## ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

# Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas

"MODELADO, SIMULACIÓN Y PROPUESTA DE DISEÑO DE UN CONTROLADOR PARA EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE UNA INDUSTRIA PRODUCTORA DE DERIVADOS LÁCTEOS UBICADA EN LA CIUDAD DE GUAYAQUIL"

## PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

**INGENIERO QUIMICO** 

Presentado por:

RICARDO ANDRES FREIRE GUZMAN
CHRISTIAN MANUEL MONTOYA JARAMILLO

GUAYAQUIL-ECUADOR

Año: 2021

## **DEDICATORIA**

A mi madre, Alicia Mirella Guzman por ser el pilar más importante y por darme siempre su apoyo y cariño, gracias por inculcar en mí el valor de siempre levantarme a pesar de las dificultades.

A mi padre, Ricardo Freire Ching quien me enseño que el mejor conocimiento que uno puede tener es el que se aprende por sí mismo.

A mi hermano, Steven Freire Guzman por su apoyo incondicional, durante el transcurso de mis estudios.

A mi perra Pelusa, por estar conmigo largas horas tumbada a mis pies, sin importar la hora, esperándome para ir a dormir.

A mi compañero, Christian Montoya Jaramillo, por su amistad ante las adversidades que tuvimos para llegar hasta el día de hoy

Ricardo Andrés Freire Guzmán

## **DEDICATORIA**

A mi vida, Gladys Jaramillo Moreno. Quien me ha visto crecer. Aquella persona que ha reído, llorado, sufrido y celebrado conmigo. Quien me ha apoyado en cada sueño por más difícil que suene. Mamá, te he cumplido.

Walter Montoya Chonillo, mi padre. Aquel que con sus sabias palabras en los momentos más cruciales reprogramaba mi mente y forjaba mi voluntad.

Joyce Suárez Flores, mi mejor amiga y mi hermana. Su paciencia, consejos y determinación fueron una de las mayores bendiciones que esta vida me pudo dar. Te quiero conmigo para toda la vida.

Narcisa Villón Álvarez, el apoyo que me diste durante cuatro años y la paciencia que me tuviste fue sobrehumana, en Tiempos cuando todo parecía derrumbarse, siempre estuviste ahí.

Ricardo Freire, mi compañero y amigo. Por el apoyo para el desarrollo de este proyecto, las risas y peleas, el estrés y la paciencia por la que pasamos para llegar hasta aquí.

**Christian Manuel Montoya Jaramillo** 

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a Dios por bendecirnos la vida con salud, amigos y ser el apoyo y fortaleza en momentos de dificultas

A mis mentores: Dr. Wilfredo Antonio Angulo Sánchez, Dr. Sócrates Arturo Palacio Ponce, Msc. Bernadro Mora, Ing. Luis Antonio Vaca Salazar. Quienes con sus enseñanzas y paciencia hicieron que pueda crecer día a día como profesional.

A todos mis amigos, Tumbaco, Ormaza, Eduarda, Laura, Saúl y entre otros muchos más. Quienes me han ayudado a lo largo de mi vida con sus consejos que me han impulsado a ser lo que soy.

Gracias por permitirme seguir teniéndolos en mi vida.

Ricardo Andrés Freire Guzmán

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a Dios por brindarme todas las herramientas, amigos y paciencia para haber llegado tan lejos.

A mis mentores: Dr. Wilfredo Antonio Angulo Sánchez, Dr. Sócrates Arturo Palacio Ponce, Dr. Haci Baykara, Msc. María Verónica Ordóñez, Msc. Bernadro Mora, Ing. Luis Antonio Vaca Salazar, Ing. Andrea Fernanda Barcia Quimi. Quienes con su apoyo, enseñanzas y paciencia han formado una parte muy importante en el desarrollo de mi vida personal y universitaria.

A todos mis amigos, Marcos, Cristina, Javier, Eduardo, Kevin, Pamela y entre otros muchos más. Quienes me han apoyado, soportado, perdonado e impulsado a ser lo que soy hasta el día de hoy. Gracias por permitirme tenerlos en mi vida.

**Christian Manuel Montoya Jaramillo** 

# **DECLARACIÓN EXPRESA**

"Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; **Ricardo Andrés Freire Guzmán** y **Christian Manuel Montoya Jaramillo**, damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual"



Ricardo Andrés Freire Guzmán

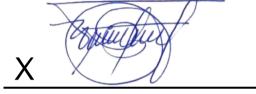


Christian Manuel Montoya Jaramillo

# **EVALUADORES**

X

MSc. Nadia Flores PROFESOR DE LA MATERIA



MSc. Wilfredo Angulo PROFESOR TUTOR RESUMEN

En la industria de productos lácteos, la mayoría de los sabores, y características

principales de los productos, son generados en la fermentación. Por esto, resulta

importante controlar: la temperatura, pH y agitación, de este proceso, para garantizar la

calidad de producto final. Consecuentemente, la implementación de controladores se ha

vuelto una necesidad para disminuir el Tiempo de operación. Por lo tanto, se propone

una estrategia de control, estimando el Tiempo estacionario a partir del pH, de modo que,

este envíe una señal a la variable manipulada para dar fin al proceso.

Como primera etapa, se recopiló de forma experimental una base de datos de las

variables de estado de la operación. Luego, se construyó el perfil dinámico empleando

modelos diferenciales que describen la cinética de las especies químicas involucradas,

utilizando la metodología de ajuste de parámetros de Levenberg-Marguardt. Finalmente,

se determinó el Tiempo estacionario del proceso y se construyó un controlador PID. Este

controlador manipulará el voltaje del motor para mantener constante la velocidad de

agitación.

Los resultados de los datos experimentales mostraron concordancia entre las fases para

el ciclo fermentativo del caso industrial con los casos bases obtenidos mediante

bibliografía. El ajuste de parámetros sobre el caso industrial obtuvo resultados del perfil

dinámico con un error inferior al 10%. Se redujo el Tiempo de operación de 4 a 2.7 horas,

y se obtuvo un estado estacionario del pH de 4.9. Finalmente, se diseñó un controlador

considerando el Tiempo estacionario, disminuyendo el Tiempo estabilización de 1.87

segundos a 0,91 segundos.

Palabras Clave: Fermentación, pH, Levenberg-Marguardt, PID

ı

**ABSTRACT** 

In the dairy industry, most of the flavors, and main characteristics of the products, are

generated in fermentation. For this reason, it is important to control: the temperature, pH

and agitation of this process, to guarantee the quality of the final product. Consequently,

the implementation of controllers has become a necessity to decrease the operating time.

Therefore, a control strategy is proposed, estimating the stationary time from the pH, so

that it sends a signal to the manipulated variable to end the process.

As a first stage, a database of the state variables of the operation was compiled

experimentally. Then, the dynamic profile was constructed using differential models that

describe the kinetics of the chemical species involved, using the Levenberg-Marquardt

parameter adjustment methodology. Finally, the stationary time of the process was

determined and a PID controller was built. This controller will manipulate the motor

voltage to keep the stirring speed constant.

The results of the experimental data showed concordance between the phases for the

fermentation cycle of the industrial case with the base cases obtained through

bibliography. The adjustment of parameters on the industrial case obtained results of the

dynamic profile with an error of less than 10%. The operating time was reduced from 4 to

2.7 hours, and a steady state pH of 4.9 was obtained. Finally, a controller was designed

considering the stationary time, decreasing the stabilization time from 1.87 seconds to

0.91 seconds.

Key Words: Fermentation, pH, Levenberg-Marquardt, PID

Ш

# ÍNDICE GENERAL

EVALUADOR	RES	6
RESUMEN		
ABSTRACT.		
ÍNDICE GEN	ERAL	
ABREVIATU	RAS	V
SIMBOLOGÍA	Α	VI
ÍNDICE DE F	IGURAS	VIII
ÍNDICE DE T	ABLAS	IX
ÍNDICE DE A	NEXOS	X
<b>CAPÍTULO 1</b>		1
1. Introdu	cción	1
	scripción del problema	
	stificación del Problema	
1.3. Ob	jetivos	3
1.3.1.	Objetivo General	
1.3.2.	Objetivos Específicos	
1.4. <b>M</b> a	rco Teórico	
1.4.1.	Generalidades del yogur	
1.4.2.	Proceso de elaboración de yogur	
1.4.3.	Generalidades de la fermentación	
1.4.4.	Fermentación láctica	
1.4.5.	Ciclo de crecimiento microbiano	
1.4.6.	Acidez y temperatura del medio de fermentación	
1.4.7.	Ley de la conservación de la materia	
1.4.8.	Modelos cinéticos	
1.4.9.	Ajuste de Parámetros	
1.4.10.	Control de procesos	
	ología	
	finir el sistema de fermentación bacteriana	
2.1.1.	Descripción del proceso	
2.1.2.	Definición del sistema principal	
2.1.3.	Definir los parámetros, las variables y constantes	18

2.2.	Formulación del modelo matemático propuesto	18
2.2.1	. Revisión bibliográfica del modelo	18
2.3.	Medición experimental de las variables	19
2.3.1	Biomasa	19
2.3.2	2 Sustrato	19
2.3.3	B Producto	21
2.4	Ajuste y Simulación de parámetros del modelo a los datos experimentales	22
2.5	Propuesta del sistema de control	23
2.6	Estimación de costos.	24
2.6.1	Costos por experimentación	24
2.6.2	Costos para ajuste de parámetro	24
2.6.3		
CAPÍTULO	O 3	
	ultados y análisis	
	Descripción del proceso	
	Definición de los procesos principales	
	Identificación de variables, parámetros y constantes	
	Formulación del modelo matemático propuesto	
3.5.	Análisis de resultados de los datos experimentales.	
	Ajuste de parámetros	
3.6.1		
3.6.2		
	Diseño de un sistema de control	
	Análisis Económico	
	O 4	
	clusiones y recomendaciones	
	onclusiones	
	ecomendaciones	
	RAFÍA	
	E	
VMEAU		57

## **ABREVIATURAS**

ESPOL Escuela Superior Politécnica del Litoral

FAO Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

CIL Centro de Industrias Lácteas

INEN Instituto Ecuatoriano de Normalización

ATP Adenosín Trifosfato

PYMES Pequeñas y Medianas Empresas

## SIMBOLOGÍA

Gramos  $_{\circ}^{g}\mathcal{C}$ **Grados Celsius** Litros L  $dm^3$ Decímetros cúbicos kΙ KiloJoules *kCal* Kilocalorías Concentración de Biomasa X S Concentración de Sustrato P Concentración de Producto Tiempo t Tasa de crecimiento máximo de Biomasa  $\mu_{max}$ Crecimiento asociada a la generación de Producto Α Decrecimiento asociada a la generación de Producto В Función de Decrecimiento transferencia Sensor H(S)Ganancia del Transmisor  $K_T$ Tiempo de respuesta del Transmisor  $\tau_T$  $G_{c}(S)$ Función de Transferencia del controlador M(S)Función de Transferencia del medidor (Error) Función de Transferencia del medidor (Teórico) E(S) $mg Cu_2O$ Miligramos de Óxido de Cobre Volumen de solución empleada  $V_{s}$ Factor de dilución f  $P_{1P}$ Peso de ácido láctico Volumen de la solución  $V_{s1}$  $V_1$ Volumen de Titulación Peso de la solución después de titular  $P_{S}$ N Concentración Normal Masa de analito posterior a la experimentación mMasa inicial del analito  $m_i$ Vector de Parámetros Vector de respuesta de ajuste  $\mu_{mod}(\mathsf{t},\theta)$ Vector de datos experimentales  $\mu_{exp}$ Error cuadrático medio  $E(\theta)$ Inversión inicial  $I_0$ Flujo neto de cajas  $F_t$ Tasa de descuento del inversionista i n Horizonte de evaluación. Concentración del j - ésimo componente  $C_i$ Q Caudal de la mezcla  $R_i$ Cinética de reacción del j – ésimo componente  $Y_{X/S}$ Rendimiento asociada entre Biomasa – Sustrato Rendimiento asociada entre Producto – Sustrato  $Y_{P/S}$ Biomasa Residual  $S_{res}$ 

