.

3.1.6 Tasa de Crecimiento de Biomasa

La tasa de crecimiento de biomasa se encuentra relacionada proporcionalmente con la tasa específica de crecimiento de biomasa, μ .

$$\frac{r_x(t)}{dt} = \mu(t)C_{x0}(t) \quad \text{Ec. 28} \quad [6 \text{ Ec, } 7 \text{ Inc.}]$$

La tasa específica de crecimiento biomasa, es el parámetro que prácticamente define el comportamiento de la cinética microbiana, si se observa la ecuación 26, 27 y 28 dependen fundamentalmente de la tasa específica de crecimiento biomasa.

$$\frac{r_s(t)}{dt} = f_s(\mu, C_{x0})$$

$$\frac{r_{\text{EtOH}}(t)}{dt} = f_{\text{EtOH}}(\mu, C_{x0})$$

$$\frac{r_x(t)}{dt} = f_x(\mu, C_{x0})$$

Debido a la estrecha relación de toda la cinética microbiana con la tasa específica de crecimiento se han presentado varias relaciones para expresar la tasa

específica de crecimiento de biomasa considerando principalmente las concentraciones de sustrato y aparición de productos en la tabla 4 se presentan algunas expresiones. Una relación funcional entre la tasa específica de crecimiento de biomasa y la concentración de sustrato es la expresión propuesta por Monod en 1942, sin embargo esta ecuación no contempla la inhibición de la reacción por sustrato y producto.

$$\mu = \mu_{\max} \left(\frac{C_s}{K_s + C_s} \right) \quad \text{Ec. 29}$$

Donde, μ_{\max} Tasa de crecimiento específica máxima.

C_s Concentración de sustrato

K_s Constante de Monod

En varios estudios sobre la cinética de la formación de etanol se ha observado que un efecto de inhibición por etanol afecta a la tasa de crecimiento específica máxima más no la constante de Monod [30] [63] [65]. Levenspiel [64] planteó un modelo generalizado a partir del modelo propuesto por Ghose y Tyagi [65] en el que se incluye el fenómeno de inhibición por sustrato y producto.

$$\mu = \mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s} \left(1 - \frac{C_{\text{EtOH}}}{C_{\text{EtOH,Max}}} \right)^n \quad \text{Ec. 30} \quad [7 \text{ Ec, } 7 \text{ Inc.}]$$

Donde $C_{\text{EtOH,Max}}$ es la concentración de etanol en la que cesa el metabolismo y K_s es la constante de saturación de Monod.

Tabla 5. Distintas expresiones de modelos de la tasa de crecimiento de biomasa.

	Tasa de crecimiento de biomasa [64]	Modelo [64]	Observación
1	$\mu = \mu_{\max} \left(\frac{C_s^n}{K_s + C_s^n} \right)$	Moser	Expresiones alternativas de la ecuación de Monod, con limitación cinética por sustrato.
2	$\mu = \mu_{\max} \left(1 - \exp \left(- \frac{C_s}{K_s} \right) \right)$	Teissier	
3	$\mu = \mu_{\max} \left(\frac{C_s}{1 + \frac{K_s}{C_s} + \frac{C_s}{K_{IS}}} \right)$	Andrews y Noack	Incluyen los efectos de inhibición por sustrato.
4	$\mu = \mu_{\max} \left(\frac{C_s}{K_s + C_s} \right) \exp \left(- \frac{C_s}{K_{IS}} \right)$	Aiba	
5	$\mu = \mu_{\max} \left(\frac{C_s}{K_s + C_s} \right) \left(1 - \frac{C_s}{C_{s,Max}} \right)^n$	Luong	
6	$\mu = \mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s} \left(\frac{K_{I,Px}}{K_{I,Px} + C_{EtOH}} \right)$	Jerusalimsky	Incluyen los efectos de inhibición por producto
7	$\mu = \mu_{\max} \left(\frac{C_s}{K_s + C_s} \right) \exp(-K_{Px}P)$	Aiba	
8	$\mu = \mu_{\max} \left(1 - \frac{C_{EtOH0}}{C_{EtOH,Max}} \right)$	Ghose y Tyagi	
9	$\mu = \mu_{\max} \left(\frac{C_s}{K_s + C_s} \right) (1 - K_{PS})$	Hinshelwood	

En todos los modelos expuestos en la tabla 5 la formación de productos es derivada usando el modelo cinético de Luedeking- Piret y la tasa de sustrato consumido es basada en los coeficientes de conversión que incluyen la concentración de carbono requerido en el sustrato para proveer la energía de síntesis.

El modelo 2 de la tabla 5 fue desarrollado por Moser como una analogía alostérica de la cinética de Hill y el modelo 3 fue desarrollado por Tessier para la difusión controlada de la cinética del sustrato. Los modelos 3, 4 y 5 son modificaciones de la ecuación de Monod en la que se incluye el efecto inhibitor del sustrato (glucosa) a través de la constante de inhibición de sustrato, K_{IS} . Los modelos del 6 al 9 incluyen términos adicionales que relacionan la inhibición por productos para reducir la desviación entre las observaciones experimentales y las del modelo de Monod. K_{IS} y K_{IP} son las constantes de inhibición de sustrato y producto respectivamente.

Por otro lado muchos autores coinciden en que el crecimiento bacteriano se ve afectado por el pH y la temperatura, lo cual hace que tengan un papel muy importante en la calidad y cantidad del producto final [67]. Un modelo recomendado para relacionar el efecto del pH con la tasa específica de crecimiento bacteriano es el modelo planteado por Nielsen [68] [67]. En el cual se expresa que la tasa específica máxima es inversamente proporcional a la concentración iones de hidrogeno.

$$\mu_{\max} \propto \frac{\mu_{\max}}{1 + \frac{K_1}{[H^+]} + \frac{[H^+]}{K_2}}$$

Donde K_1 y K_2 corresponden a valores constantes extraídos de la literatura.
 $[H^+]$ representa la concentración de iones hidrógenos.

El crecimiento de la biomasa se ve afectado directamente por la temperatura, existiendo una relación de incremento de crecimiento con el incremento de temperatura hasta un valor máximo, pasado este valor ocurre un descenso del crecimiento de biomasa, esto debido al incremento de la tasa de mortandad de los microorganismos [69]. La tasa específica de crecimiento de biomasa es proporcional con la diferencia de la ecuación de Arrhenius para el crecimiento y muerte de microorganismos [70].

$$\mu\alpha \left(\left[k_g e^{\left(\frac{E_g}{RT} \right)} \right] - \left[k_d e^{\left(\frac{E_d}{RT} \right)} \right] \right)$$

Donde:

E_g y E_d representan las energías de activación para que inicie el crecimiento y la muerte respectivamente de la bacteria.

k_g y k_d representan las constantes de Arrhenius para el crecimiento y la muerte respectivamente.

R: constante universal de los gases

T: Temperatura del medio de cultivo

Teniendo en cuenta el modelo planteado por Levenspiel [64] e incluyendo los términos que relacionan el efecto de pH y temperatura se obtiene una expresión de la tasa específica de crecimiento de biomasa presentada en la ecuación 31.

$$\mu = C_x \left[\mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s} \left(1 - \frac{C_{\text{EtOH0}}}{C_{\text{EtOH,Max}}} \right)^n \right] \left[\frac{\mu_{\max}}{\left(1 + \frac{K_1}{H^+} + \frac{H^+}{K_2} \right)} \left(\left[k_g e^{\left(-\frac{E_g}{RT} \right)} \right] - \left[k_d e^{\left(-\frac{E_d}{RT} \right)} \right] \right) \right]$$

Ec. 31 [7Ec, 9 Inc.] {T, H⁺}

Considerando la inclusión de pH y temperatura en la ecuación anterior es de esperarse la existencia de un punto óptimo de operación que permita mantener un equilibrio entre las diferencias de Arrhenius de la tasa de mortandad y la tasa de crecimiento, así como un valor de pH que permita mantener y llevar a cabo el crecimiento microbiano.

Considerando el pH como una variable de entrada del proceso y utilizando la definición de pH se intenta completar el modelo dinámico, sin embargo aun es necesario incluir el balance de energía.

$$pH = -\log_{10}([H^+]) \quad \mathbf{Ec. 32} \quad [8Ec, 9 Inc.]$$

3.1.7 Balance de Energía

Parte fundamental completar el modelo dinámico es el balance de energía. Considerando el balance general de energía.

$$\sum_{\text{Ent}} \dot{E} - \sum_{\text{Sal}} \dot{E} = \frac{dE_{\text{vc}}}{dt} \quad \mathbf{Ec. 33}$$

En el balance establecido en el desarrollo de este modelo involucró la energía debido a las corrientes de flujo existente en el bio-reactor, la energía consumida o

producida debido a la reacción microbiana, Q_{rxn} y la energía ganada o perdida debido a la transferencia de calor. El balance de energía del bio-reactor es basado en la expresión presentada por Nielsen en 1997 [67].

$$\left(\begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{acumulación} \\ \text{de energía} \\ \text{en el sistema} \end{array} \right) = \left(\begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{energía} \\ \text{debido al} \\ \text{flujo de} \\ \text{entrada} \end{array} \right) - \left(\begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{energía} \\ \text{debido al} \\ \text{flujo de} \\ \text{salida} \end{array} \right) \pm \left(\begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{producción/} \\ \text{consumo} \\ \text{de energía} \\ \text{por la reacción} \end{array} \right) - \left(\begin{array}{c} \text{Tasa de} \\ \text{energía debido} \\ \text{a la transferencia} \\ \text{de calor} \end{array} \right)$$

$$\frac{d[V\rho_p T(t)]}{dt} = F_i(t)T_{si}(t)\rho_p - F_0(t)T_0(t)\rho_p + Q_{rxn}(t) - \frac{aF_c(t)^{b+1}}{F_c(t) + \sqrt{\frac{aF_c(t)^b}{2\rho_c c_{pc}}}} (T_0(t) - T_c)$$

Ec. 34 [9 Ec, 10 Inc.] $\{Q_{rxn}\}$

Donde a es el coeficiente de transferencia de calor de líquido frío/líquido caliente y b es una constante adimensional.

3.1.8 Calor Generado por la Reacción

En el balance de energía es requerido plantear el modelo de generación de calor debido a la reacción microbiana, Q_{rxn} , Birol [67] planteó la siguiente ecuación.

$$\frac{dQ_{rxn}}{dt} = r_{q1} \frac{dC_{x0}(t)}{dt} V + r_{q2} C_{x0}(t) V \quad \text{Ec. 35} \quad [10 \text{ Ec, } 10 \text{ Inc.}]$$

Donde, r_{q1} es el coeficiente máximo de generación de calor y r_{q2} es la constante de generación de calor.

3.1.9 Parámetros del Modelo.

Finalizada la construcción del modelo dinámico del bio-reactor, es necesario conocer los valores numéricos de las diferentes constantes presentes en cada una de las ecuaciones que conforman el modelo de producción de etanol a través de fermentación, para ello se tomaron los valores presentados en investigaciones previas en el desarrollo de modelos de fermentación, las constantes asociadas a las tasas de reacción fueron tomadas de la investigación experimental realizada por Garro en 1995 [4] y los parámetros necesarios para completar el balance de energía y los efectos de temperatura y pH en la tasa de crecimiento de biomasa fueron tomados de la investigación presentada por Birol en el 2002 [69].

Tabla 6. Constantes del modelo.

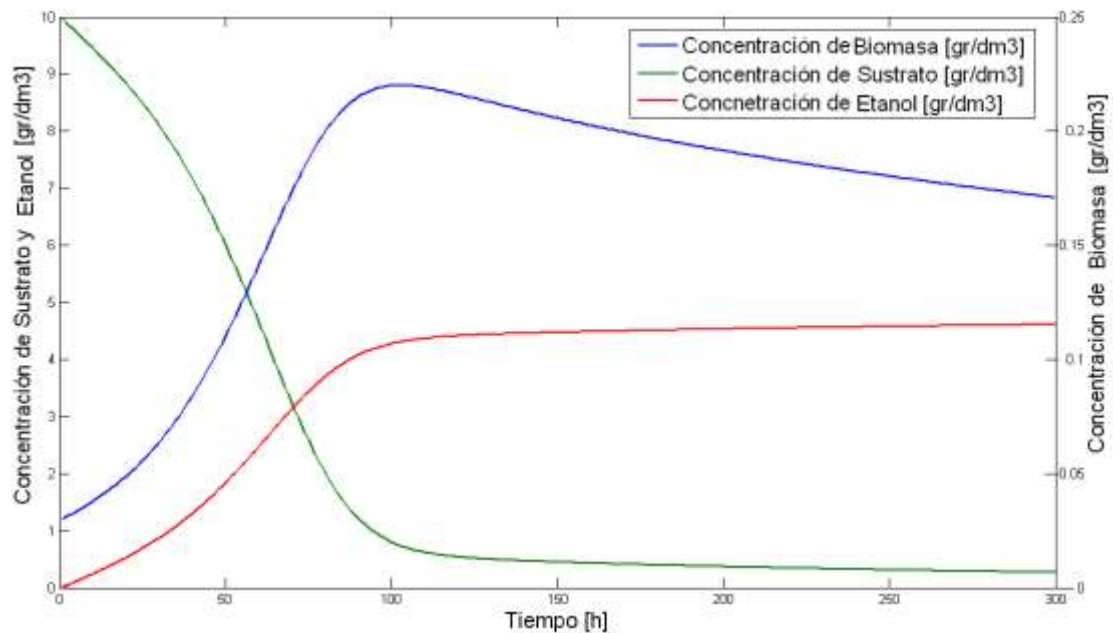
Nombre de la Variable	Símbolo	Valor	Unidades	Referencia
Termino de mantenimiento celular	m_s	1.4	$\frac{gr}{gr \cdot h}$	Garro [4]
Coeficiente máximo de rendimiento	$Y_{x/s}$	0.026	$\frac{gr}{gr}$	Garro [4]
Constante empírica	α	17.38	$\frac{gr}{gr}$	Garro [4]
Constante empírica	β	0.699	$\frac{gr}{gr \cdot h}$	
Máxima tasa de crecimiento específica	μ_{max}	0.493	$\frac{1}{h}$	Garro [4]

Constante de saturación de Monod	K_S	4.64	gr/dm^3	Garro [4]
Concentración de etanol en la que cesa todo el metabolismo	C_{EtOHm}	106	gr/dm^3	Garro [4]
Constante empírica	N	0.63	-	Garro [4]
Constante de Arrhenius para el crecimiento	k_g	7×10^3	-	Biol [69]
Energía de activación para el crecimiento	E_g	5100	cal/mol	
Constante de Arrhenius para la muerte	k_d	1×10^{33}	-	
Energía de activación para la muerte	E_d	50000	cal/mol	
Densidad x capacidad específica del medio	ρc_p	1500	$\text{Cal}/\text{dm}^3 \text{ } ^\circ\text{C}$	Biol [69]
Densidad x capacidad específica del liquido refrigerante	$\rho_c c_{cp}$	1000	$\text{Cal}/\text{dm}^3 \text{ } ^\circ\text{C}$	Biol [69]
Constante	B	0.60	-	Biol [69]
Coeficiente de transferencia de calor de liquido frío liquido caliente	A	1000	$\text{Cal}/\text{hr} \text{ } ^\circ\text{C}$	Biol [69]
Coeficiente máximo de generación de calor	r_{q1}	60	$\text{Cal}/\text{gr}_{\text{biomasa}}$	Biol [69]
Constante de generación de calor	r_{q2}	1.6783×10^{-4}	$\text{Cal}/\text{gr}_{\text{biomasa}}$	Biol [69]

3.2 SIMULACIÓN DEL MODELO DE FERMENTACIÓN PRODUCCIÓN DE ETANOL

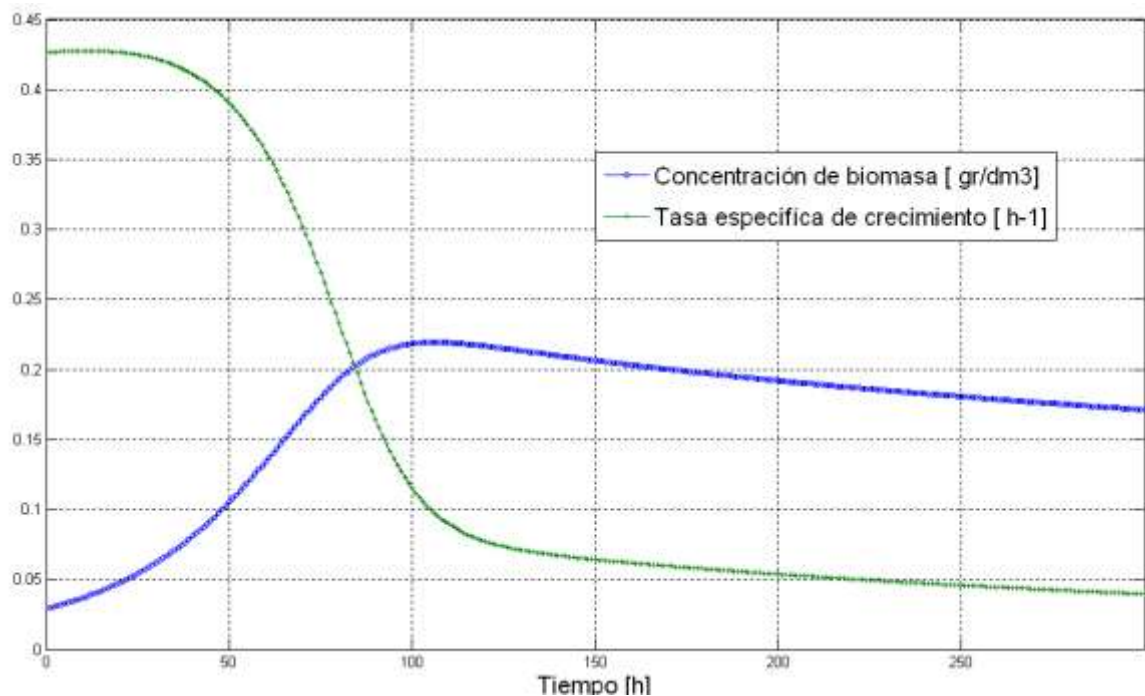
Durante esta sección se llevó a cabo la simulación del modelo desarrollado en el numeral 3.1. En la figura 9 se presenta el comportamiento de la producción de etanol, consumo de sustrato y crecimiento microbiano del bio-reactor operando en continuo. El grafico representa la variación de la biomasa de un cultivo a lo largo del tiempo, en este bio-proceso se va consumiendo el sustrato cuya concentración decrece de forma proporcional al creciente de la biomasa. La concentración de sustrato no alcanza un valor de cero y el crecimiento de biomasa y producción de etanol no presentan un comportamiento descendente, debido al constante suministro de sustrato al bio-reactor para mantener la continuidad del proceso.

Figura 9. Comportamiento de la concentración de sustrato, biomasa y etanol.



En a figura 10 se presenta el comportamiento de la tasa específica de crecimiento de biomasa y la concentración de biomasa en función del tiempo, en esta grafica presenta la relación existente entre estas dos variables, se observa claramente la coincidencia entre el máximo alcanzado por la concentración de biomasa y con el cambio de dirección de la pendiente de la curva de la tasa específica de crecimiento implicando esto que la bacteria inicia una etapa de inactividad, la cual no alcanza el valor de cero debido al constante suministro de nutrientes.

Figura 10. Tasa específica de crecimiento y concentración de biomasa respecto al tiempo en operación en continuo.



Los resultados del modelo se compararon con los resultados obtenidos experimentalmente por Garro [4] con la finalidad de validar el modelo. Se realizaron pruebas a la simulación con diferentes valores de concentración inicial

de sustrato y se compararon con resultados experimentales mostrados en la tabla 7.

Tabla 7. Datos experimentales y teóricos

Concentración Inicial de Sustrato [gr/dm ³]	Etanol producido experimentalmente [gr/dm ³] [4]	Etanol producido del modelo. [gr/dm ³]	% de error
10	4.8	4.799	0.020
20	9.5	9.628	1.329
50	23	24.11	4.6
100	45	48.25	6.73

De acuerdo a la tabla anterior se encuentra que el modelo genera errores inferiores al 7%, lo cual permite afirmar que el modelo dinámico planteado incluyendo el efecto de la temperatura y pH posee una buena aproximación de la experimentación real.

3.2.1 Optimización del Proceso

Con el fin de encontrar los valores de las condiciones óptimas para obtener el mejor rendimiento del proceso de fermentación alcohólica, se aplicó la teoría de diseños de experimentos y métodos de superficie de respuesta de Montgomery [63]. Primero se realizó un screening 2^K, con el fin de determinar las variables más significativas del proceso, luego se llevó a cabo la optimización utilizando la metodología de superficie de respuesta, RSM.

Los factores y los niveles para el diseño de experimentos se presentan en la tabla 8. El planteamiento del diseño experimental abordará como variable de respuesta la concentración de etanol a la salida del proceso, $C_{\text{EtOH,Sal}}$.

El diseño de experimentos fue desarrollado a partir en un modelo matemático definido por ecuaciones diferenciales, debido a la naturaleza de las funciones matemáticas siempre se presentará el mismo resultado sin involucrar incertidumbres, en esta investigación no se incluyeron términos asociados a probabilidad a las variables, si bien es cierto la probabilidad de las variables y de las ecuaciones del modelo solo se logran obtener cuando es comparado el modelo con la experimentación, sin embargo durante el desarrollo de este diseño de experimento el modelo se basó en una investigación previa en la cual los resultados fueron obtenidos en puntos de operación específicos, por lo tanto no se cuenta con la suficiente información experimental para plantear la probabilidad del modelo. Por otro lado el modelo fue simulado en un Software cuya solución numérica es continuo discretizado, sin embargo la computadora no puede realizar cálculos continuos por lo tanto cada operación es una aproximación.

El proceso de producción de etanol utilizado en el cual se basó el desarrollo del modelo dinámico se realizó a un volumen constante de 10 dm^3 y la capacidad máxima del bio-reactor se estableció en 12 Litros. Con el fin de mantener el nivel del bio-reactor el flujo volumétrico de entrada de sustrato debe ser igual al flujo de salida de productos, por lo tanto estos dos flujos se consideran como una sola variable denominada flujo del bio-reactor.

Tabla 8. Factores y rangos para el diseño de experimentos.