Concentración de Biomasa inicial

Concentración de Sustrato inicial

 $X_0$ 

 $S_0$ 

Concentración de Producto inicial

 $P_0$   $pH_0$ Concentración de pH inicial

Resistencia del motor R

Voltaje V

Еа Fuerza electromotriz Intensidad de corriente i Inductancia de la bobina L

Torque del motor Tm

Coeficiente de fricción В Momento de inercia total J

Velocidad angular W

# ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Perfil del ciclo fermentativo de la Biomasa a través del Tiempo	.10
Figura 2.1 Diagrama de flujo de metodología para la simulación, modelado y propuesta de diseño de controladores	.16
Figura 3.1 Perfil dinámico experimental de las variables de estado	.31
Figura 3.2 Ajuste de parámetros del Caso Base para las variables de Biomasa, Sustrato, Producto y pH	.34
Figura 3.3 Ajuste de parámetros del Caso industrial para las variables de Biomasa, Sustrato, Producto y pH	.35
Figura 3.4. Curva de pH a través del Tiempo de proceso	.36
Figura 3.5 Salto escalón de voltaje del motor de corriente directa	.37
Figura 3.6 Diagrama de sistema de motor a corriente directa	.38
Figura 3.7 Diagrama de funciones de transferencia en el sistema SimuLink	.39
Figura 3.8 Diagrama de bloque, Variable de entrada: Voltaje y Variable de salida Corriente, velocidad angular y posición de la hélice	
Figura 3.9 Función de transferencia calculada (Azul), Función de transferencia estimada en el sistema SimuLink	.40
Figura 3.10. Sintonización del controlador ante las perturbaciones de salida	.41
Figura 3.11. Diagrama de bloque del controlador PID	.42

# ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Cuadro Comparativo de la Leche entera y Yogur natural (López, 2014)5
Tabla 1.2 Modelos matemáticos de diversas variables (Urstale Sánchez, 2004)12
Tabla 1.3 Tipos de controladores, parámetros para su implementación, funciones de transferencia (Corripio, 2015)14
Tabla 3.1 Perfil de Concentraciones experimentales de Biomasa, Sustrago, Producto y perfil de acidez a través del Tiempo32
Tabla 3.2 Tabla de Ajuste de parámetros para el caso base - Calibración33
Tabla 3.3 Tabla de error relativo porcentual entre los datos experimentales y los parámetros después del ajuste del caso base – Calibración33
Tabla 3.4 Tabla de Ajuste de parámetros para el Caso Industrial35
Tabla 3.5 Tabla de error relativo porcentual entre los datos experimentales y los parámetros después del ajuste para el Caso Industrial35
Tabla 3.7 Resultados de la Inversión Inicial para la recopilación, ajuste e implementación de controladores42
Tabla 3.8. Tabla de resultados, indicadores de sostenibilidad VAN, TIR, PR43
Tabla A – 1. Resultados Experimentales obtenidos – Datos de Biomasa50
Tabla A – 2. Resultados Experimentales obtenidos – Datos de Sustrato52
Tabla A – 3. Resultados Experimentales obtenidos – Datos de Producto54

# ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Muestras de biomasa dentro del horno para su calentamiento	57
Anexo 2. Pesado de la muestra de Biomasa posterior al calentamiento	57
Anexo 3. Muestras de Biomasa posterior al calentamiento	58
Anexo 4. Muestra de analito diluido en el sistema	58
Anexo 5. Reactivo Ácido Fosfórico 1N	59
Anexo 6. Reactivo de Hidróxido de Bario al 98%	59
Anexo 7. Separación de fase acuosa mezclada de lactosa con la fase orgánica	60
Anexo 8. Solución Fehling A, Fehling B y agua destilada	60
Anexo 9. Baño maría de la Solución Fehling con muestra de lactosa para su validac	
Anexo 10. Solución de óxido cuproso, muestra de lactosa validada	61
Anexo 11. Solución de ácido nítrico 50:50	62
Anexo 12. Reactivo, solución de loduro de Potasio	62
Anexo 13. Solución indicadora de Fenolftaleína	63
Anexo 14. Solución de Hidróxido de Sodio 0.1N	63
Anexo 15. Neutralización de la solución mediante solución indicadora	64
Anexo 16. Punto de viraje de la muestra para determinación de Producto en la mezo	

# **CAPÍTULO 1**

## 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Descripción del problema

La eficiencia y productividad del proceso de fermentación que se emplea en la elaboración de yogur a nivel industrial depende de las diferentes fases de crecimiento bacteriano: retardo, exponencial, desaceleración, estacionaria y declive (Amrane,2001). Cada una de estas fases son favorecidas por condiciones específicas en la operación del proceso de fermentación. Las condiciones de los procesos requieren un control adecuado dentro del fermentador. El garantizar dichas condiciones específicas evita variaciones significativas en los parámetros de calidad del producto terminado. (Poulos, 2008)

El fermentador que generalmente se emplea en la producción del yogur se realiza por lotes; para poder controlar de forma adecuada este fermentador, se necesita una comprensión del proceso biológico. Este proceso requiere un modelo matemático lo suficientemente preciso y descriptivo que relacione todas las condiciones importantes y provea información clave sobre el comportamiento de las variables de estado, garantizando la mejora continua de este proceso. (Poulisse,1985)

En el presente proyecto, se plantea identificar los posibles factores que afectan el medio de cultivo para mantener el estado de estas en las condiciones de mayor rendimiento. Estas pueden ser determinadas mediante el modelaje y la simulación del proceso. Finalmente, a fin de mantener estable el sistema ante posibles perturbaciones se propondrá una estrategia de control usando como *set point* las condiciones estacionarias.

#### 1.2. Justificación del Problema

El Ecuador desde el año 2000 posee altos niveles de consumo y producción de derivados lácteos, la necesidad de la producción de yogur viene dada por la demanda que existe en el mercado, además de que provee un valor agregado a la leche, según los datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) y el Centro de Industrias Lácteas (CIL). La producción de yogur en el Ecuador se lleva a cabo mediante el procesamiento del 10% correspondiente a los 2,66 millones de litros de leche diarios. (Ramírez, 2017) El yogur es un producto lácteo que se obtiene a través de un proceso de fermentación láctica de bacterias como: Estreptococo thermophilus y Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus. La fermentación bacteriana se centra en tres procesos primarios: tasas de crecimiento bacteriano, tasas de desaparición de nutrientes y formación de productos (Tamine, 1999).

Para la tasa de crecimiento bacteriano el proceso debe tener alta demanda de esterilidad para evitar toxicidad del cultivo iniciador, además de tener el pH controlado y la temperatura constante a lo largo del proceso. Durante la elaboración del yogur, estas bacterias producen ácido láctico mediante una fermentación homoláctica, en donde la lactosa es convertida en ácido pirúvico y luego transformada en el producto final. Este ácido es uno principales componentes del yogur. Como consecuencia de este producto, se genera una disminución del pH en el sistema, ocasionando que las condiciones del cultivo cambien en el medio y disminuya el Tiempo de vida útil de las bacterias. (Ramírez, 1996)

El proceso de fermentación láctica en la elaboración del yogur debe ser controlado para asegurar la repetibilidad de las producciones y los niveles máximos de calidad y seguridad alimentaria. Estos controles se refieren principalmente a variables de operación tales como la temperatura y el pH (Ramírez, 1999). Se deben realizar ya sea en los tanques de fermentación o directamente por el análisis de muestras en el laboratorio de calidad, y se deben realizar durante las diferentes etapas de fabricación. Para poder controlar el proceso es necesario un modelo matemático, con el cual se pueda simular la dinámica correspondiente a las tres principales etapas del proceso, puesto que las variables a controlar tienen un efecto significativo en la productividad y eficiencia de la operación. (Ramírez, 1996)

## 1.3. Objetivos

## 1.3.1. Objetivo General

Proponer un sistema de control para en el proceso de fermentación de una industria de derivados de productos lácteos, simulando la dinámica del proceso mediante un modelo matemático.

## 1.3.2. Objetivos Específicos

- Identificar las variables de estado del proceso empleando referencias bibliográficas.
- Recopilar los datos del proceso de forma experimental siguiendo una metodología para la medición de cada variable de estado durante todo el Tiempo de operación.
- Simular el comportamiento dinámico del proceso empleando un modelo matemático ajustado a las mediciones experimentales de las variables de estado.
- Plantear una estrategia de control con la dinámica del proceso, identificando las variables perturbadas y controladas.

#### 1.4. Marco Teórico

## 1.4.1. Generalidades del yogur

El Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), organización encargada del cumplimiento de los requisitos de elaboración de productos, define al yogur como: "Producto coagulado generado por fermentación láctica de la leche mediante la acción de bacterias lácticas junto a otros microorganismos que confieren características al producto (INEN, 1999)"

El Yogur, también conocido como Yogurt, es un producto lácteo de alta viscosidad y densidad producido por la acción de microorganismos sobre un material alimenticio en un proceso de fermentación (Miao, 2016).

En términos de composición, las propiedades nutricionales de la leche y del yogur son similares entre sí. El yogur contiene una cantidad de concentración de lactosa igual o similar a la leche de origen que se usó para su procesamiento con una variación alrededor del 3.5% (Romero, 1991). La cantidad proteica difiere consecuencia de la hidrolización de las proteínas iniciales causadas durante su elaboración; aquellas fracciones nitrogenadas no proteicas que son contenidas en la leche son transformadas en fracciones proteicas. La acción de los microorganismos repercute sobre la fracción lipídica en consecuencia a la lipolisis que generan un ligero aumento en el contenido ácidos grasos libres (Balcázar, 2011).

Tabla 1.1 Cuadro Comparativo de la Leche entera y Yogur natural (López, 2014)

Cuadro comparativo de la leche entera y yogur natural					
Leche entera					
	Proteínas	Grasas	Hidratos de Carbono	Total	
Valor energético (kJ/100g)	61	146	79	287	
(kcal/100g)	15	35	19	69	
	Componentes de la leche (en g/100)				
Agua				87,5	
Proteínas			3,33		
Grasa			3,78		
Hidratos de Carbono disponible			4,75		
Minerales			0,74		
Yogur Natural (contenido mínimo grasa = 3,5%)				•	
	Proteínas	Grasas	Hidratos de Carbono	Total	
Valor energético (kJ/100g)	71	145	82	299	
(kcal/100g)	17	35	20	71	
Componentes (en g/100)					
Agua				87	
Proteínas				3,88	
Grasa				3,75	
Hidratos de Carbono disponible				4,9	
Minerales			0,74		

## 1.4.2. Proceso de elaboración de yogur

El proceso de elaboración de yogur industrial prosigue una estrategia estándar durante la recolección de la materia y pretratamiento, todas las etapas van a través de un proceso estándar de control de calidad (Díaz, 2017).

## 1.4.2.1. Recepción de la leche

Durante la recepción de la leche, esta ingresa a unos sistemas de desaireación que disminuyen la cantidad de bióxido de carbono dentro en la muestra. Las especificaciones de calidad dependen de la cantidad de contenido de grasa el cual debe pertenecer en un rango entre 4% a 4.5% (Balcázar, 2011).

## 1.4.2.2. Refrigeración

La leche una vez que es validada, debe ser refrigerada a fin de evitar la proliferación bacteriana. Para esto se usan intercambiadores de calor de tubo y carcasa cuyas propiedades permiten el intercambio entre agua fría y la leche. Los intervalos de temperaturas del cual la leche debe ser refrigeradas están entre los 4°C a 10°C. Cuando la leche ha sido enfriada, se transportan y almacenan en silos hasta su pretratamiento (Balcázar, 2011).