Factor	Nomenclatura	Unidades	Nivel bajo	Nivel alto	Variables Codificadas
1. Concentración inicial de sustrato.	Si A, x_1	[gr/dm ³]	20	80	$x_1 = \frac{\xi_1 - 50}{30}$
2. Flujo del bio-reactor.	Fo B, x_2	[dm ³ /h]	1	4	$x_2 = \frac{\xi_1 - 2.5}{1.5}$
3. pH	pH C, x_3	-	6	8	$x_3 = \frac{\xi_1 - 7}{1}$
4. Temperatura de glucosa.	Tg D, x_4	[°C]	25	35	$x_4 = \frac{\xi_1 - 30}{5}$
5. Flujo fluido refrigerante.	Fc E, x_5	[dm ³ /h]	2	8	$x_5 = \frac{\xi_1 - 5}{3}$

El análisis de diseño de experimentos arroja como variables significativas la concertación inicial de sustrato y el flujo del bio-reactor. A continuación en tabla 9 se presenta el análisis de varianza (ANOVA) incluyendo todos los factores y sus interacciones de primer orden para la producción de etanol.

Tabla 9. Análisis de varianza para la producción de etanol incluyendo todos los factores.

Analysis of Variance for P					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-value
A:Si	4098.59	1	4098.59	1203088.89	0.0000
B:F0	1472.36	1	1472.36	432192.58	0.0000
C:pH	0.115765	1	0.115765	33.98	0.0000
D:Tg	0.148744	1	0.148744	43.66	0.0000
E:FC	0.0000172578	1	0.0000172578	0.01	0.9441
AB	224.079	1	224.079	65775.43	0.0000
AC	0.0228606	1	0.0228606	6.71	0.0197
AD	0.0286981	1	0.0286981	8.42	0.0104
AE	3.82813E-7	1	3.82813E-7	0.00	0.9917
BC	0.103592	1	0.103592	30.41	0.0000
BD	0.147655	1	0.147655	43.34	0.0000
BE	0.0000172578	1	0.0000172578	0.01	0.9441
CD	0.0000104653	1	0.0000104653	0.00	0.9565
CE	0.0000144453	1	0.0000144453	0.00	0.9489
DE	0.00361888	1	0.00361888	1.06	0.3180
Total error	0.0545076	16	0.00340672		

Total (corr.)	5795.65	31			
R-squared = 99.9991 percent					
R-squared (adjusted for d.f.) = 99.9982 percent					
Standard Error of Est. = 0.0583671					
Mean absolute error = 0.0337574					
Durbin-watson statistic = 2.50193 (P=0.0168)					
Lag 1 residual autocorrelation = -0.281314					

El modelo de primer orden en variables codificadas que permita describir el comportamiento de la producción de etanol en los rangos dados incluyendo todos los factores es:

$$\begin{aligned}
 \text{Producción} = & 15.9683 + 11.3173 * x_1 - 6.78316 * x_2 + 0.0601469 * x_3 + \\
 & 0.0681781 * x_4 - 0.000734375 * x_5 - 2.64622 * x_1 x_2 + 0.0267281 * x_1 x_3 + \\
 & 0.0299469 * x_1 x_4 + 0.000109375 * x_1 x_5 + 0.0568969 * x_2 x_3 + \quad \text{Ec. 36} \\
 & 0.0679281 * x_2 x_4 - 0.000734375 * x_2 x_5 + 0.000571875 * x_3 x_4 + \\
 & 0.000671875 * x_3 x_5 - 0.0106344 * x_4 x_5
 \end{aligned}$$

En la tabla 10 se presenta el análisis de varianza incluyendo solamente los factores significativos de proceso de producción de etanol simulado y en la

ecuación 37 se presenta el modelo de primer orden en variables codificadas de la producción de etanol en los rangos dados incluyendo solamente las variables significativas.

Tabla 10. Análisis de varianza para la producción de etanol incluyendo solo los factores significativos.

Analysis of Variance for P

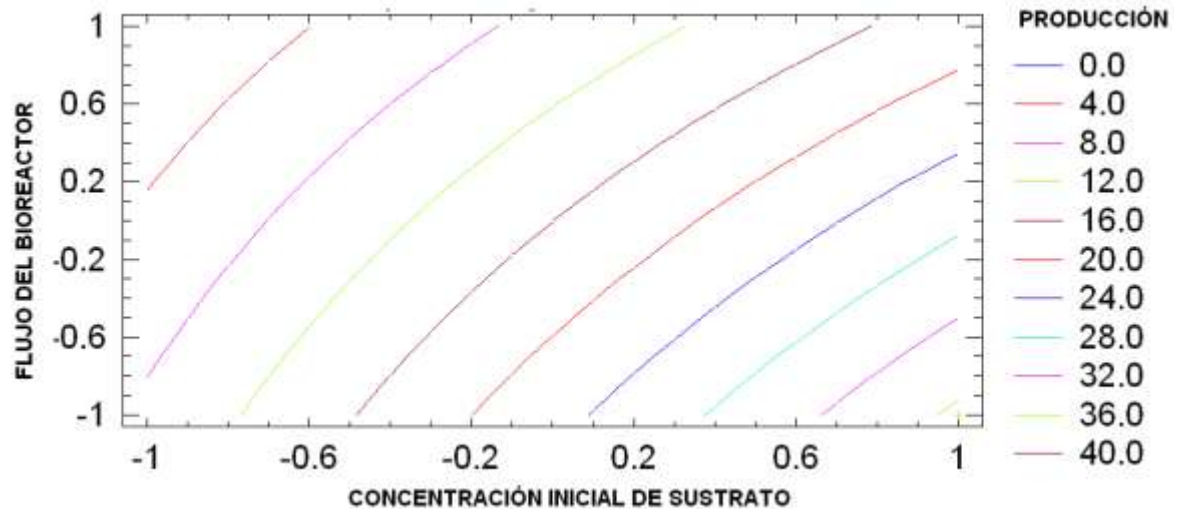
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:Si	2049.26	1	2049.26	342059.73	0.0000
B:Fo	736.021	1	736.021	122855.86	0.0000
C:pH	0.0565964	1	0.0565964	9.45	0.0277
D:Tg	0.0993826	1	0.0993826	16.59	0.0096
AB	112.049	1	112.049	18703.04	0.0000
AC	0.0114704	1	0.0114704	1.91	0.2250
AD	0.0195301	1	0.0195301	3.26	0.1308
BC	0.05058	1	0.05058	8.44	0.0336
BD	0.0987531	1	0.0987531	16.48	0.0097
CD	0.0000070225	1	0.0000070225	0.00	0.9740
Total error	0.0299546	5	0.00599093		
Total (corr.)	2897.69	15			

R-squared = 99.999 percent
R-squared (adjusted for d.f.) = 99.9969 percent
Standard Error of Est. = 0.0774011
Mean absolute error = 0.0351875
Durbin-watson statistic = 2.18191 (P=0.1184)
Lag 1 residual autocorrelation = -0.207138

$$\begin{aligned} \text{Producción} = & 15.9683 + 11.3173 * x_1 - 6.78316 * x_2 + 0.0601469 * x_3 + \\ & 0.0681781 * x_4 - 2.64622 * x_1 x_2 + 0.0267281 * x_1 x_3 + 0.0299469 * x_1 x_4 + \mathbf{Ec. 37} \\ & 0.0568969 * x_2 x_3 + 0.0679281 * x_2 x_4 \end{aligned}$$

La grafica de contorno de la superficie de respuesta de los factores de concentración inicial de sustrato y flujo del bio-reactor se muestra en la figura 11.

Figura 11. Grafica de contorno de la producción

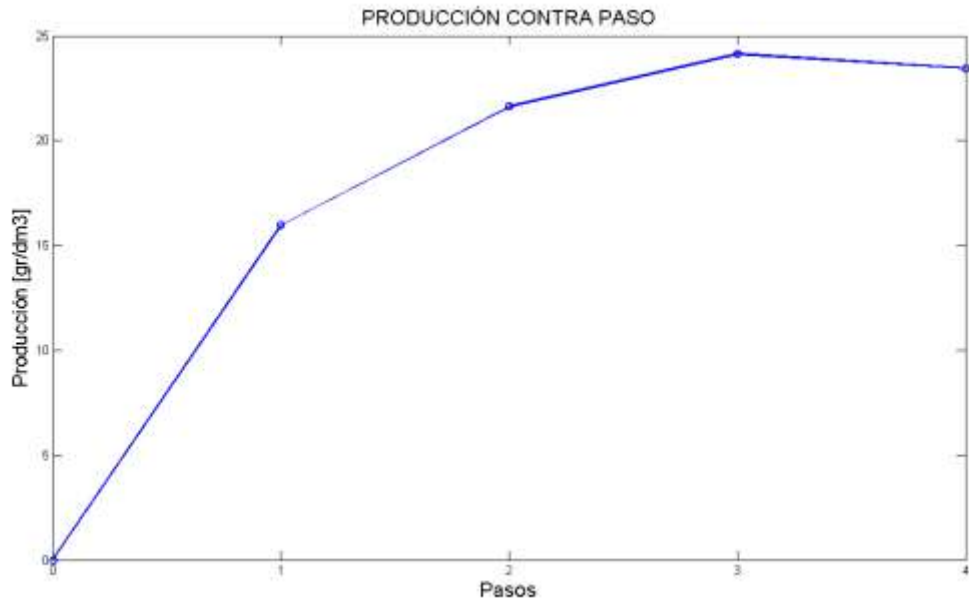


Se aplicó el método del ascenso más pronunciado para apartarse del centro del diseño, en variables codificadas $x_1 = 0, x_2 = 0$. Utilizando la ecuación 37 se calculó la producción de etanol hasta que se observó un decremento. En la tabla 11 se muestran los resultados tanto en variables codificadas como naturales. En la figura 12 se grafica la producción de etanol en cada paso de la trayectoria del ascenso más pronunciado. Se observó un incremento de la respuesta hasta el tercer paso, después de este punto la respuesta presenta un decremento.

Tabla 11. Experimento del ascenso más pronunciado.

Pasos	Variables codificadas				Variables naturales				Producción
	x_1	x_2	x_3	x_4	ξ_1	ξ_2	ξ_3	ξ_4	\hat{y}
Origen	0	0	0	0	50	2.5	7.00	30.00	15.97
Δ	1	0.6	0.01	0.01	80	3.4	7.01	30.03	21.63
Origen + Δ	1	0.6	0.01	0.01	80	3.4	7.01	30.03	21.63
Origen + 2 Δ	2	1.2	0.01	0.01	110	4.3	7.01	30.06	24.13
Origen + 3 Δ	3	1.8	0.02	0.02	140	5.2	7.02	30.09	23.45

Figura 12. Gráfica de producción contra pasos de ascenso.