## 1.4.2.3. Normalización del contenido graso

En caso de que las muestras de leche contengan un porcentaje graso mayor al deseado, son transportados a descremadoras. Estos son equipos centrifugadores que permiten la separación y desnatacion.

### 1.4.2.4. Pasteurización

Cuando la materia ha sido separada, esta es enviada a un tanque de mezclado para su homogenización; desde este instante, el sistema ingresa a intercambiadores de calor por etapas que varía la temperatura de la leche en función al tipo de proceso que se emplea dentro de la leche.

Primera etapa: La temperatura de la leche incrementa a valores entre 50°C a 80°C, que permite la ruptura de las grasas remanentes para una posterior separación.

Segunda etapa: Cuando la leche incrementó su temperatura entre los intervalos de la primera etapa, vuelve a incrementarse a valores superiores a los 85°C en un breve periodo de Tiempo con el fin de eliminar presencia de patógenos en la leche. Esta etapa representa el corazón de la pasteurización.

Tercera etapa: Una vez que la leche fue pretratada, el ciclo de pasteurización finaliza al disminuir su temperatura a los valores óptimos para el ingreso del fermentador en donde ocurrirá la acción bacteriana en donde se formará el ácido láctico, ingrediente principal del yogur (Liu, 2014).

## 1.4.2.5. Homogenización

La leche tratada ingresa a un mezclador, que permite la disminución de la viscosidad y cremosidad que presenta la leche tras su pasteurización; en esta etapa se ingresan los ingredientes de la casa productora que permiten endulzar el proceso antes de la producción de yogur natural. Previo a la fermentación, ingresa a una cuarta etapa de control de temperatura que mantiene la temperatura de la leche a sus valores óptimos antes del ingreso al fermentador (Balcázar, 2011).

#### 1.4.2.6. Fermentación

La leche tratada ingresa a un contenedor de mezclado y agitado que estará a una temperatura constante. En esta etapa se ingresarán microorganismos controlados que serán incubados a la temperatura de incubación. En este instante, las bacterias encargadas de la fermentación consumirán el azúcar contenido dentro de la leche, metabolizarán la lactosa y lo convertirán en ácido láctico (Ezkauriatza, 2008)

#### 1.4.2.7. Mezclado

Una vez que los tanques fermentadores cumplen su Tiempo de operación, la siguiente etapa de procesamiento consiste en el ingreso de jaleas y frutas que dan las características del producto deseado. Finalmente, el proceso es envasado y refrigerado hasta su distribución (Balcázar, 2011).

#### 1.4.3. Generalidades de la fermentación

Se define como fermentación a los procesos metabólicos que se llevan a cabo mediante bacterias sobre compuestos orgánicos, transformando azúcares en compuestos más simples, así como etanol, ácido láctico, ácido butírico, etc (Quintero, 2010). Existen diversos tipos de fermentaciones basados en el tipo de bacteria, el compuesto azucarado y las condiciones definidas en el proceso (Olivarez, 2011). Las industrias enfocadas en la producción de etanol y bióxido de Carbono empleando levadoras expuestas a oxigenación para obtener ATP a fin de que se lleve a cabo la producción utilizan fermentación alcohólica como centro de su industria.

La fermentación butírica o butanoica, emplea como sustrato, polisacáridos, tales como almidones, pectinas, proteínas, etc.; Mediante esto, son capaces de obtener compuestos butíricos y fórmicos; su fermentación se lleva a cabo mediante bacterias de la categoría de Clostridium en ambientes aeróbicos (Betancourt, 2010) .

#### 1.4.4. Fermentación láctica

En caso de la producción de ácido láctico, se emplean bacterias lactobacillus y enterobacter. En el proceso de fermentación láctica, el piruvato producido en el glicólisis se transforma en ácido láctico. Dependiendo de la cantidad de productos obtenidos en la fermentación láctica se clasifican en fermentación homoláctica y heteroláctica para la producción de uno solo o varios componentes además del ácido láctico (Beltrán, 2010).

Para que se lleve a cabo la fermentación de cualquier producto, se requieren las bacterias encargadas del proceso metabólico, denominadas como biomasas. Otro agente importante es la materia prima que se define como sustrato; el cual es la fuente que contiene los sacáridos que serán consumidas para el ciclo fermentativo; Finalmente, el producto, cuyo compuesto orgánico es la estructura final del proceso tras la operación. El comportamiento fermentativo tiene una relación con el ciclo de crecimiento microbiológico, el tipo de reactor empleado, pH y temperatura (Científica, 2012).

#### 1.4.5. Ciclo de crecimiento microbiano

Los sistemas biológicos definen su crecimiento basado en el sustrato presente en el medio donde se lleve a cabo. Las fases que definen el crecimiento microbiano y por consiguiente la generación de producto en un proceso fermentativo se lleva dado por fases de retraso, exponencial, desaceleración, estacionaria y decaimiento (Gavin, 2020).

#### 1.4.5.1. Fase de latencia o retraso

En esta etapa, las células sintetizan las enzimas necesarias para que inicien la actividad metabólica. Estas se adaptan al medio de cultivo que lo rodea y se alistan para hacer uso de los nutrientes que el entorno dispone. En esta fase, el consumo de sustrato y generación de producto es escaso debido a la aparente inactividad de la biomasa (Zalduegui, 2001).

## 1.4.5.2. Fase exponencial

Una vez que las bacterias se han adaptado a las características del cultivo, la velocidad de crecimiento incrementa. Se consume con mayor rapidez el sustrato y es donde ocurre la mayor cantidad de producto generado. La rapidez del crecimiento exponencial varía por los factores ambientales como la temperatura y pH (Zalduegui, 2001).

#### 1.4.5.3. Fase desaceleración

En esta etapa, el cambio de pH causado por el producto generado en la fase anterior ocasiona que las características del ambiente de cultivo no sean óptimas para continuar con un crecimiento exponencial. De esta manera, la tasa de crecimiento microbiano disminuye gradualmente y por consecuencia la rapidez de generación de producto. (Zalduegui, 2001).

#### 1.4.5.4. Fase de estacionaria

Cuando el medio de cultivo ya no es favorable para la reproducción bacteriana, los componentes de sustrato, biomasa y producto se mantienen constante; en este caso, se puede generar una resistencia y una reacción paralela en donde las bacterias se fagociten entre sí (Zalduegui, 2001).

#### 1.4.5.5. Fase de muerte

Después de una exposición prolongada a las condiciones de cultivo, el número de células vivas empieza a verse afectada por la falta de nutrientes para su producción y empiezan a decaer. En este instante, la pendiente del crecimiento bacteriano se vuelve negativa, no hay formación de producto y el consumo de sustrato es nulo. (Zalduegui, 2001).

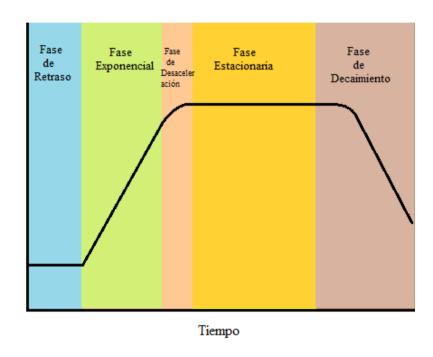


Figura 1.1 Perfil del ciclo fermentativo de la Biomasa a través del Tiempo.

#### 1.4.6. Acidez y temperatura del medio de fermentación

La acidez y temperatura son factores importantes para la fermentación pues afecta en el crecimiento bacteriano. La mayoría de los microorganismos que se encargan de la fermentación son bacterias mesófilas cuyas temperaturas pertenecen entre rangos de 5 a 45°C con valores óptimos en rangos de 25 a 43°C. La composición microbiana no permite que ocurra activación, reproducción ni fermentación en temperaturas bajas. Mientras que, la acidez del medio es un factor crucial para la cinética de las bacterias (Malavé, 1998).

### 1.4.7. Ley de la conservación de la materia

El perfil de Concentraciones de las variables de biomasa, sustrato y producto son construidos empleando como ecuación la conservación de materia y empleando las características de flujo de entrada y salida del reactor empleado en el proceso. Esta ley estipula:

"En un sistema aislado, durante toda reacción química ordinaria, la masa total en el sistema permanece constante, es decir, la masa consumida de los reactivos es igual a la masa de los productos obtenidos. (Morcillo, 1989)"

Los respectivos cambios en el proceso en la estructura del número de moles de los componentes del proceso son consecuencia de la velocidad de reacción que se lleva a cabo.

$$\begin{bmatrix} Entrada \\ del \\ Componente \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} Generación \\ Neta \ del \\ Componente \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} Salida \\ del \\ Componente \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} Acumulación \\ del \\ Componente \end{bmatrix} \quad (Eq. 1.1)$$

#### 1.4.8. Modelos cinéticos

El cambio de número de moles a través del Tiempo puede ser expresado de forma matemática a partir de ajustes de parámetros. Estos ajustes se llevan a cabo mediante la recopilación de datos experimentales. Entre los diversos modelos para expresar cada variable (Sánchez, 1994).

Tabla 1.2 Modelos matemáticos de diversas variables (Urstale Sánchez, 2004)

Variables	Modelos	Nombre de la Ecuación
	$\frac{dX}{dt} = X\mu_{max} * \frac{S}{K_s + S}$	Ecuación de Monod
Biomasa	$\frac{dX}{dt} = X(\mu_{max} - hP)$	Ecuación de Luedekin y Piret
	$\frac{dX}{dt} = X_0 * (1 - \frac{X}{X_{max}})X$	Modelo Logístico
	$\frac{dX}{dt} = X\mu_{max} * \frac{1}{1 + \frac{C * e^{dt}}{\mu_s - C}}$	Ecuación de Amrane y Prigent
Producto	$\frac{dP}{dt} = A * \frac{dX}{dt}$	Ecuación de Producción y sencilla
	$\frac{dP}{dt} = A * \frac{dX}{dt} + BX$	Ecuación de Luedekin y Piret
	$\frac{dP}{dt} = K_p * S * X$	Ecuación de Hansoni y Tsao
	$\frac{dP}{dt} = P_0 * (1 - \frac{P}{Pmax})P$	Modelo Logístico
Sustrato	$\frac{dS}{dt} = \mu * \frac{X}{Y} = qX$	Ecuación de Monod
	$\frac{dS}{dt} = K_s * S * X$	Ecuación de Hanson y Tsao
	$\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y'} \left( \frac{dX}{dt} + \frac{dP}{dt} \right)$	Ecuación de Yeh y col
	$\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y'} \left( \frac{dX}{dt} + \frac{dP}{dt} \right) + mX$	Ecuación de Aborhen y Williamson

## 1.4.9. Ajuste de Parámetros

La estimación de parámetros en modelos descritos por sistemas de ecuaciones diferenciales ordinarias ha ganado gran atención en el mundo de la investigación desde los inicios de la década de los sesenta, ya que este tipo de problemas se presenta en la mayoría de los campos de la ingeniería química. (Rosenbrock y Storey,1966)

La identificación de parámetros posee diferentes metodologías de determinación como los son: método de Newton, Gauss y Levenberg-Marquardt; los métodos mencionados calculan los parámetros minimizando el error cuadrático entre los puntos experimentales y los puntos prescritos por un modelo matemático.

## 1.4.10. Control de procesos

El enfoque principal de los controladores es de mantener un valor de operación o set point ya que las variables del proceso que pueden perturbarse con el transcurso del Tiempo. Los valores que pueden perturbarse en un proceso fermentativo pueden ser: Temperatura, acidez, presión y flujo. Los controladores son beneficiosos en las automatizaciones de los procesos pues no requieren de la intervención de los operadores. Para que esto se lleve a cabo, se debe plantear una propuesta de diseño de control. Los componentes básicos que debe tener un proceso incluyen un sensor, transmisor, controlador y una válvula (Ignatova, pH control during continuous prefermentaration fo yogur, 2009).

#### 1.4.10.1. Sensor y transmisor

Los sensores producen un fenómeno mecánico o eléctrico cuya característica permite medir la variable del proceso. A continuación, la señal que es medida por el sensor se convierte mediante un transmisor, el cual permite transmitir el mensaje hacia el controlador (Beltrán, 2010).

La función de transferencia de un sensor – transmisor se representa de la siguiente forma:

$$H(S) = \frac{K_T}{\tau_T S + 1}$$
 (Eq. 1.2)

#### Donde:

H(S): Función de transferencia Sensor

K<sub>T</sub>: Ganancia del Transmisor

 $\tau_T$ : Tiempo de respuesta del Transmisor

#### 1.4.10.2. Controladores

Se encargan de comparar la señal recibida por el sensor con los valores deseados; representa el cerebro del circuito de control. Una vez que compara los valores medidos con los deseados, genera una decisión basada en el enfoque de mantener un margen mínimo de error entre los valores medidos y teórico (Beltrán, 2010).

$$G_c(S) = \frac{M(S)}{E(S)}$$
 (Eq. 1.3)

Donde

 $G_c(S)$ : Función de Transferencia del controlador

M(S): Función de Transferencia del medidor (Error)

E(S): Función de Transferencia del medidor (Teórico)

Los distintos tipos de controladores empleados son:

Tabla 1.3 Tipos de controladores, parámetros para su implementación, funciones de transferencia (Corripio, 2015)

Nombre del Controlador	Parámetros necesarios	Función de Transferencia G <sub>c</sub> (S)
Proporcional (P)	$K_c$ : Ganancia	$K_{c}$
Proporcional Integral (PI)	K <sub>c</sub> : Ganancia τ <sub>I</sub> : Tiempo de integración	$K_c * \left(1 + \frac{1}{\tau_I * S}\right)$
Proporcional – Integral – Derivativo (PID)	K <sub>c</sub> : Ganancia τ <sub>I</sub> : Tiempo de integración τ <sub>D</sub> : Tiempo de derivación	$K_{c} * \left(1 + \frac{1}{\tau_{I} * S} + \tau_{D}S\right)$

## 1.4.10.3. Válvulas de control

Representan la acción mecánica de la decisión efectuada por el controlador al tomar una decisión. Este componente maneja los flujos de entrada, o las características necesarias para mantener el control del proceso (Malavé, 1998).

Los sistemas de control se pueden representar por bloques; cuando un sistema genera un reciclo a fin de mantener un control constante durante todo el proceso se denominan controladores de lazo cerrado.

# **CAPÍTULO 2**

# 2. METODOLOGÍA

El presente capitulo se describe los pasos necesarios con la finalidad de poder simular, modelar y proponer un diseño de controladores para un proceso de fermentación láctica por lotes de una empresa productora de derivados lácteos. En la Figura 2.1 se muestra todas las etapas principales y secundarias en las que se basó la metodología.

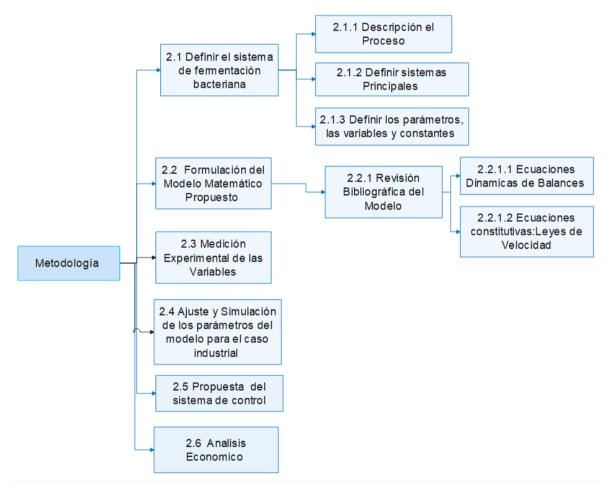


Figura 2.1 Diagrama de flujo de metodología para la simulación, modelado y propuesta de diseño de controladores

#### 2.1. Definir el sistema de fermentación bacteriana

## 2.1.1. Descripción del proceso

Para describir el proceso se realizó una visita técnica dentro de la planta en donde se desarrolla la operación de fermentación láctica. Se seleccionaron las corrientes de proceso: las líneas de alimentación, salida, utilidades, y las sustancias que pasan a través de estas.

Posteriormente, se identificó el tipo de biorreactor involucrado en la fermentación y realizo un diagrama procesos.

### 2.1.2. Definición del sistema principal

La definición del sistema principal a simular y modelar se realizó con base a la descripción del proceso. Para esto se hicieron las siguientes consideraciones: Indagar si el equipo principal posee separaciones físicas tales como revestimientos, membranas que puedan ocasionar diferentes tipos de reacciones químicas dentro de este.

Identificar si existen diferentes fases en el equipo de proceso, no solo si hay fases de estado como sólido, liquido o gaseoso, más bien, si la fermentación láctica que ocurre dentro del equipo posee condiciones de operación para cada fase de crecimiento bacteriano.

Determinar los sistemas pueden ser modelados y simulados de acuerdo con los datos que se pueden obtener del equipo principal.

Finalmente, se delimitaron las fronteras del sistema para aplicar las leyes de conservación que proporcionaron el modelo.

### 2.1.3. Definir los parámetros, las variables y constantes

Para seleccionar este tipo de data se debió tener en cuenta las diferentes salidas y entradas, así como las perturbaciones que afectan al proceso de fermentación láctica.

Se determinaron los parámetros importantes para el modelo con base a una revisión bibliográfica relacionada con el proceso.

## 2.2. Formulación del modelo matemático propuesto

#### 2.2.1. Revisión bibliográfica del modelo

La revisión bibliográfica contó con una investigación exhaustiva acerca de los diferentes modelos matemáticos que pueden representar la fermentación láctica. Se seleccionó el modelo matemático de acuerdo con las características específicas del caso industrial para la elaboración de yogur.

#### 2.2.1.1. Ecuaciones Dinámicas de Balances

Las ecuaciones dinámicas de balances se plantearon aplicando la ley de conservación a la propiedad de interés sobre el sistema definido. Para esto se hicieron las consideraciones siguientes:

- Para un balance total de la propiedad, se tuvo en cuenta la existencia de su acumulación significativa en el sistema. También se consideró reformular esta propiedad en términos de las variables del proceso.
- Para los balances de la propiedad por componentes, se consideró el cambio en función del Tiempo de la variable que tiene en cuenta la cantidad presente del componente en el sistema.

## 2.2.1.2. Ecuaciones constitutivas: Leyes de Velocidad

Las ecuaciones constitutivas para el modelo matemático, específicamente las leyes de velocidad se tomaron de las referencias bibliográficas especializadas en cinética de fermentación láctica.

#### 2.3. Medición experimental de las variables

#### 2.3.1 Biomasa

Se procedió a determinar la concentración de biomasa mediante la evaporación de los componentes volátiles a fin de mantener los sólidos totales en la base del recipiente (Ver Anexo 1, 2 y 3). Se pesó la masa remanente y se fijó un volumen determinado del analito para los cálculos respectivos (Inés, 1948).

#### 2.3.2 Sustrato

Se determinó la concentración de lactosa de una muestra mediante la reducción de azúcares presente en la muestra convirtiendo estos compuestos orgánicos en aldehídos, los cuales fueron titulados empleando reactivos Fehling (Soulavy, 1982).

### 2.3.2.1 Preparación de la muestra

La muestra se preparó separando la presencia de fosfatos, proteínas y otros componentes orgánicos empleando la aplicación de un medio ácido que activen los ligandos nitrogenados, su neutralización y precipitación. Para esto se tomó una muestra de 5g en un recipiente de la muestra en un recipiente de 250 ml. Posteriormente, se diluyó hasta un volumen de 100 ml usando agua destilada para disminuir la turbidez del sistema y se aumentó la temperatura del sistema hasta 40°C a fin de mantener la suspensión de forma homogénea (Ver Anexo 4). A continuación, se activaron los ligandos nitrogenados mediante la adición de 5ml de ácido fosfórico (Ver Anexo 5) y para su neutralización se agregaron gotas de fenolftaleína para validar la neutralización del sistema. Se empleó Hidróxido de Bario al 50% (Ver Anexo 6) hasta que el punto de viraje sea rosa y se vertieron de 2 a 3 gotas del ácido para estabilizar el pH y favorecer la precipitación. Finalmente, se agitó y se dejó reposar durante 5 minutos para finalmente precipitar la fase acuosa y desechar la fase orgánica (Ver Anexo 7).

#### 2.3.2.2 Reducción de Lactosa

En un vaso de precipitación de 600 ml se transfirió 25 ml de Solución Fehling A, 25 ml de Solución Fehling B y 50 ml de agua destilada (Ver Anexo 8). Esta mezcla se calentó hasta la ebullición con la cubierta tapada con un vidrio reloj para evitar pérdidas de los componentes Fehling (Ver Anexo 9). Al comenzar la ebullición, se agregaron 25 ml de la muestra líquida que contiene lactosa y se graduó el calentamiento de la plancha a fin de que el sistema entre en ebullición pasado 1 minuto y medio. Una vez que el sistema empezó a burbujear, se mantuvo durante 6 minutos el sistema en calor controlado para que ocurra la reducción de azúcares en sistemas de óxido cuproso (Ver Anexo 10). Se separó mediante filtración el óxido cuproso y se lavó el sistema con ácido nítrico al 50% v/v (Ver Anexo 11). Se procedió a una segunda filtración a fin de verificar la completa eliminación de trazas de óxido de cobre en el fondo del matraz. A continuación, se calentó el sistema hasta la ebullición y agregó 1.5g de Urea a fin de eliminar trazas de nitratos sobrenadantes en el medio que sean interferentes para la titulación.

#### 2.3.2.3 Titulación

Los azúcares reducidos por la formación de óxido cuproso fueron titulados empleando como solución titulante Tiosulfato de Sodio 0.1N (Ver Anexo 12). El punto de viraje del sistema y la coloración fue dado por los enlaces cuprosos dentro de la mezcla.

Se determinó los miligramos de óxido cuproso, mediante la siguiente expresión:

$$mg Cu_2O = 7.154 * V_S * f$$
 (Eq. 2.1)

Donde:

mg Cu<sub>2</sub>O: Miligramos de Óxido de Cobre

 $V_s$ : Volumen de la solución

f: Factor de corrección

Al obtener los miligramos de óxido cuproso, se empleó la Tabla. para determinar la equivalencia lactosa mono-hidratada correspondiente

$$S = \frac{P_1 * V_{s1} * 100}{V_1 * P_s * 1000}$$
 (Eq. 2.2)

S: Concentración de Sustrato en una muestra (g/ml)

 $P_1$ : Peso de la Muestra obtenida en Anexo (g)

 $V_{s1}$ : Volumen de la disolución (ml)

P<sub>s</sub>: Peso de la muestra obtenida inicialmente (g)

#### 2.3.3 Producto

Se determinó la concentración de ácido láctico de una muestra mediante la acidez titulable presente en una muestra de yogur (ICAITI, 1969).

### 2.3.3.1 Preparación de la muestra

La muestra se la llevo a una temperatura aproximada de 20°C para poder homogenizarla mediante agitación suave evitando que haya separación de grasa por efecto de la agitación.

#### 2.3.3.2 Titulación

Se inició pesando 20g de la muestra a analizar dentro del Matraz Erlenmeyer previamente calibrado, luego se diluyó con agua destilada la muestra con el doble de volumen ocupado por el analito.

Para la indicación del cambio de viraje se vierte 2 ml de Fenolftaleína dentro del Matraz y se agita hasta homogenizar (Ver Anexo 13). Para la titulación se empleó como titulante una solución de Hidróxido de Sodio 0.1 N (Ver Anexo 14) hasta que la muestra cambie de color a rosa y este se mantenga durante 30 segundos, luego se procedió a anotar la cantidad de volumen ocupado para su neutralización y con este valor determinar la concentración de ácido láctico medite la siguiente ecuación (Ver Anexo 15 y 16).

$$P = \frac{0.09 * (V * N)}{(m - mi) * 100}$$
(Eq. 2.3)

Donde:

P: Concentración de Ácido Láctico (g/ml).