En la tabla 12 se presentan las condiciones óptimas de operación para alcanzar una máxima producción en un bio-reactor de 12 litros de capacidad manteniendo un volumen de operación de 10 dm³. Estos resultados fueron obtenidos a partir del

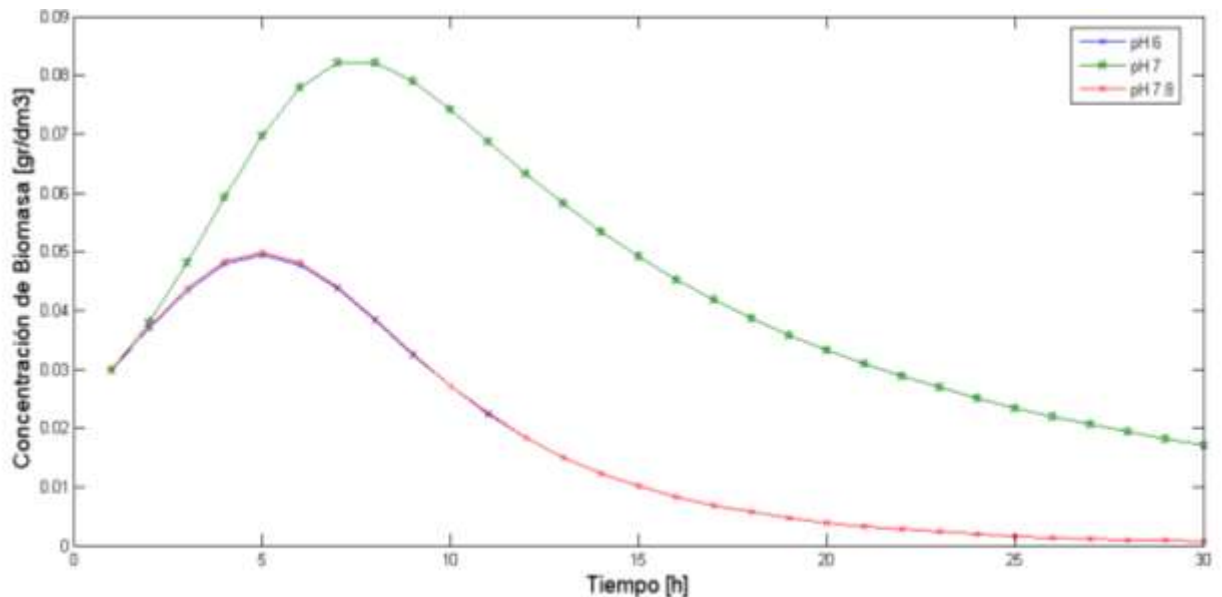
modelo de regresión expresado en la ecuación 37, en la tabla 11 se establecieron deltas de cambios para cada una de las variables significativas y se calculó la producción en cada uno de estos deltas, cada avance se denominó paso de ascenso en la superficie de respuesta, en la figura 12 se grafican los pasos junto con la producción calculada, en dicha figura se observa un punto en el que la producción empieza a decrecer, es aquí donde se encuentran las condiciones óptimas de operación que garantizan una máxima producción.

Tabla 12. Condiciones óptimas de operación.

	Factor	Valor
1	Concentración inicial de sustrato, [gr/dm ³], A, x_1	110
2	Flujo del bio-reactor, [dm ³], B, x_2	4.3
3	pH, C, x_3	7.01
4	Temperatura de glucosa, [C], D, x_4	30.06
5	Flujo fluido refrigerante, [dm ³], E, x_5	5

El valor de pH fijado fue 7.0 en concordancia con la tabla 3 sin embargo se realizó una variación de pH con el fin de observar su incidencia en la simulación del proceso de fermentación, en la figura 13 se presentan los resultados observándose claramente que la mayor concentración de biomasa se alcanza cuando el pH alcanza valores cercanos a 7.0.

Figura 13. Influencia del pH sobre el crecimiento bacteriano.



La Figura 13 muestra que el pH 7 presenta un mayor pico de crecimiento de la bacteria y por ende se entiende que se alcanzará una mayor concentración de la misma lo que implica un mayor número de células con centros activos disponibles para realizar la acción catalítica. Este resultado claramente coincide con las especificaciones para el crecimiento de las *Zymomonas mobilis* expuestas en la tabla 3 en las cuales indica que el pH ideal para el medio de cultivo de bacterias anaerobias esta entre 5 y 7.

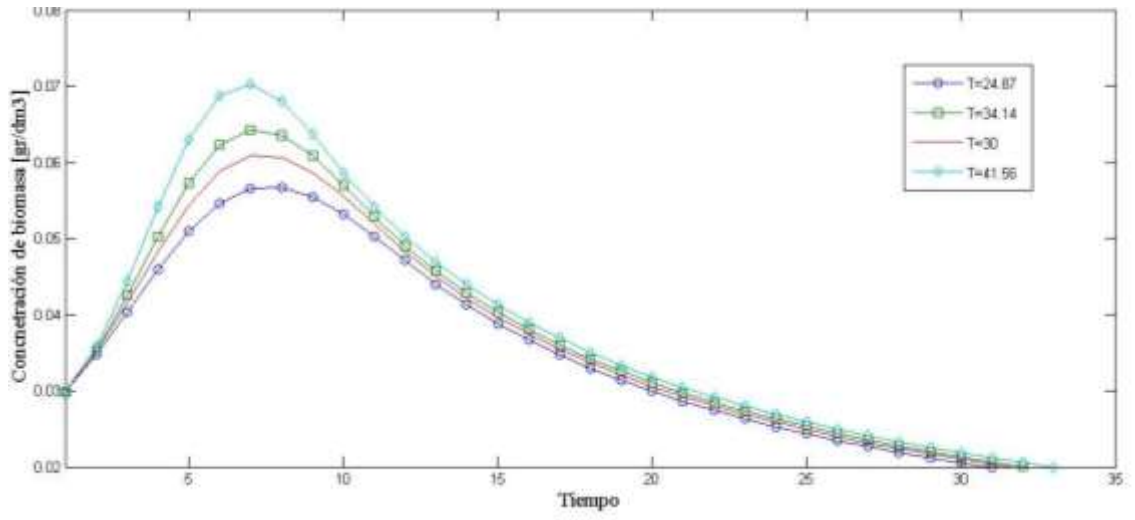
Los microorganismos pueden crecer en una variada gama de pH que se sitúa aproximadamente desde pH= 2 hasta pH = 11, los microorganismos que toleran pH ácidos no toleran pH alcalinos y viceversa. Independientemente del pH que pueda soportar un microorganismo, es importante conocer cuál es el pH óptimo para el crecimiento, en el cual la concentración de biomasa es máximo. Durante el crecimiento los microorganismos modifican el pH del medio de cultivo,

normalmente haciéndolo disminuir; por tal motivo es frecuente incluir en el medio sustancias que actúen como tampón (buffer) a fin de evitar que el pH se aleje del óptimo, sin embargo estos flujos no fueron considerados en el desarrollo de este modelo.

Por otro lado cada reacción química individual, de todas las que conforman el metabolismo, es afectada por la temperatura, por lo que un incremento de ésta resulta en una mayor velocidad de reacción, sin embargo aumentos posteriores de temperatura inactivan las enzimas que catalizan las reacciones, con lo que el valor tiende a decrecer rápidamente. Con respecto a la influencia de la temperatura del medio sobre la concentración de biomasa en la mezcla, en la figura 14 se aprecia la tendencia a incrementar los picos de concentración a la vez que el tiempo para alcanzar este máximo tiende a disminuir.

Los cambios de temperaturas normalmente causan cambios en la actividad biológica de los microorganismos debido a deficiencia de realizar catálisis a ciertas temperaturas. De acuerdo a la tabla 3 el valor adecuado para desarrollar las reacciones biológicas con *Zymomonas mobilis* es cerca de los 30 °C.

Figura 14. Influencia de la temperatura sobre la concentración de biomasa.



En las figuras 13 y 14 se mostró la operación de la simulación en lote, en estas la estabilización de las variables biológicas tiende a cero implicando el cese de actividad. Sin embargo, en la operación en continuo se alcanza una estabilización diferente al cero debido al constante suministro de glucosa al sistema con el fin de garantizar los nutrientes necesarios para la actividad catalítica de las bacterias.

4 IMPLEMENTACIÓN DE LA ESTRATEGIA DE CONTROL EN EL MODELO.

De manera general en los procesos biológicos se logran identificar claramente cuatro fases del crecimiento microbiano. El primer paso para iniciar el crecimiento ocurre cuando el bio-reactor se inocula con nutrientes (sustrato) y con una pequeña cantidad de células. A partir de ese momento se inicia una fase de latencia, en la cual el aumento de concentración de células no resulta significativo, debido a la adaptación de las células al medio, sintetizando enzimas y ajustando su ruta metabólica para iniciar la reproducción. Estas dos fases se pueden considerar como la etapa de carga del bio-reactor para iniciar la producción. Luego se entra a la etapa de producción que esta compuesta por la fase de crecimiento exponencial, durante esta fase la velocidad de crecimiento de la célula es proporcional a la concentración de las células y ellas se dividen con rapidez máxima porque todas las rutas enzimáticas para metabolizar el medio están operando. El crecimiento esta dado por la tasa específica de crecimiento por unidad de masa, μ . Iniciada la reproducción celular se entra a una fase estacionaria en la cual las células alcanzan un espacio biológico mínimo en el que la falta de uno o más nutrientes limita el crecimiento celular, por lo tanto la tasa de crecimiento es cero, con el cese de actividad reproductiva se inicia la fase final de muerte, en la cual ocurre una disminución en la concentración de las células vivas esto producto de los subproductos tóxicos y agotamiento de nutrientes.

El proceso de fermentación alcohólica analizado en esta investigación presenta de la misma manera el proceso de inoculación, fase de latencia y crecimiento exponencial. Considerando que el suministro de nutrientes se mantiene en un valor constante debido a la operación continua del bio-reactor la fase estacionaria logra estabilizar en un valor diferente de cero la tasa de crecimiento microbiano, por lo tanto la fase de muerte no se presenta.

De forma general el proceso de fermentación alcohólica posee un comportamiento altamente no lineal debido a sus diferentes comportamientos dinámicos tales como carga – producción – descarga. El proceso de producción como tal esta compuesto de dos etapas con dinámicas completamente diferentes una etapa de transición o fase de crecimiento exponencial y una etapa o fase estable.

Ante los grandes retos que implica controlar procesos no lineales se han desarrollado algunas formas de compensación por variación de matriz dinámica. Para procesos no-lineales, el paso unitario es identificado dependiendo de la condición de operación, cada uno de estos vectores son llamados vector de modelo estable, A_{vi} , lo que permite realizar una clasificación de tres casos [3]. Los casos 1 y 2 se refieren a no linealidades del proceso debido a cambios en el tiempo muerto y ganancias del proceso, sin embargo en esta investigación se abordó no linealidades asociadas a cambios dinámicos en la región de operación, las cuales se explican en el caso 3.

Caso 1. Cambios de tiempo muerto en la región de operación.

De acuerdo a [70] un Predictor Smith fue integrado al controlador DMC para procesos con tiempo muerto variable, la estrategia de control fue implementada y probada en un reactor continuo (CSTR) a escala de laboratorio.

Caso 2. Cambios de ganancia en la región de operación.

En el primer caso, solo se observan cambios de ganancia de vector a vector, haciendo posible un vector modelo escalado definido por una unidad de ganancia al vector escalón (U_v), como:

$$A_{Vi} = K_{Pi} U_{Vi} = K_{Pi} \begin{bmatrix} u_1 \\ u_2 \\ \vdots \\ u_{ph-ch+1} \end{bmatrix} \quad \text{Ec. 38}$$

Por lo tanto de la ecuación anterior, cada Matriz del modelo estable, A_i , puede definirse como una función de, K_{Pi} y la unidad de la ganancia del vector.

$$A_i = K_{Pi} \begin{bmatrix} U_V & 0 & \dots & 0 \\ 1 & U_V & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ 1 & 1 & \dots & 1 \end{bmatrix}_{ph \times ch} \quad \text{Ec. 39}$$

Entonces la ley de control puede escribirse como:

$$\Delta M = \frac{1}{K_{Pi}} \left[U^T U + \left(\frac{\lambda}{K_{Pi}} \right)^2 I \right]^{-1} U^T E \quad \text{Ec. 40}$$

Y la adaptación de la ley puede ser estructurada de la siguiente forma.

$$K_{Pi} = f(PV_i) \quad \text{Ec. 41(7)}$$

Donde PV es el vector de las variables del proceso describiendo los cambios en las condiciones de operación, flujos típicos, coeficientes de conversión, concentraciones o temperaturas.