V: Volumen (ml).

N: Concentración del titulante valorado. (N).

m: Masa de la solución posterior a la titulación (g).

mi: Masa de la muestra inicial antes de la titulación(g).

Para la determinación del pH se utilizó un pH metro, para el cual dado un Tiempo se tomó una muestra del fermentador para poder así determinar el cambio de la acidez a través del Tiempo

## 2.4 Ajuste y Simulación de parámetros del modelo a los datos experimentales

El ajuste de los parámetros del modelo matemático se llevó a cabo siguiendo una metodología basada en la estimación de parámetros en ecuaciones diferenciales (Edsberg, 1974). Considerando que se tiene la respuesta del modelo matemático dado por un vector que contiene a todas las variables de estado del sistema dependiendo del Tiempo t y del vector de parámetros  $\theta$ ,  $u_{model}(t;\theta)$ , y que también se tiene el vector de las mediciones experimentales correspondiente, a las mismas variables de estado en un conjunto infinito de Tiempos de muestreo  $\{t_i\}$  (en horas),  $u_{exp,i}$ ; entonces, la metodología consiste en minimizar en cada Tiempo de muestreo  $t_i$  el error cuadrático

$$E(\theta) = \frac{1}{2} \sum_{i} ||u_{exp,i} - u_{model}(t;\theta)||^{2}$$
 (Eq. 2.4)

sujeto a que cada componente del vector de parámetros  $\theta$  sea un número real estrictamente positivo. Este problema de minimización se resuelve bajo el enfoque de problemas de optimización

dinámica empleando el algoritmo de Levenberg-Marquardt (Bellavia, 2018)

De manera general el algoritmo de esta metodología sería el siguiente:

Paso 1: Construir el vector de valores iniciales de las variables de estado,  $u_0$ , empleando las mediciones experimentales correspondientes al Tiempo de muestreo inicial  $t_0=0$  horas.

Paso 2: Elegir las componentes del vector de parámetros heta con valores estrictamente positivos

Paso 3: Resolver numéricamente el modelo matemático usando como datos el vector de parámetros elegidos y el vector de valores iniciales de variables de estados, para obtener en cada Tiempo de muestreo  $t_i$  el vector  $u_{model}(t_i; \theta)$ , de manera aproximada.

Paso 4: Emplear el algoritmo de Levenberg-Marquardt con la expresión del error cuadrático (1) y una tolerancia dada  $\varepsilon > 0$  suficientemente pequeña.

- Si la tolerancia se satisface entonces el error cuadrático se minimiza y se toma como estimación de los parámetros las componentes del vector  $\theta$  elegido.
- Si la tolerancia no se satisface el error cuadrático no se ha minimizado y entonces se debe repetir el algoritmo desde el paso 2.

Cuando el algoritmo se ejecuta por primera vez, las componentes del vector de parámetros son elegidas por el usuario tomando valores reportados en la literatura especializada sobre estudios cinéticos de fermentación láctica a nivel industrial. Posteriormente el algoritmo de Levenberg-Marquardt, en caso de que no se satisfaga la tolerancia dada, actualiza de manera automática el vector de parámetros con base a la restricción de que sus componentes son valores reales estrictamente positivos. (Butcher, 2008)

#### 2.5 Propuesta del sistema de control

Para la propuesta de un sistema de control se siguieron los siguientes pasos:

Identificar las variables que se pueden medir con un sensor. Seguidamente se determinaron las variables de entrada y salida involucradas en el proceso. Posteriormente se realizó un análisis del sistema a controlar para poder hallar la función de transferencia de la planta (Morilla, 2007).

Se construyó el diagrama de bloques en el ambiente de programación de simulink, para las funciones de transferencia donde se obtuvo la respuesta ante la variable de una función escalón.

Con la función de transferencia se obtuvieron los parámetros de un controlador PID. Se sintonizó este controlador para obtener respuestas ante perturbaciones (Smith, 2004).

#### 2.6 Estimación de costos.

Todos los análisis fueron ejecutados bajo un periodo de 2 meses atribuyendo revisiones en cada reactor durante un Tiempo de 2 semanas.

#### 2.6.1 Costos por experimentación

Para la recopilación de datos se cotizaron los materiales y reactivos necesarios para la determinación de concentración de todas las variables necesarias.

## 2.6.2 Costos para ajuste de parámetro

Para el ajuste de parámetros y la propuesta de estrategia de control se estimó el costo de licencia de software. Finalmente, para la implementación física de los controladores se cotizaron los instrumentos necesarios para automatizar el fermentador.

#### 2.6.3 Indicador de Sostenibilidad del proyecto

Una vez calculado la inversión inicial, se determinó mediante los ingresos y egresos de la industria el flujo de caja neto del proceso, considerando una tasa de porcentaje anual de descuento ofrecido por los valores estadísticos para el área productivo establecido por PYMES y se determinó el valor actual neto de la inversión en un periodo de 5 años de proyecto mediante la ecuación 2.5 (Uzcátegui, 2018).

$$VAN = -I_0 + \sum_{t=1}^{n} \frac{F_t}{(1+i)^n}$$
 (Eq. 2.5)

$$TIR = \sum_{T=0}^{n} \frac{F_n}{(1+i)^n} = 0$$
 (Eq. 2.6)

Donde:

I<sub>0</sub>: Inversión inicial

 $F_t$ : Flujo neto de cajas

i: Tasa de descuento del inversionista

n: Horizonte de evaluación.

Determinado el valor actual neto, se calculó la Tasa interna de retorno mediante la ecuación 2.6 considerando y comparando la tasa de descuento anual. En el caso de que el valor obtenido sea superior a la tasa se podrá inferir la rentabilidad del proyecto (Uzcátegui, 2018).

## **CAPÍTULO 3**

## 3 RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 3.1. Descripción del proceso

La leche proveniente de un tratamiento de descremación y pasteurización es procesada para obtener yogur por medio de una fermentación láctica con cultivo ABY3, el cual contiene: Lactobacillus helveticus y streptococcus termophilus.

La fermentación se lleva a cabo en un biorreactor por lotes cilíndrico de acero inoxidable, cerrado y enchaquetado, que se agita mediante una turbina. Este equipo opera isotérmicamente a una temperatura de 43 °C.

Las corrientes de entrada y salida del equipo principal corresponden a Leche pasteurizada ácido láctico, respectivamente.

#### 3.2. Definición de los procesos principales

El sistema para modelar y simular está conformado por la mezcla reaccionante en el biorreactor, e involucra las reacciones de: crecimiento bacteriano con sus 5 etapas, consumo de lactosa y generación de ácido láctico (Abdeltif, 2005).

## 3.3. Identificación de variables, parámetros y constantes

Las variables del proceso de fermentación láctica son: concentración de biomasa, concentración de sustrato, concentración de producto y pH. Autores certifican la importancia de estas magnitudes para llevar a cabo la simulación de un reactor discontinuo e isotérmico (Abdeltif, 2005).

## 3.4. Formulación del modelo matemático propuesto

#### 3.4.1. Ecuaciones Dinámicas: Balances

Las ecuaciones dinámicas de balance estuvieron referidas a la cantidad de materia en el sistema según la biorreacción

$$Sustrato + Biomasa \rightarrow Producto$$
, (Eq. 3.1)

$$\frac{dX}{dt} = R_X(X, S, P, pH, t)$$
 (Eq. 3.2)

$$\frac{dS}{dt} = R_S(X, S, P, pH, t) \tag{Eq. 3.3}$$

$$\frac{dP}{dt} = R_P(X, S, P, pH, t) \tag{Eq. 3.4}$$

Donde:

X: Concentración de biomasa  $(g/dm^3)$ 

S: Concentración de sustrato  $(g/dm^3)$ 

P: Concentración de producto  $(g/dm^3)$ 

t: Tiempo de operación (h)

 $R_i(X, S, P)$ : Ley de velocidad en función de la biomasa, sustrato y producto

La ecuación detalla la dependencia de biomasa, sustrato y producto para un biorreactor de lotes mediante los respectivos balances de materia para la concentración de cada especie de manera similar al modelo reportado en las ecuaciones 3.2,3.3 y 3.4.

#### 3.4.2. Ecuaciones Dinámicas pH

El modelo de pH se obtuvo considerando la relación proporcional que hay en el sustrato durante la operación (Ignatova, pH Control during continous fermentation of yogurt starter culture by strains Streptococcus Thermophilus 13A and Lactobacillus Bulgaricus 2 - 11, 2009).

$$\frac{dpH}{dt} = R_{pH} = \frac{1}{k_{pH}} * \frac{dS}{dt}$$
 (Eq. 3.5)

en donde

$$k_{pH} = \frac{pH(t)}{S(t)} \tag{Eq. 3.6}$$

En donde  $k_{pH}$  es la relación entre el pH y la concentración de sustrato en un Tiempo determinado.

## 3.4.3. Ecuaciones constitutivas: Leyes de Velocidad

Las leyes de velocidad  $(R_x, R_S, R_{P}, R_{pH})$  para la biomasa, sustrato, producto y pH respectivamente, se tienen de acuerdo con las 4 fases de fermentación.

#### Fase de retraso:

Dado el primer intervalo de Tiempo  $[0, t_1]$ . El comportamiento de la biomasa se mantiene constante debido a que la biomasa se adapta al medio de cultivo. Mientras que, el producto es realizado en dependencia del rendimiento de la relación de sustrato según describe (Abdeltif, 2005).

$$R_r(t) = 0; \forall t \in (0, t1]$$
 (Eq. 3.7)

$$R_P(t) = B * X_0 * (1 - \frac{S_{res} * Y_{P/S}}{S_0 * Y_{P/S} + P_0 - P(t)}); \forall t \in (0, t1]$$
 (Eq. 3.8)

$$R_{S}(t) = \frac{-(B * X_{0} * (1 - \frac{S_{res} * Y_{P/S}}{S_{0} * Y_{P/S} + P_{0} - P(t)}))}{Y_{P/S}}; \forall t \in (0, t1]$$
 (Eq. 3.9)

$$R_{pH}(t) = \frac{-(B*X_0*(1 - \frac{S_{res}*Y_{P/S}}{S_0*Y_{P/S} + P_0 - P(t)}))}{Y_{P/S}*k_{pH}}; \forall t \in (0, t1]$$
 (Eq. 3.10)

Donde:

B: Coeficiente de decrecimiento asociado a la generación de producto  $(h^{-1})$ 

 $S_{res}$ : Concentración de sustrato remanente posterior al proceso  $(g/dm^3)$ 

 $Y_{P/S}$ : Rendimiento asociado entre producto - sustrato

Fase Exponencial:

El comportamiento exponencial es modelado mediante las relaciones de Monod para el perfil de biomasa y la generación de producto según como lo reportan Ludecking y Pyrot en (Abdeltif, 2005). El proceso exponencial se lleva a cabo en el intervalo de  $[t_1, t_2]$  y finaliza cuando  $t > t_2$ :

$$R_x(t) = X(t) * \mu_{max}; \ \forall t \in [t_1, t_2]$$
 (Eq. 3.11)

$$R_{P}(t) = X(t) * \left(A * \mu_{max} + B\left(1 - \frac{S_{res} * Y_{P/S}}{S_{0} * Y_{X/S} + X_{0} - X(t)}\right)\right); \forall t \in [t_{1}, t_{2}]$$
 (Eq. 3.12)

$$R_{S}(t) = \frac{-(X(t) * \mu_{max})}{Y_{X/S}}; \forall t \in [t_{1}, t_{2}]$$
 (Eq. 3.13)

$$R_{pH}(t) = \frac{-(X(t) * \mu_{max})}{Y_{X/S} * k_{pH}}; \forall t \in [t_1, t_2]$$
 (Eq. 3.14)

Donde:

 $\mu_{max}$ : Tasa máxima de crecimiento bacteriano específico  $(h^{-1})$ 

A: Coeficiente de crecimiento asociado a la generación de producto

#### Fase Desaceleración:

La ley de velocidad para la fase de desaceleración depende de la cantidad de biomasa máxima que se produce en todo el proceso obtenido de forma experimental, (Abdeltif, 2005). El proceso de desaceleración se lleva a cabo en el intervalo de  $[t_2, t_3]$  y finaliza cuando  $t > t_3$ 

$$R_X(t) = X(t) * \mu_{max} * (1 - \frac{X(t) - X_d}{X_{max} - X_d}); \forall t \in [t_2, t_3]$$
 (Eq. 3.15)

$$R_{P}(t) = X(t) \left( A * \mu_{max} * (1 - \frac{X_{max} - X(t)}{X_{max} - X_{d}}) + B \left( 1 - \frac{S_{res} * Y_{P/S}}{S_{0} * Y_{X/S} + X_{0} - X(t)} \right) \right); \forall t \qquad (Eq. 3.16)$$

$$R_{S}(t) = \frac{-(X(t) * \mu_{max} * (1 - \frac{X(t) - X_{d}}{X_{max} - X_{d}}))}{Y_{X/S}}; \forall t \in [t_{2}, t_{3}]$$
 (Eq. 3.17)

$$R_{pH}(t) = \frac{-(X(t) * \mu_{max} * (1 - \frac{X(t) - X_d}{X_{max} - X_d}))}{Y_{X/S} * k_{pH}}; \forall t \in [t_2, t_3]$$
 (Eq. 3.18)

#### Donde:

 $X_d$ : Concentración de biomasa al inicio de la fase desacelerativa  $(g/dm^3)$ 

 $X_{max}$ : Concentración de biomasa $(g/dm^3)$ 

 $Y_{X/S}$ : Rendimiento asociado entre biomasa - sustrato

#### Fase de Estacionaria:

En esta fase, los microorganismos del sistema se han consumido y saturado. El medio de cultivo ya no representa un hábitat apto para su vivencia por lo ocurre la muerte celular (Abdeltif, 2005). Esta fase se lleva a cabo en el intervalo de  $[t_3, t_4]$  y finaliza cuando  $t > t_4$ .

$$R_X(t) = 0; \forall t \in (t_3, t_4]$$
 (Eq. 3.19)

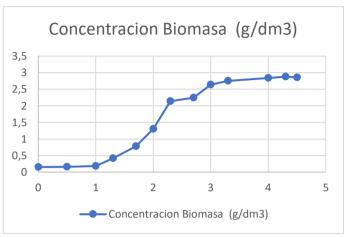
$$R_{P}(t) = B * X_{max} * \left(1 - \frac{S_{res} * Y_{\frac{P}{S}}}{S_{0} * Y_{\frac{P}{S}} + P_{0} - P(t)}\right); \forall t \in (t_{3}, t_{4}]$$
 (Eq. 3.20)

(Eq. 3.21)

$$R_S(t) = 0; \forall t \in (t_3, t_4]$$
 (Eq. 3.22)

$$R_{pH}(t) = 0; \forall t \in (t_3, t_4]$$

#### 3.5. Análisis de resultados de los datos experimentales.



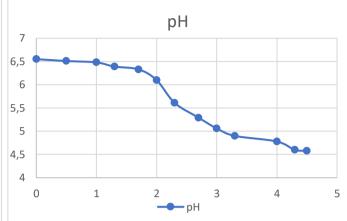


Fig 3.1.a) Perfil de Concentración de Biomasa

Fig 3.1.b) Perfil de pH



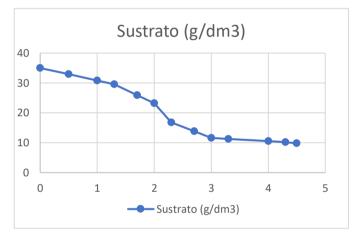


Fig 3.1.c) Perfil de Concentración de Producto

Fig 3.1.d) Perfil de Concentración de Sustrato

Figura 3.1 Perfil dinámico experimental de las variables de estado

La figura 3.1 muestra el perfil de Concentraciones de biomasa, sustrato, producto y el progreso de pH durante el proceso. En las gráficas se pueden observar como las curvas obedecen al comportamiento del ciclo fermentativo, el cual se detiene cuando el pH del sistema esta alrededor a 4.6. En las gráficas a y c se observa las curvas son crecientes. Esto se debe a la reproducción bacteriana que ocurre durante la metabolización del reactivo a la generación de ácido láctico en el sistema (Hanane, 2009). Mientras que, las gráficas b y d son decrecientes, indicando que el sustrato se consume y la acidez de la mezcla aumenta. (Hanane, 2009)

Tabla 3.1 Perfil de Concentraciones experimentales de Biomasa, Sustrago, Producto y perfil de acidez a través del Tiempo

Tiempo (h)	Biomasa $(g/dm^3)$	Sustrato $(g/dm^3)$	Producto $(g/dm^3)$	рН
0	0.15	35	1.713	6.55
0.5	0.16	32.92	1.800	6.51
1	0.18	30.84	1.891	6.48
1.3	0.42	29.6	2.340	6.39
1.7	0.78	25.94	2.430	6.33
2	1.3	23.2	2.877	6.1
2.3	2.14	16.8	4.054	5.61
2.7	2.24	13.82	5.487	5.29
3	2.64	11.6	6.344	5.06
3.3	2.75	11.27	7.141	4.9
4	2.84	10.52	9.613	4.78
4.3	2.88	10.2	9.920	4.66
4.5	2.86	9.8	9.8	4.58

En la tabla 3.1 se muestran las mediciones obtenidas para cada variable de estado durante el intervalo de Tiempo del proceso.

Durante la primera hora, las magnitudes no varían significativamente. El comportamiento que se reporta en este intervalo de Tiempo es coherente a lo reportado en (Tango, 2006) al indicar que este fenómeno ocurre cuando el proceso se encuentra en una etapa de retraso. Las Concentraciones iniciales medidas de forma experimental de biomasa, sustrato y producto son de 0.15 g/dm3, 35 g/dm3 y 1.713 g/dm3, respectivamente. Estos valores fueron comparados con la ficha técnica de calidad. La concentración reportada en la ficha para cada variable es de 0.1 g/dm3, 33 g/dm3 y 1.3 g/dm3, respectivamente. Estos valores son próximos y en consecuencia se considera que la metodología es adecuada.

La tabla 3.1 muestra un crecimiento apreciable en los valores medidos entre la primera y tercera hora. Este comportamiento indica el cambio de la fase de retraso a la exponencial. A continuación, las mediciones obtenidas están más cercanas entre sí, denotando el inicio de la fase desacelerativa la estacionaria. El Tiempo de operación del fermentado no fue suficiente para describir la etapa de decaimiento.

### 3.6. Ajuste de parámetros

#### 3.6.1. Calibración del modelo.

Los parámetros que se obtienen del ajuste del modelo al caso base, tomado de la referencia (Abdeltif, 2005),se muestran en la Tabla 3.2. En la Tabla 3.3 se muestra el error relativo porcentual entre las variables calculadas por el modelo y los datos experimentales reportados para dichas variables en (Butcher, 2008). El error relativo porcentual más alto fue de 0.13% para la concentración de Biomasa y el pH. Este error es aceptable y por tanto se considera que el modelo reproduce el comportamiento dinámico de las variables de estado del proceso de fermentación, tal y como se muestra en las gráficas a,b,c y d reportadas en la figura 3.2. debido a esto, la metodología para la estimación de parámetros se considera confiable para su aplicación al caso real.

Tabla 3.2 Tabla de Ajuste de parámetros para el caso base - Calibración

Α	В	$Y_{X/S}$	$Y_{P/S}$	$\mu_{max}$	Kd	Sres	Xmax	Xres	$k_{pH}$	
2.3	0.77	0.18	0.82	0.48	0.2	1.2	4	3.5	8.09	Ī

Tabla 3.3 Tabla de error relativo porcentual entre los datos experimentales y los parámetros después del ajuste del caso base – Calibración.

Biomasa	Sustrato	Producto	рН
0.13%	0.00086%	0.0025%	0.13%

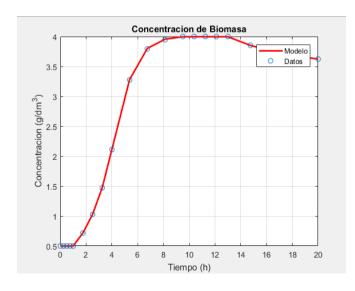


Fig 3.2.a) Ajuste de Parámetros - Biomasa

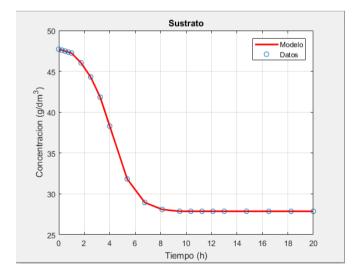
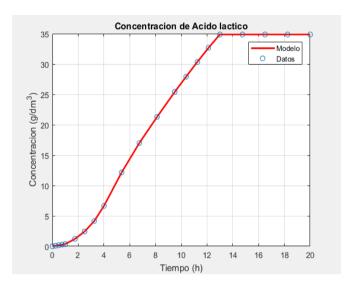


Fig 3.2.b) Ajuste de Parámetros - Sustrato



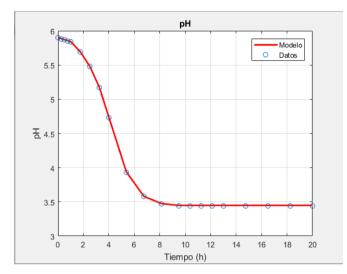


Fig 3.2.c) Ajuste de Parámetros - Producto

Fig 3.2.d) Ajuste de Parámetros - pH

Figura 3.2 Ajuste de parámetros del Caso Base para las variables de Biomasa, Sustrato, Producto y pH.

#### 3.6.2. Caso industrial

Los parámetros del modelo ajustado para el caso industrial se muestran en la Tabla 3.4. En la Tabla 3.5 se muestran los errores entre la aproximación de los parámetros al caso industrial, cuyas variables de estado fueron medidas experimentalmente. El error relativo porcentual para el caso industrial es más alto que para el caso base, en cada una de las variables de estado.

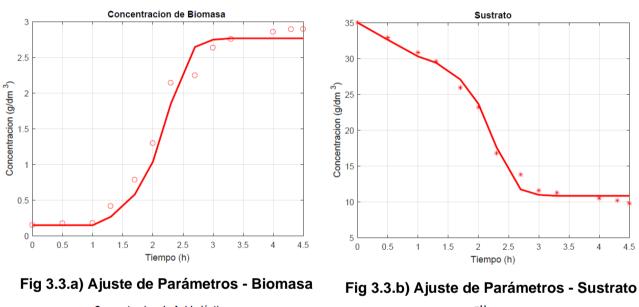
En la referencia (Rosenbrock, 1966) se explica que estas desviaciones mostradas por el error porcentual se deben a dos fuentes significativas: Primero, debido las consideraciones realizadas para plantear el modelo matemático que no toman en cuenta todo el detalle del mecanismo de la reacción en el proceso de fermentación a nivel industrial. Segundo, se debe a los errores sistemáticos cometidos durante la medición de los datos experimentales.

Tabla 3.4 Tabla de Ajuste de parámetros para el Caso Industrial

Α	В	$Y_{P/S}$	$Y_{X/S}$	$\mu_{max}$	Sres	Xmax	$k_{pH}$
0.998	1.054	0.135	0.023	1.93	10.31	2.77	15

Tabla 3.5 Tabla de error relativo porcentual entre los datos experimentales y los parámetros después del ajuste para el Caso Industrial.