Caso 3. Cambios dinámicos en la región de operación.

Debido a la existencia de diferentes regiones de operación este caso implica la imposibilidad de obtener diferentes vectores de modelos estables a partir de una función lineal. Teniendo en cuenta esto un vector de modelo estable es definido como un modelo de referencia, $A_{V_i} = A_V^{REF}$, capaz de describir el comportamiento de la dinámica del proceso en una región, y asociando las regiones vecinas a partir de la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned} A_{V(i+1)} &= A_V^{REF} + \Delta_{V(i+1)} \\ A_{V(i-1)} &= A_V^{REF} + \Delta_{V(i-1)} \end{aligned} \quad \text{Ec. 42}$$

De la misma forma que en el caso2, un vector PV describe la evolución de las condiciones del proceso. Por lo tanto, si n diferentes dinámicas han sido identificados, entonces podrán existir n-vectores modelos, cada uno relacionado con uno de los n PV vectores indicando las condiciones de operación del proceso para cada vector modelo de estado obtenido.

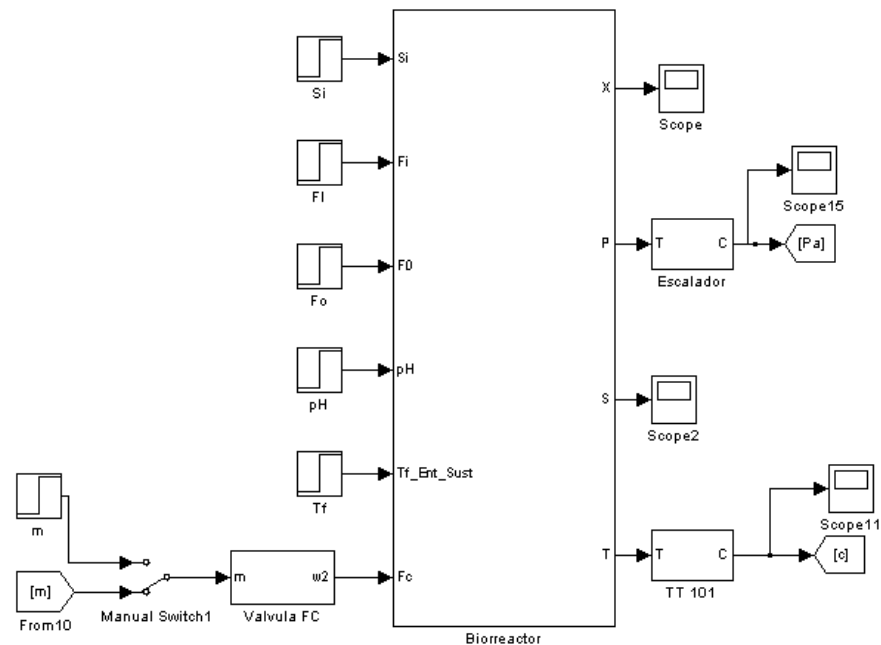
En el desarrollo de esta investigación se identifico el proceso como el caso 3. Con el fin de plantear la relación que definiría el modelo del proceso se consideraron dos regiones de operación, un factor K capaz de definir cada uno de lo PV procesos operando entre PV_i y PV_{i+1} ,

$$A_V(PV) = A_V^{REF} + K(PV)\Delta_{V(i+1)} \quad \text{Ec. 43}$$

Una vez planteada la estrategia de control fue implementada utilizando Matlab 7.0® y Simulink 5.0®. Al proceso se le realizó una identificación dinámica para la etapa de producción (transitoria) y la etapa estable. Se realizó un cambio en la

señal de entrada de la válvula de flujo refrigerante y se observó el comportamiento de la señal del sensor de la temperatura de salida de los productos. En la figura 15 se muestra la válvula, el proceso y sensor simulados en Matlab-Simulink®

Figura 15. Bio-reactor, válvula y sensor en Matlab-Simulink®



A partir de los dos cambios realizados en la válvula se obtuvieron dos vectores, un vector A_{V1} asociado a la etapa de transición y un vector A_{V2} para la etapa estable, a partir de los vectores obtenidos se calcularon las matrices dinámicas.

Con el fin de aplicar un controlador lógico difuso (FLC) capaz de supervisar y variar parámetros del DMC para adaptarlo a cualquiera de las dos etapas de trabajo. Se implemento un controlador difuso tipo Mamdani, cuya entrada PV es la tasa de producción de etanol y la salida es la transición del factor K, el cual es calculado a partir del grupo de reglas lingüísticas basados en PV-T y

posteriormente desfuzificado. La figura 16 y 17 muestra las funciones de pertenencia para el factor K y tasa de producción de etanol respectivamente.

Figura 16. Función de pertenencia para el factor K.

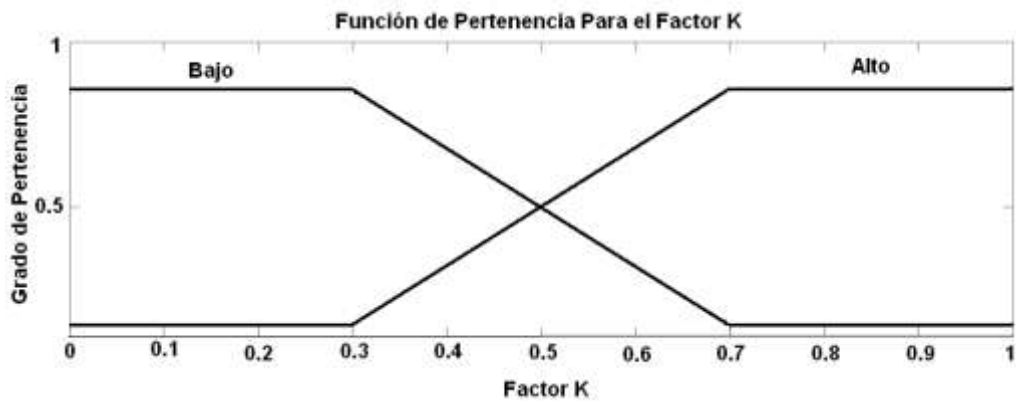
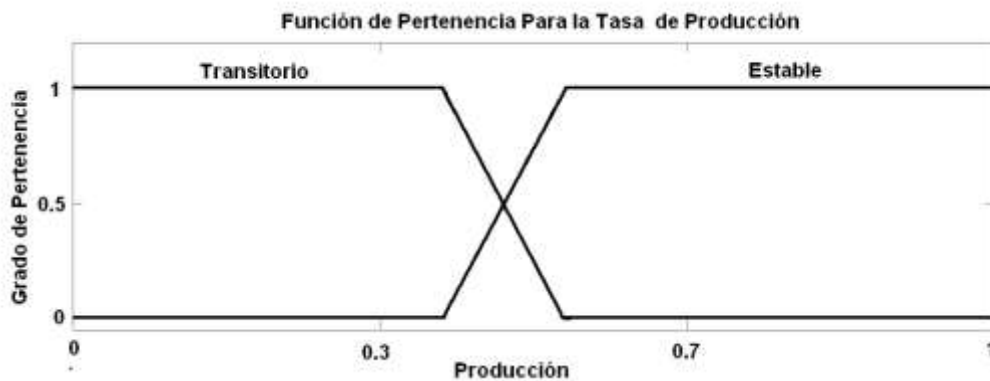
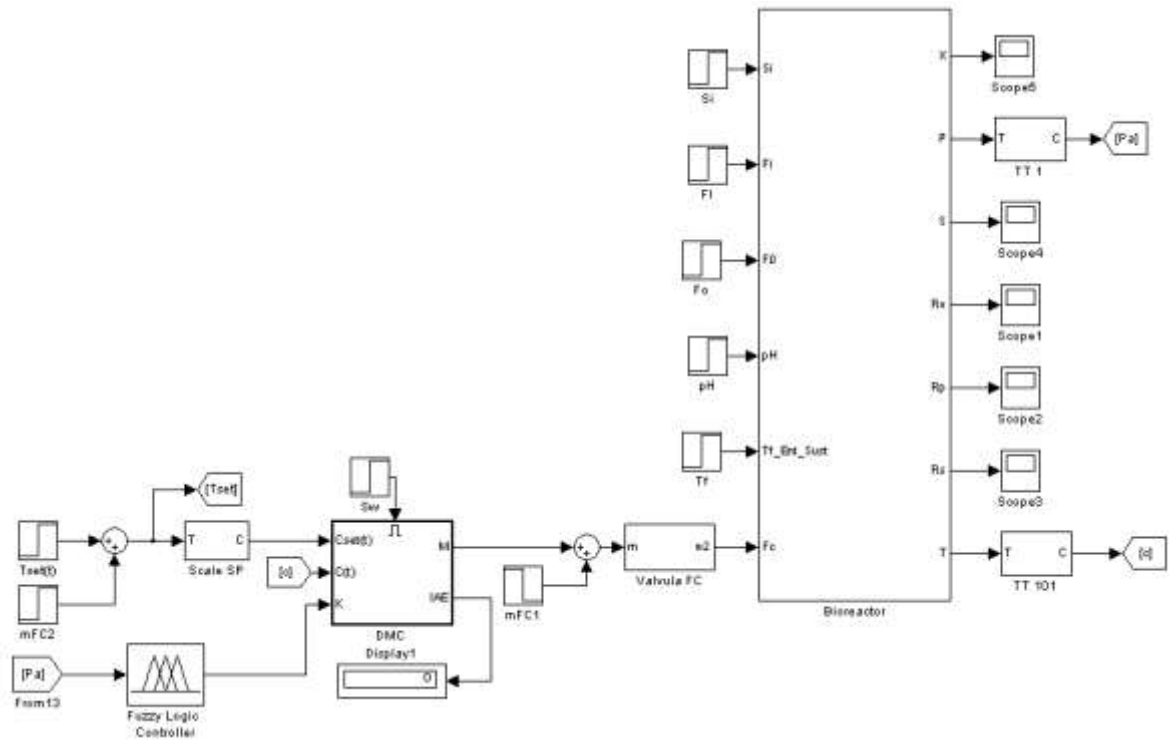


Figura 17. Función de pertenencia para la tasa de producción de etanol.



En la figura 18 se presenta el bio-reactor simulado junto con la estrategia de control diseñada.

Figura 18. Bio-reactor con controlador implementado Matlab-Simulink®



Implementado completamente el controlador DMC supervisado por lógica difusa se le realizaron cambios en el *set point* para cada una de las etapas del proceso. Paralelamente se implemento un controlador DMC basado en la matriz construida a partir del vector A_{v1} y otro DMC basado en A_{v2} . Ambos controladores fueron sometidos a cambios de *set point*. En cuanto se incluyeron perturbaciones al sistema los controladores no presentaron un buen desempeño. Los resultados del comportamiento de los controladores se presentan en la figura 19 y 20.

Figura 19. Comportamiento del FLC y DMC basado en el vector Av1.