Biomasa	Sustrato	Producto	рН
9%	6.6%	3.8%	4.2%



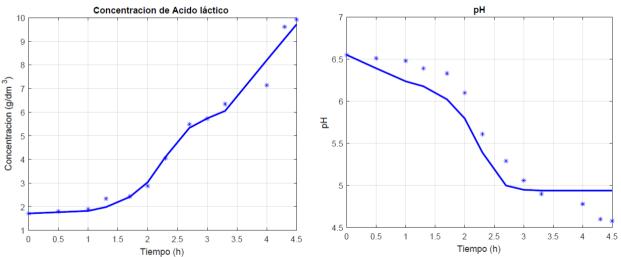


Fig 3.3.c) Ajuste de Parámetros - Producto

Fig 3.3.d) Ajuste de Parámetros - pH

Figura 3.3 Ajuste de parámetros del Caso industrial para las variables de Biomasa, Sustrato, Producto y pH.

En la Figura 3.3 se muestran las gráficas de Biomasa, Sustrato, Producto y pH calculadas en el modelo después de ajustar los parámetros junto con las mediciones experimentales de cada variable de estado. En estas gráficas, se pueden observar como las curvas determinadas por el modelo y el ajuste de parámetros no coinciden en todos los puntos de medición de las variables medidas experimentalmente.

#### 3.7. Diseño de un sistema de control

Para el diseño de un sistema de control se implementó un sensor dentro del biorreactor en la sección inferior para medir el pH durante el proceso de fermentación, ya que está relacionado con la formación de ácido láctico, en partículas la biomasa está conformada por diferentes grupos de bacterias que son sensibles a variaciones de pH (Ezkauriatza, 2008).

En la Figura 3.4 se puede observar el decaimiento del pH simulado por el modelo matemático hasta el valor de 4.92 donde se detiene la operación

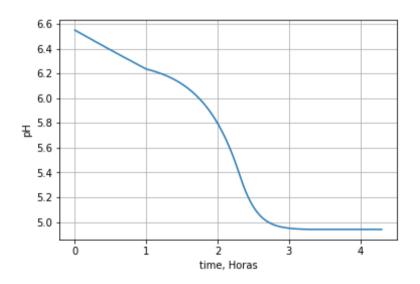


Figura 3.4. Curva de pH a través del Tiempo de proceso.

Una vez instalado el sensor, se colocó un transductor para cambiar la lectura e instalar un PLC. En este equipo, la variable entrada es el voltaje del motor correspondiente a un valor de 220 V, una vez que se alcanza el pH del corte del proceso, se produce un salto tipo escalón, tal como se ve en la Figura 3.5

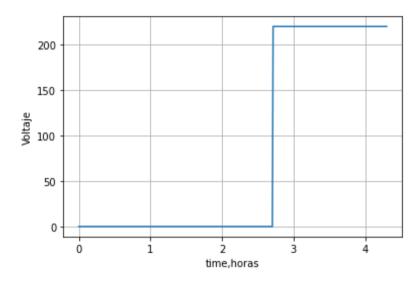


Figura 3.5 Salto escalón de voltaje del motor de corriente directa.

La determinación de la función de transferencia del motor se basó en la Figura 3.6 Donde:

R: Resistencia del motor ( $\Omega$ )

V: Voltaje (V)

Ea: Fuerza electromotriz (FEM)

i: Intensidad de corriente (A)

L: Inductancia de la bobina (H)

Tm: Torque del motor  $(kg * \frac{m}{s^2})$ 

B: Coeficiente de fricción (μ)

*J*: Momento de inercia total  $(m^2 * g)$ 

w: Velocidad angular (rad/s)

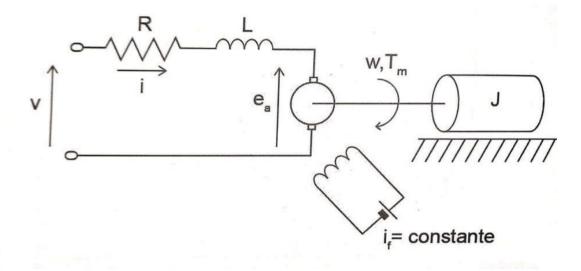


Figura 3.6 Diagrama de sistema de motor a corriente directa.

Obteniendo así las siguientes ecuaciones:

$$L\frac{di(t)}{dt} = v(t) - L\frac{di(t)}{dt} = v(t) - Ri(t) - Ea(t)$$
 (Eq. 3.23)

$$J\frac{dw(t)}{dt} = Tm(t) - Bw(t)$$
 (Eq. 3.24)

$$Ea(t) = Ka * w(t)$$
 (Eq. 3.25)

$$Tm(t) = Km * i(t)$$
 (Eq. 3.26)

$$G_L(s) = \frac{w(s)}{v(s)} = \frac{Km}{LJ * s^2 + (RJ + LB) * s + RB + Km * Ka}$$
 (Eq. 3.27)

$$= \frac{0.412}{0.1367 * s^2 + 0.5927 * s + 1.093}$$
 (Eq. 3.28)

#### Donde:

Km y Ka son relaciones proporcionales

 $G_L(s)$ :La función de transferencia entre la variable en salida y entrada

Estas ecuaciones fueron ingresadas al ambiente de SimuLink mediante un diagrama de bloques, como el que se muestra en la figura 3.7, para determinar cualquier función de transferencia del sistema.

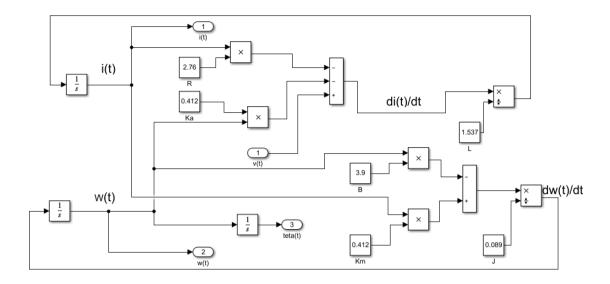


Figura 3.7 Diagrama de funciones de transferencia en el sistema SimuLink

En la Figura 3.8 se realiza una comparación entre las funciones de transferencia que tienen como variable de entrada un impulso escalón de voltaje, pero diferentes variables de salida como: intensidad de corriente, velocidad angular y posición.

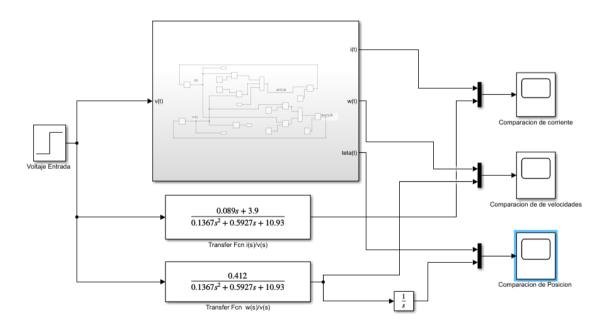


Figura 3.8 Diagrama de bloque, Variable de entrada: Voltaje y Variable de salida: Corriente, velocidad angular y posición de la hélice.

La variable de salida es la velocidad angular del motor, ya que la operación necesita controlar esta variable para precisar la interrupción del proceso. Obteniendo así la siguiente función de transferencia.

$$G(s) = \frac{w(s)}{v(s)} = \frac{0.412}{0.1367s^2 + 0.5927s + 10.93}$$
 (Eq. 3.18)

En la Figura 3.9 se puede apreciar el comportamiento de la función de trasferencia, donde se observa que el valor de estabilidad de la velocidad angular es de 8,30 rad/s, la diferencias entre estas graficas viene dada por el método que se utilizó. Para la gráfica azul se realizaron cálculos matemáticos para hallar la ecuación por este motivo tiene varias fluctuaciones a través del Tiempo y la gráfica amarilla viene dada por el diagrama de bloques que se programó en SimuLink. Esta última proporciona una respuesta lenta, pero sin variaciones.

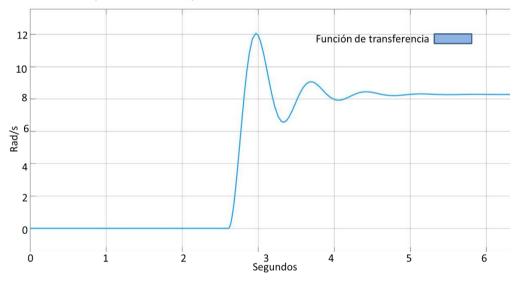


Figura 3.9 Función de transferencia calculada (Azul), Función de transferencia estimada en el sistema SimuLink

Luego de obtener la funcion de transferencia se obtuvieron  $K_P$ ,  $K_I$ ,  $K_D$  los cuales son parámetros proporcionales, integrales y derivativos, respectivamente, de un controlador PID para un caso base mediente el uso de la funcion PIDTuner y la reacion de variables proporcionales.

Los valores de cada parametro fueron:

$$K_P = 13.1268$$

$$K_I = 84.996$$

$$K_D = 0.50683$$

Estos valores ocasionan que el controlador reaccione de forma fluctuante y lenta, como se puede observar en la figura 3.10, por lo que se realizó una sintonización para obtener un controlador más agresivo, obteniendo los siguientes valores para los parámetros:

$$K_{PS} = 13.1268$$

$$K_{Is} = 243.757$$

$$K_{DS} = 2.9507$$

Con estos valores para los parámetros se obtuvo una disminución de la agresividad para ser un controlador más robusto como se puede observar en la grafica 3.10.

Tabla 3.6 Parámetros Sintonizados obtenidos del PID en comparación al proceso base

Parámetros de control					
	Sintonizado	Caso base			
$K_P$	13.1268	13.1268			
$K_I$	243.757	84.996			
$K_D$	2.9507	0.50683			



Figura 3.10. Sintonización del controlador ante las perturbaciones de salida

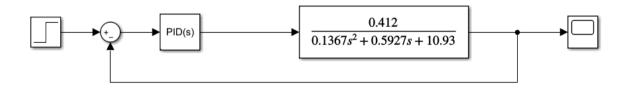


Figura 3.11. Diagrama de bloque del controlador PID

En la figura 3.11 se observa el diagrama de bloques simulado en SimuLink con la función de transferencia previamente calculada donde se obtuvo el comportamiento que se muestra en la figura 3.10, este controlador es más robusto generando menos overshoot y proporciona una respuesta rápida que es lo que se busca en este tipo de proceso.

#### 3.8. Análisis Económico

La Tabla 3.7 muestra el costo de la inversión inicial. El procedimiento más costoso consiste en la metodología para la medición experimental de la concentración de Ácido Láctico.

Tabla 3.7 Resultados de la Inversión Inicial para la recopilación, ajuste e implementación de controladores.

Inversión inicial		
Licencia de programa - Mathwork Perpetual	\$	2.500
Calibración - Curva de Sustrato	\$	4.000
Calibración - Curva de Producto	\$	5.000
Calibración - Curva de Biomasa	\$	3.000
Calibración - Curva de pH	\$	1.300
Ajuste de Parámetros	\$	400
Implementación de controladores PID	\$	3.500
Total	\$^	19.700

Se resumieron los valores adecuados basados en una tasa anual de interés del 15% considerando una tasa de descuento anual del 12%. En la Tabla 3.8 se tabulan los resultados obtenidos en un periodo de 5 años de inversión. Se analizó el flujo de caja acumulado. Se determinó que la inversión es rentable al obtener un porcentaje TIR de 88%, el cual es superior al porcentaje anual por interés. Se estimó una recuperación de la inversión propuesta en un Tiempo de 1 año con 4 meses.