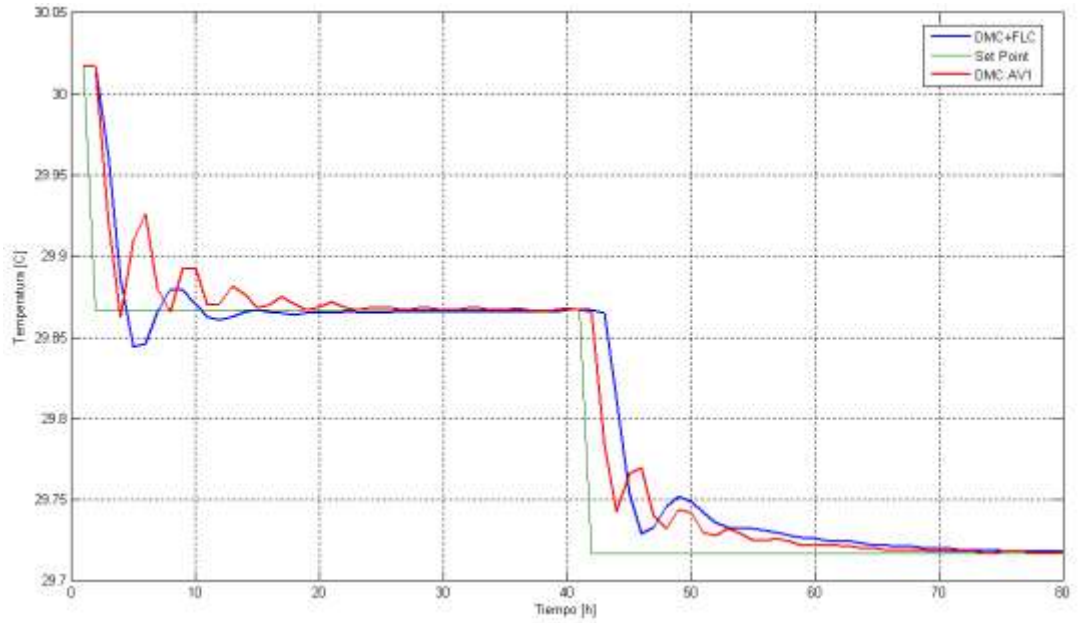
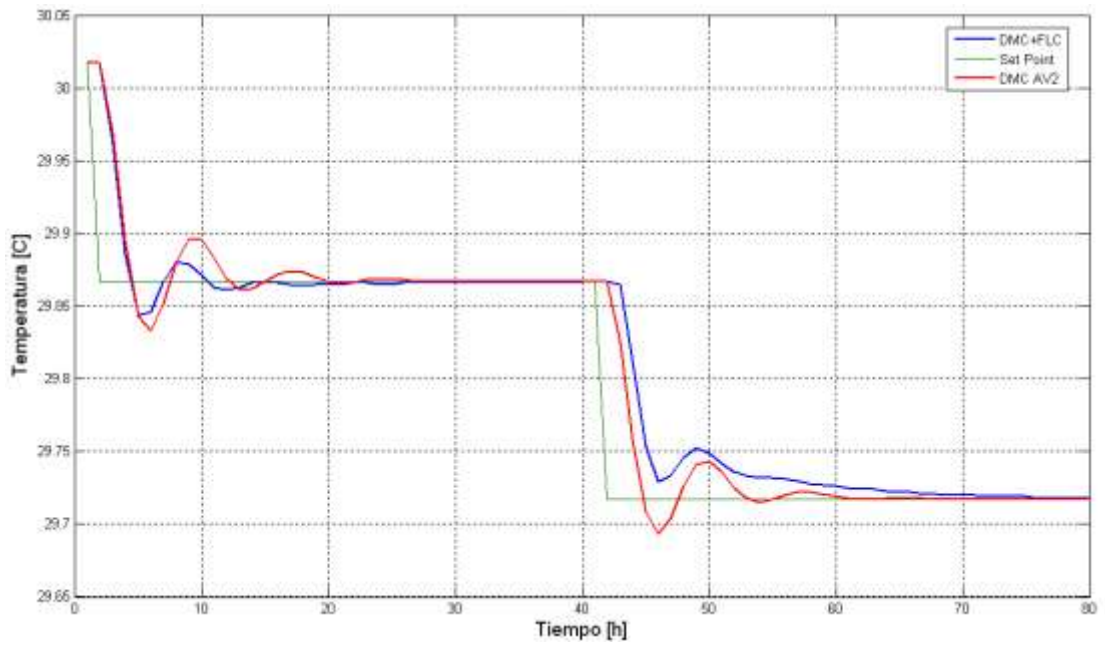


Figura 20. Comportamiento del FLC y DMC basado en el vector Av2.



Las comparaciones de las dos estrategias de control se basaron en el cambio del IAE (integral del error absoluto) para medir el rendimiento los tres sistemas de control. En la tabla13 se presentan los resultados de los IAE.

Tabla 13. Resultados del IAE

Controlador	IAE (%TOx _{hr})
DMC tradicional diseño basado en A_{V1} .	10.21
DMC tradicional diseño basado en A_{V2}	10.87
Adaptación lógica difusa DMC con las transiciones diseñadas en esta investigación.	10.15

De los resultados se aprecia que el rendimiento obtenido del controlador DMC adaptativo supervisado por el control por lógica difusa, presenta un mejor desempeño de acuerdo a la integral del error absoluto ante los DMC basados en modelos fijos lineales, al observar que los valores presentados en la tabla 13 no difieren mucho uno del otro, se consideró también el *over shoot* presentado por cada uno de los controladores probados, de acuerdo a las graficas 19 y 20 el controlador DMC supervisado presenta un menos *over shoot* comparado con los comportamientos de los DMC basados en A_{V1} y A_{V2} .

Figura 21. Comportamiento del FLC y DMC basado en el vector A_{v1} . en la etapa transitoria.

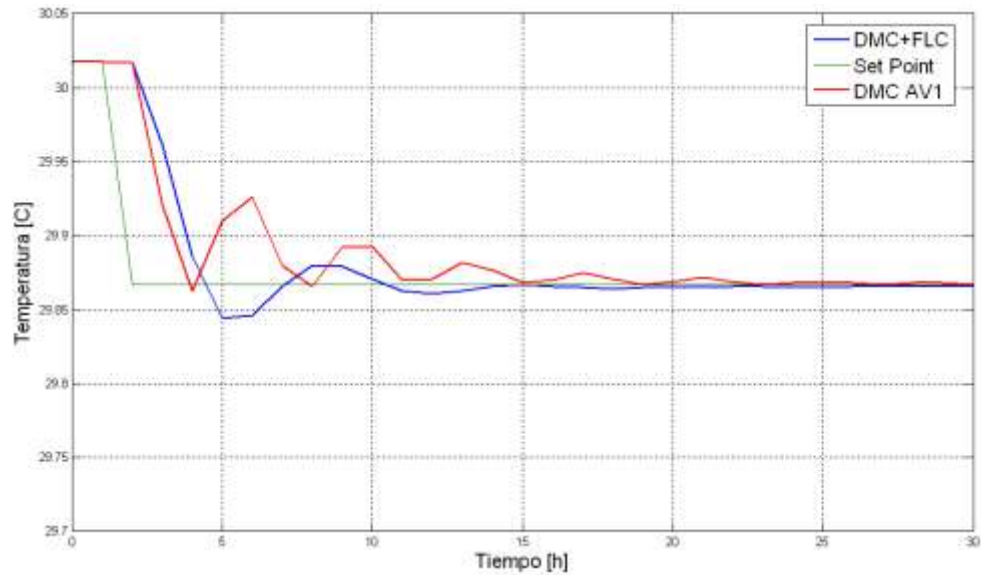


Figura 22. Comportamiento del FLC y DMC basado en el vector A_{v1} . en la etapa estable.

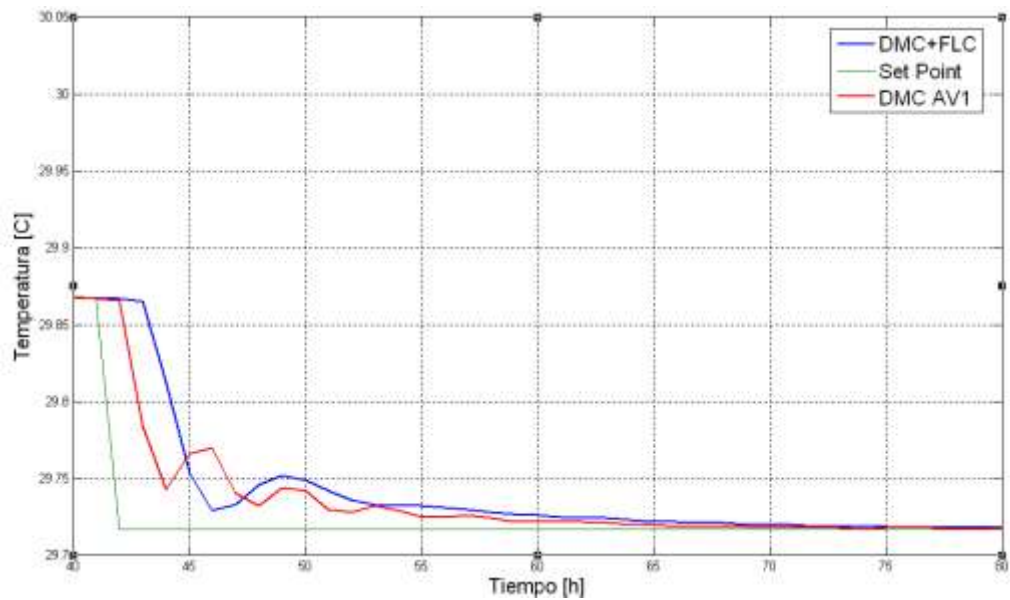


Figura 23. Comportamiento del FLC y DMC basado en el vector A_{V2} en la etapa transitoria.

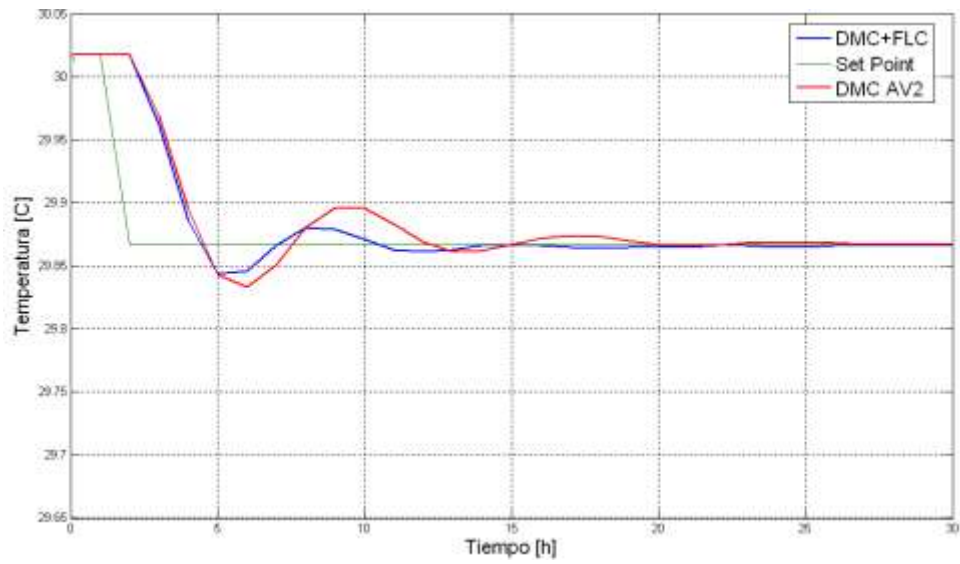
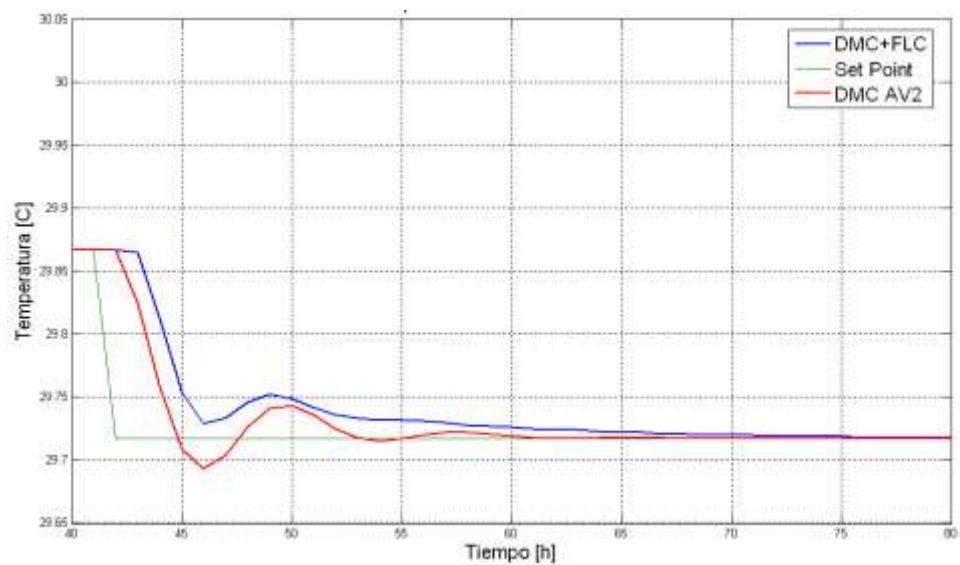


Figura 24. Comportamiento del FLC y DMC basado en el vector A_{V2} en la etapa estable.



En las graficas de la 21 a la 24 se aprecia el comportamiento de los distintos controladores en la etapa transitoria y etapa estable. A partir de ellas se observan los tiempos de aproximados de estabilización de los controladores en cada una de las etapas de operación después de realizado el cambio de *set point* y se presentan en la tabla 14.

Tabla 14. Tiempo de estabilización del controlador [h]

Controlador	Etapa transitoria	Etapa estable
DMC tradicional diseño basado en A_{V1} .	20	30
DMC tradicional diseño basado en A_{V2}	25	25
Adaptación lógica difusa DMC con las transiciones diseñadas en esta investigación.	23	25

De la tabla 14 los tiempos de estabilización de los controladores difieren un poco para la etapa transitoria manteniéndose en un valor más bajo el DMC supervisado, sin embargo en la etapa estable los DMC basados en los vectores A_{V1} y A_{V2} presentan tiempos inferiores de estabilización con respecto a la estrategia DMC supervisado, sin embargo se observa el comportamiento menos agresivo y estabilización más suave ante el cambio de *set point*.

5 CONCLUSIONES

De acuerdo al presente trabajo investigado se plantean las siguientes conclusiones:

- Se reviso la investigación presentada por Garro [4], la cual entrega parámetros como coeficiente máximo de rendimiento, termino de mantenimiento celular y constantes empíricas para la definición de la tasa de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y tasa de producción todos determinados experimentalmente a temperatura y pH constantes. La diferencia fundamental del desarrollo de esta investigación con respecto a la realizada por Garro [4] es el modelamiento del sistema dinámico de ecuaciones diferenciales incluyendo efectos por temperatura y pH para diseñar e implementar una estrategia de control adaptativo.
- Se desarrolló y simuló satisfactoriamente un modelo de fermentación alcohólica a partir de las expresiones de tasa de crecimiento bacteria, consumo de sustrato y producción de etanol, propuestas por Luedeking, Piret y Levenspiel. Al modelo propuesto se le incluyeron también expresiones propuestas por Birol de balances de energía e influencia del pH.
- Los resultados del modelo se compararon con los resultados obtenidos experimentalmente por Garro [4] con la finalidad de validar el modelo. Para concentraciones inicial de sustrato de 10, 20 y 100 gr/dm³ la producción obtenida experimentalmente fue de 4.8, 9.5 y 45 gr/dm³ y la obtenida a partir del modelo simulado fue 4.799, 9.628 y 48.25 gr/dm³ respectivamente. Lo que demuestra claramente la cercana aproximación del modelo construido y los datos experimentales.
- Durante la revisión bibliográfica de los distintos microorganismos capaces de producir etanol, se identifico la *Zymomonas mobilis* como la bacteria con

mejores especificaciones para llevar a cabo el proceso de fermentación. De la misma forma se encontró que la temperatura deseada para el mejor desempeño bacteriano y por lo tanto mejor producción debe ser 30 °C, considerando que al presentarse incrementos o descensos de temperatura se afecta directamente el metabolismo y velocidad de reacción de los microorganismos.

- Acerca de las *Zymomonas mobilis* existen un gran número de investigaciones en las cuales se presentan desde descripción detallada de su taxonomía hasta formas de clonación, demostrando su alta eficiencia.
- A partir de un diseño de experimentos se identificaron como variables significativas en el incremento de producción de etanol la concentración inicial de sustrato y el flujo del bio-reactor. Esta última en concordancia con el efecto inhibición por producto.
- Se realizó la optimización del proceso con el fin de determinar los valores de las variables del proceso que lograrán el máximo aumento de la producción. Se encontró que a medida que ocurra un incremento de la concentración inicial de sustrato así mismo se incrementará la producción de etanol, por lo tanto este incremento de sustrato inicial se verá restringido principalmente por la capacidad física del bio-reactor. Durante la optimización se encontró una concentración de etanol máxima de 41.63 gr/dm³. Para un flujo de salida de 4.3 dm³/h
- Se trabajó una metodología de adaptación de cambios para un controlador DMC en un mismo proceso con diferentes dinámicas. A partir de un controlador lógico difuso que tuviera como salida un factor K que permitiera recalcular la matriz de funcionamiento del DMC para adaptarlo a una de las dos etapas del proceso en la cual se encontrará operando.
- La estrategia de control desarrollada representa muchos beneficios al sector industrial, sin embargo este tipo de estrategia no cuenta con un

soporte tecnológico ofrecido por la industria distribuidora de sistemas de control, debido a que se requiere sistemas autónomos para la implementación a gran escala.

- El controlador fue implementado al modelo de producción de etanol simulado y se evaluó su rendimiento utilizando el IAE y comparando con dos controladores DMC tradicional basados en el vector estable A_{v1} y A_{v2} . A partir de esto se observó un mejor rendimiento de la estrategia DMC adaptable ante los DMC tradicionales bajo las mismas condiciones de operación y bajo los mismos cambios de *set point*.
- El controlador funcionó correctamente en un rango reducido de temperatura, entre los 29 °C y 31 °C. Por encima de este rango el controlador no opera correctamente debido a las limitaciones en las dimensiones físicas de la válvula de flujo refrigerante.
- La estrategia de control desarrollada e implementada en esta investigación se adapta mejor a las no-linealidades existentes en el proceso de fermentación en comparación con las estrategias de control de modelos fijos como los DMC basados en A_{v1} y A_{v2} permitiendo al mismo tiempo incorporar conocimiento de expertos en la dinámica de transición.

6 RECOMENDACIONES

- Esta investigación deja definido el modelo cinético de la reacción para continuar investigaciones en experimentación en bio-reactores e implementación física de la estrategia de control, en la cual la señal leída por el sensor debe estar completamente libre de ruido, debido al rango de lectura.
- En esta investigación se obtuvo una estrategia de control DMC de una sola entrada y una sola salida (SISO) supervisado por un controlador por lógica difusa FLC, sería interesante continuar la investigación aplicando estrategias de control de múltiples entradas y múltiples salidas (MIMO), considerando la relación existente entre las distintas variables del proceso.

7 REFERENCIAS

- [1] PORTAL ENERGÉTICO INTERNACIONAL. “Proyección De Los Expertos Estadounidense”. [En línea] http://gabinete.org.ar/Agosto_2007/council.htm
- [2] ECOPETROL, “Estadísticas Industria Petrolera”, 2005. [en línea] <www.ecopetrol.com.co/especiales/estadisticas2005/estadisticas-in>
- [3] CANTERO, K., y SANJUAN, M. -“Dynamic Model Fuzzy Transition in DMC Type Controllers for Varying Dynamics in Bioreactors”. ASME International Mechanical Engineering Congress and Exposition. 2008
- [4] GARRO, O.A., RODRIGUEZ, E., UNDA, R.P. y CALLIERI, D.- “Mathematical modelling of the alcoholic fermentation of glucose by *Zymomonas mobilis*” journal of Chemical Technology & Biotechnology, 63:367-373, 1995.
- [5] UNIDAD DE PLANEACIÓN MINERO ENERGÉTICA-, Mercados Potenciales Del Alcohol Carburante. [en línea] <<http://www.upme.gov.co/sipg/documentos/docs/mercadopotencialdealcoholcarburante%5B1%5D.pdf>>.
- [6] HENSON Michael. “Biochemical Reactor Modeling and Control”. Control Systems. Vol 26 número 4 P54-62. Agosto 2006
- [7] BERG, C., “World Ethanol Production and Trade to 2000 and Beyond”, Jan.1999.
- [8] LEE, W.C y HUANG, C.T.-“Modelling of Ethanol Fermentation Using *Zymomonas mobilis* ATCC 10988 Grown on the Media Containing Glucose and Fructose” Biochemical Engineering Journal, 4:217-227,2000.
- [9] VEERAMALLU, P. AGRAWAL, “A Structured Kinetic Model for *Zymomonas mobilis* ATCC 10988” Biotechnology. Bioengineering. 36: 694–704, 1990.

- [10] KOBAYASHI, F., & NAKAMURA, Y., "Mathematical model of direct ethanol production from starch in immobilized recombinant yeast culture" *Biochemical Engineering Journal*. 21: 93-101, 2004.
- [11] PHISALAPHONG, M., SRIRATTANA, N. y TANTHAPANICHAKOON, W.- "Mathematical Modeling to Investigate Temperature Effect on Kinetic Parameters of Ethanol Fermentation" *Biochemical Engineering Journal*,28:36-43,2006.
- [12] PHISALAPHONG, M., SRIRATTANA, N. y TANTHAPANICHAKOON, W.- "Mathematical Modeling to Investigate Temperature Effect on Kinetic Parameters of Ethanol Fermentation" *Biochemical Engineering Journal*,28:36-43,2006.
- [13] BARUCH, L., HERNÁNDEZ L. A., BARRERA, J.-"Control Neuronal Adaptable con Término Integral para un Proceso Biotecnológico de Fermentación por Lote Alimentado" *Revista Científica* 9: 111-118, 2005.
- [14] BARUCH, L., HERNÁNDEZ L. A., BARRERA, J.-"Control Neuronal Adaptable con Término Integral para un Proceso Biotecnológico de Fermentación por Lote Alimentado" *Revista Científica* 9: 111-118, 2005.
- [15] ANDENIUS, C.F., 2004, "Recent developments in the monitoring, modeling and control of biological production systems", *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 26(6), 347-351.
- [16] RADHAKRISHNAN, T.K., SUNDARAM, S., CHIDAMBARAM, M., 1999, "Non-linear control of continuous bioreactors", *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 20(2), 173-178
- [17] WTRG Economics , Oil Price History and Analysis.[En línea] <www.wtrg.com/prices.htm>, 2007
- [18] <http://www.sipg.gov.co/> [En línea]
- [19] UNIDAD DE PLANEACIÓN MINERO ENERGÉTICA-, EL ALCOHOL CARBURANTE EN COLOMBIA.[en línea] <www.upme.gov >

- [20] RESOLUCION No. 18 0687 DE JUNIO 17 DE 2003. "Regulación técnica prevista en la Ley 693 de 2001".
- [21] SANCHEZ, O. J., CARDONA, C. A., -"Producción Biotecnológica De Alcohol Carburante I: Obtención A Partir De Diferentes Materias Primas" .Interciencia, pp 671-678, 2005.
- [22] www.solociencia.com/biologia/microbiologia.htm
- [23] DUNN I., HEINZLE E. "Biological Reaction Engineering". WILEY-VCH GmbH & Co. KGaA. Second Ed. 2003.
- [24] NIELSEN J., VILLADSEN J.. "Bioreaction Engineering Principles". Kluwer Academic/Plenum Publishers. Second Ed. 2002.
- [25] BULLOCK, G. E. 2003. "Review of emerging ethanol technologies. Bioenergy" 2003. pp 30 - 36
- [26] NAJAFPOUR, G.D, LIM J.K., "Evaluation and Isolation of Ethanol Producer Strain SMP-6", Regional Symposium on Chemical Engineering 2002.
- [27] ROEHR, M.,-"The Biotechnology of Ethanol: Classical and Future Applications" Editorial Wiley-VCH. 2001
- [28] MINTON, N., & CLARKE, D.-"Biotechnology Handbooks 3, Clostridia" 1989
- [29] DA ROCHA, A., "Investigação do Comportamento Dinâmico de Biorreatores Contínuos do Tipo Tanque Perfeitamente Agitados Através de Diagramas de Bifurcação". 117p. 2006.
- [30] RUANGLEK, V; MANEEWATTHANA, D; TRIPETCHKUL, S "Evaluation of Thaiagro-industrial wastes for bio-ethanol production by *Zymomonas mobilis*" Process Biochemistry, 41: 1432-1437, 2006.
- [31] VIGNOLI, J.A; CELLIGOI, M.A.P.C; y SILVA, R:S:F-"Development of a Statistical Model for Sorbitol Production by Free and Immobilized *Zymomonas mobilis* in Loofa Sponge Luffa Cylindrical", Process Biochemistry, 41:240-242, . 2005.

- [32] GARCIA, M., "Biotecnología Alimentaria" Editorial LIMUSA,
- [33] VILLALBA. P., "MODELAMIENTO Y CONTROL DINÁMICO DE UN BIOREACTOR PARA LA CONVERSIÓN DE GLICERINA EN 1-3 PROPANODIOL" 92p. 2008
- [34] SWINGS, J. y DE LEY, J.-"The Biology of *Zymomonas*". Bacteriological Reviews, Vol. 41 p.1-46, 1997.
- [35] BERG, J., TYMOCZKO J. y STRYER, L. "Biochemistry". W.H. Freeman and Company. Second Ed. 2002.
- [36] DEVLIN T., "Bioquímica: Libro de texto con aplicaciones clínicas". Editorial REVERTÉ S.A. Cuarta Ed. 2004.
- [37] LEUDEKING, R Y PIRET, E.L., "A Kinetic Study of the Lactic Acid Fermentation Batch Process at Controlled pH". J. Biochemical Microbial Biotechnology Engineering. 1: 393-412, 1959.
- [38] CAMACHO E., BORDONS C. "Control Predictivo: Pasado, Presente Y Futuro". Escuela Superior de Sevilla. Universidad de Sevilla. 2004.
- [39] DOUGHERTY, D., COOPER, D. "A Practical Multiple Model Adaptive Strategy For Single-Loop MPC" Control Engineering Practice 11: 141–159, 2003.
- [40] GARCIA, C. E. "Quadratic Dynamic Matrix Control of Nonlinear Processes". AICHE Annual Meeting 1986. San Francisco, CA.
- [41] KRISHNAN, K., & KOSANOVICH, K. A. "Batch Reactor Control Using A Multiple Model-Based Controller Design". Canadian Journal of Chemical Engineering, 76, 806–815, 1998.
- [42] GATTU, G., & ZAFIRIOU, E. "Nonlinear Quadratic Dynamic Matrix Control With State Estimation". Industrial & Engineering Chemical Research, 31, 1096–1104, 1992.
- [43] GATTU, G., & ZAFIRIOU, E. "Observer Based Nonlinear Quadratic Dynamic Matrix Control For State Space And Input/ Output Models". Canadian Journal of Chemical Engineering, 73, 883–895, 1995.

- [44] LEE, J. H., & RICKER, N. L. "Extended Kalman Filter Based Nonlinear Model Predictive Control." *Industrial & Engineering Chemical Research*, 33, 1530–1541, 1994.
- [45] GOPINATH, R., BEQUETTE, B. W., ROY, R. J., KAUFMAN, H., & YU, C. "Issues In The Design Of a Multirate Model-Based Controller For A Nonlinear Drug Infusion System". *Biotechnology Progress*, 11, 318–332, 1995.
- [46] LAKSHMANAN, N. M., & ARKUN, Y. "Estimation And Model Predictive Control Of non-Linear Batch Processes Using Linear Parameter Varying Models". *International Journal of Control*, 72(7/8), 659–675, 1999.
- [47] BODIZS, A., SZEIFERT, F., & CHOVAN, T. "Convolution Model Based Predictive Controller For A Nonlinear Process". *Industrial & Engineering Chemical Research*, 38, 154–161, 1999.
- [48] PETERSON, T., HERNANDEZ, E., ARKUN, Y., & SCHORK, F. J. "A Nonlinear DMC Algorithm And Its Application To A Semibatch Polymerization Reactor". *Chemical Engineering Science*, 47(4), 737–753., 1992.
- [49] ZADEH L. "Fuzzy Sets", *Information and Control*, 8, 338–53, 1965.
- [50] TSUCHIYA Y., KOIZUMI, J., SUENARI. K., TESHIMA, Y., & NAGAI, S.: "Constructions Of Fuzzy Rules And A Fuzzy Simulator Based On The Control Techniques Of Hiroshima Tohji (Experts)". *Hakkokogaku*, 68, 123-129, 1990.
- [51] NAKAMURA, T., KURATANI, T., & MORITA, Y.: "Fuzzy Control: Application To Glutamic Acid Fermentation". *Proc. of IFAC Modeling and Control of Biotechnology Process*, 211-215, 1985.
- [52] SHIHA, S., NISHIDA, Y., PARK, Y. S., IJIMA, S., & KOHAYASHI, T.: "Improvement Of Cloned A-Amylase Gene Expression In Fedbatch Culture Of Recombinant *Saccharomyces Cerevisiae* By Regulating Both

Glucose And Ethanol Concentrations Using A Fuzzy Controller".
Biotechnol. Bioeng., 44, 1055-1063, 1994.

- [53] HORIUCHI, J., KISBIMOTO, M., & MOMOSE, H.: "Hybrid Simulation Of Microbial Behavior Combining A Statistical Procedure And Fuzzy Identification Of Culture Phases". J. Ferment. Technol., 79, 297-299, 1995.
- [54] HOSOBUCHI, M., FUKUI, F., MATSUKAWA, H., SUZUKI, T., & YOSHIKAWA, H.: "Fuzzy Control During Microbial Production Of ML-236B, A Precursor Of Pravastatin Sodium". J. Ferment. Technol., 76, 482-486, 1993.
- [55] SHIMIZU, H., MIURA, K., SHIOYA, S., & SUGA, K.: "On-Line State Recognition In A Yeast Fed-Batch Culture Using Error Vectors". Biotechnology. Bioeng., 41, 165-173, 1995.
- [56] "HIROYUKI, H., & TAKESHI, K.-"Review Fuzzy Control Of Bioprocess" Journal Of Bioscience And Bioengineering, 89: 5, 401-408. 2000.
- [57] K. KAVAŠEK-BIASIZZO, I. ŠKRJANC, D. MATKO-"Fuzzy Predictive Control Of Highly Nonlinear Ph Process". Comput. Chem. Eng. Suppl. 21 613–618, 1997.
- [58] M. HE, W.-J. CAI, S.-Y. LI, "Multiple Fuzzy Model-Based Temperature Predictive Control For HVAC Systems", Inform. Sci. 169: 155–174, 2005.
- [59] Reza, M., & Shahrokhi, M., "Control Of Ph Processes Using Fuzzy Modeling Of Titration Curve" Fuzzy Sets and Systems 157: 2983 – 3006. 2006.
- [60] KISHIMOTO, M., MOO-YOUNG, M., & AHSOP, P.: "A Fuzzy Expert System For The Optimization Of Glutamic Acid Production". Bioprocess. Eng., 6, 163-172 , 1991.
- [61] SHI, Z. AND SHIU, K.: "Neuro-Fuzzy Control Of Bioreactor Systems With Pattern Recognition". J. erment. Bioeng., 74, 39-45 , 1992.

- [62] PIRT, S.J.,-“Maintenance Energy: a General Model for Energy-Limited and Energy-Sufficient Growth”. Arch. Microbiol. 123:300-2, 1982.
- [63] AIBA, S.;SHODA, M. y NAGATANI, M. – “Kinetics of Product Inhibition in Alcohol Fermentation” Biotechnology Bioengineering, 10:845-864, 1968.
- [64] LEVENSPIEL, O., “The Monod Equation: A Revisit and a Generalization to Product Inhibition Situations”. Biotechnology Bioengineering.22: 172-9, 1980.
- [65] GHOSE, T. K y TYAGI,R.D.,”Rapid Ethanol Fermentation of Cellulose Hydrolysate. Product and Substrate Inhibition and Optimization of Fermentor Desing” Biotechnol Biogeng. 21: 1401-20, 1979.
- [66] BIROL, G., DORUKER, P., KARDAR, B., ÖNSAN, Z. & ULGEN, K.- “Mathematical Description Of Ethanol Fermentation By Immobilised *Saccharomyces cerevisiae*” Process Biochemistry 33:7, pp. 763-771, 1998.
- [67] BIROL, G., UNDEY, C., CINAR, A., 2002, “A Modular Simulation Package for Fed-Batch Fermentation: Penicillin Production”, Computers and Chemical Engineering, 26, 1553-1565.
- [68] NIELSEN J., VILLADSEN J. “Physiological Engineering Aspects of Penicillin Chrysogenum”. Singapore: World scientific 1997.
- [69] BOUDREAU, M. A., y McMILLAN, G. K., “New Directions In Bioprocess Modeling and Control”. ISA. 2007.
- [70] SHULER, M. L., y KARGI, F., “Biochemical Engineering Basic Concepts”. 2da Ed. Prentice Hall, 2002.
- [71] MONTGOMERY, D. C. “Diseño y Análisis de Experimentos”. Limusa Wiley. 2da Ed.
- [72] DURANGO, N., SANJUAN, M., 2006, “fuzzy Adaptation And Matrix Implementation Of Smith Predictor For Dynamic Matrix Control In Continuous Processes With Large Dead Time”, Proceedings of IMECE 2006, November 5-10, 2006, Chicago, Illinois USA.

ANEXOS