Tabla 3.8. Tabla de resultados, indicadores de sostenibilidad VAN, TIR, PR

Valor presente de la suma de flujos actualizados	\$78.570,50
Valor Actual Neto (VAN)	\$58.870,50
Tasa Interna de Retorno (TIR)	88%
Periodo de Retorno (PR)	1,4

## **CAPÍTULO 4**

## 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1 Conclusiones

- El modelado, simulación y propuesta de diseño de un controlador del proceso por lotes se llevó a cabo mediante tres etapas: Recopilación de datos de operación mediante metodologías experimentales; un ajuste de parámetros basado en el algoritmo de Levenberg-Marquadt empleando vectores de variables obtenidos de la ecuación diferencial y vectores de datos experimentales obtenidos con anterioridad. Implementación de estrategia de control considerando los resultados del ajuste obtenido en una función de transferencia especificando las variables a controlar y el sistema a medir.
- La elección del modelo matemático para efectuar el ajuste de parámetros se desarrolló una revisión detallada de artículos científicos. La metodología para la determinación de los datos experimentales se realizó mediante la búsqueda de normativas para la medición de cada variable, los métodos empleados son accesibles, claros, precisos y coherentes.
- El desarrollo de la estrategia de control de lazo cerrado fue realizado empleando datos bibliográficos bajo la hipótesis de que el sistema es de segundo orden y que responde a perturbaciones lentas. El desarrollo de los algoritmos para el ajuste y la estrategia de control fueron elaborados en MatLab R2017a, Python y Simulink.
- El proyecto se consideró económicamente viable. Se determinó como indicador de sostenibilidad el valor actual neto (VAN), la tasa interna de retorno (TIR) y el periodo de retorno de la inversión (PR). El VAN tuvo una magnitud superior y positiva dentro de una proyección de 5 años, igual a \$58.870,50 y la tasa interna de retorno con un porcentaje del 88%.

- La metodología empleada para la recopilación de datos experimentales adapta los datos de forma correcta con los ciclos fermentativos estándar para cada variable de estado al comparar estos datos con los perfiles dinámicos reportados en la literatura.
- El caso base para el ajuste de parámetros muestra resultados cercanos al 0%, por lo tanto, el modelo y la metodología presentada se puede emplear en otros estudios. La calibración y ajuste de parámetros basados en el algoritmo de Levenberg-Marquadt presenta valores aceptables con respecto a los datos experimentales en donde los errores relativos porcentuales entre el modelo obtenido y los datos recopilados son inferiores al 10%.
- Se obtuvo la función de transferencia del modelo mediante la dinámica de la curva de pH del sistema indicando el Tiempo de corte siendo esta la variable de entrada del proceso.
- Se propuso un controlador para el motor del agitador del biorreactor. El controlador propuesto responde ante perturbaciones de voltaje y mantiene la estabilidad del movimiento angular de forma inmediata.

#### 4.2 Recomendaciones

- Se recomienda aumentar los intervalos de Tiempo durante la experimentación y la repetibilidad de los procesos para mejorar el nivel de confianza y ajustar con mayor precisión los parámetros del modelo.
- Durante el ciclo fermentativo se recomienda prolongar el Tiempo de cultivo para obtener el comportamiento completo de la biomasa y realizar análisis sobre el tipo de bacteria empleada. Esto permitirá realizar un estudio de sensibilidad del proceso en función de esta variable.

- Con el fin de mejorar el rendimiento de los controladores, se recomienda extender
  el estudio de los controladores empleados cambiando el orden de este con uno
  de mecanismo difuso para analizar el rendimiento de ambos controladores y su
  impacto sobre el proceso.
- Dada a la importancia del control de agitación en el proceso y con el objetivo de automatizar el sistema, se recomienda el diseño de un controlador a cascada que responda ante perturbaciones del sistema empleando el controlador PID obtenido en este estudio como punto de partida para los proyectos posteriores.

## **Bibliografía**

- Abdeltif, A. (2005). Analysis of the kinetics of growth and latic acid production for Lactobacillus helveticus growing on supplemented whey permeate. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*.
- Balcázar, M. E. (2011). Elaboracion y Aplicacion gastronomica del Yogur. Cuenca : Universidad Monótona de Cuenca.
- Bellavia, G. (2018). A Lavenberg Marquardt method for large nonlinear least squares problems with dynamic accuracy in functions and gradients.
- Beltrán, R. (2010). Análisis comparativo de la influencia de factores de estrés en levaduras industriales y levaduras de panificación . Córdoba : Villa María .
- Betancourt, C. (2010). Síntesis y caracterización de ácido poli L Láctico y su aplicación en dispositivos de fijación ósea. Cali: Universidad de Cali .
- Butcher, J. (2008). Numerical Methods for Ordinary Differential Equations. England: John Willey & Sons.
- Científica, P. d. (2012). Factores, procesos y controles de fermentación de semillas . Colombia: Cenicafe.
- Díaz, S. V. (2017). Puesta a punto de Metodologías Analíticas de Lacteos en Base Lácteas. Oviedo: BiotechAlim.
- Edsberg, L. (1974). *Integration package for chemical kinetics, in Stiff Differential Systems.* New York : Plenum Press.
- Ezkauriatza, A. (2008). Effect of mixing during fermentation in yogurt manufacturing. Monterrey: FEMSA.
- Gavin, H. P. (2020). The Levenberg Marquardt algorithm for nonlinear least squares curve fitting problems . Duke University .
- Hanane, K. (2009). *Modélisation et identification paramétrique des processus de fermentation lactique.* Algeria: UFAS.
- ICAITI. (1969). Propuesta de Norma Centroamericana. Leche y productos lácteos, Métodos de ensayo y análisis. Determinación de acidez titulable. Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial . Guatemala: ICAITI.
- Ignatova, M. (2009). pH Control during continous fermentation of yogurt starter culture by strains Streptococcus Thermophilus 13A and Lactobacillus Bulgaricus 2 11. Bulgaria: Tome.
- Ignatova, M. (2009). pH control during continuous prefermentaration fo yogur . Kostov: Sciences et ingenierie.
- INEN, N. T. (1999). Leche Derivada y Yogur. In I. E. Normalización. Guayaquil: INEN.
- Inés, A. (1948). Aspectos Prácticos de Microbiología, estimación y parametrización de Biomasa en cultivos. País Vasco Euskal: Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología.
- Liu, D. (2014). Fermentation Process Modeling with Levenberg Marquardt Algorithm and Runge Kutta Method on Ethanol Production by Saccharomyces cerevisiae. Jiagnan: Hindawi.

- Malavé, L. R. (1998). Estudio de la estabilidad de un sistema de reacción mediante simulación dinámica . Barquisimeto: NEPU.
- Miao, L. R. (2016). Physical and mechanical properties of Lactose. International Dairy Journal.
- Morcillo, J. (1989). Temas básicos de química. Alhambra: Alhambra Universidad.
- Morilla, F. (2007). *Fundamentos de Controladores PID.* Dpto. de Informática y Automática. Madrid: UNED.
- (1970). *Norma Francesa. Lait. Determination de L' acideté titrable*. Asociation Française de Normalization. París: AFNOR.
- Olivarez, F. G. (2011). Produccion de ácido láctico por medio de fermentación anaerobia y su polimerización a partir de reacciones de apertura de anillo . Yucatán : Cicy .
- Quintero, G. I. (2010). Fundamentos del Proceso de Fermentación en el beneficio del café . Colombia: Federación Nacional de Cafeteros de Colombia.
- Romero, J. C. (1991). Leche y Productos Lácteos de Zaragoza . Journal for Nurse Practitoners.
- Rosenbrock, S. (1966). Computational Techniques for Chemical Engineers. Toronto: Pergamon.
- Sánchez, B. S. (1994). Crecimiento micobiológico bacteriano. Entre ríos: Cecilia.
- Smith, C. (2004). Principles and practice of automatic process control. Chicago: Wiley.
- Soulavy, C. (1982). Leche. Determinacion de azucares reductores y no reductores. Venezuela: COVENIN.
- Tango, G. (2006). Kinetic Modeling of Lactic Acid Production From Batch Submerged Fermentation of Cheese Whey . *ASAE*, 1798.
- Uzcátegui, C. (2018). Principales métodos de evaluación de proyectos de inversión para futuros emprendedores en el Ecuador. *ESPACIOS*, 1-3.
- Zalduegui, P. C. (2001). Bioquimica de las fermentaciones . Madrid : 36.

# **APÉNDICE**

Tabla A – 1. Resultados Experimentales obtenidos – Datos de Biomasa

Número de Muestra	1
Tiempo de secado (horas)	0
Peso Aluminio (g)	2
Peso de Aluminio + Muestra (g)	7,5346
Peso final (g)	2,09185
Concentración Biomasa (g/dm3)	0,15
Número de Muestra	2
Tiempo de secado (horas)	0,5
Peso Aluminio (g)	1,9609
Peso de Aluminio + Muestra (g)	7,3219
Peso final (g)	1,9617
Concentración Biomasa (g/ml)	0,16
Número de Muestra	3
Tiempo de secado (horas)	1
Peso Aluminio (g)	1,8558
Peso de Aluminio + Muestra (g)	2,6218
Peso final (g)	1,8567
Concentración Biomasa (g/ml)	0,18
Número de Muestra	4
Tiempo de secado (horas)	1,3
Peso Aluminio (g)	1,9527
Peso de Aluminio + Muestra (g)	7,4166
Peso final (g)	1,9548
Concentración Biomasa (g/ml)	0,42
Número de Muestra	5
Tiempo de secado (horas)	1,7
Peso Aluminio (g)	2,1738
Peso de Aluminio + Muestra (g)	7,3579
Peso final (g)	2,1777
Concentración Biomasa (g/ml)	0,78
Número de Muestra	6
Tiempo de secado (horas)	2
Peso Aluminio (g)	1,9501
Peso de Aluminio + Muestra (g)	7,0787
Peso final (g)	1,9553
Concentración Biomasa (g/ml)	1,3
Número de Muestra	7
Tiempo de secado (horas)	2,3
Peso Aluminio (g)	2,1955
Peso de Aluminio + Muestra (g)	
Peso final (g)	7,4145
	2,2062
Concentración Biomasa (g/ml)	2,14

Número de Muestra	8
Tiempo de secado (horas)	2,7
Peso Aluminio (g)	1,859
Peso de Aluminio + Muestra (g)	7,0179
Peso final (g)	2,2451
Concentración Biomasa (g/ml)	2,2451
Número de Muestra	9
Tiempo de secado (horas)	3
Peso Aluminio (g)	1,8591
Peso de Aluminio + Muestra (g)	7,1312
Peso final (g)	1,8723
Concentración Biomasa (g/ml)	2,64
Número de Muestra	10
Tiempo de secado (horas)	3,3
Peso Aluminio (g)	1,8316
Peso de Aluminio + Muestra (g)	6,9984
Peso final (g)	1,8426
Concentración Biomasa (g/ml)	2,75
Número de Muestra	11
Tiempo de secado (horas)	4
Peso Aluminio (g)	1,992
Peso de Aluminio + Muestra (g)	6,7283
Peso final (g)	2,0062
Concentración Biomasa (g/ml)	2,84
Número de Muestra	12
Tiempo de secado (horas)	4,3
Tiempo de secado (horas)  Peso Aluminio (g)	4,3 1,9341
Peso Aluminio (g)	1,9341
Peso Aluminio (g) Peso de Aluminio + Muestra (g)	1,9341 6,8505
Peso Aluminio (g) Peso de Aluminio + Muestra (g) Peso final (g)	1,9341 6,8505 1,9485
Peso Aluminio (g)  Peso de Aluminio + Muestra (g)  Peso final (g)  Concentración Biomasa (g/ml)	1,9341 6,8505 1,9485 2,88
Peso Aluminio (g)  Peso de Aluminio + Muestra (g)  Peso final (g)  Concentración Biomasa (g/ml)  Número de Muestra	1,9341 6,8505 1,9485 2,88 13
Peso Aluminio (g)  Peso de Aluminio + Muestra (g)  Peso final (g)  Concentración Biomasa (g/ml)  Número de Muestra  Tiempo de secado (horas)	1,9341 6,8505 1,9485 2,88 13 4,5
Peso Aluminio (g)  Peso de Aluminio + Muestra (g)  Peso final (g)  Concentración Biomasa (g/ml)  Número de Muestra  Tiempo de secado (horas)  Peso Aluminio (g)	1,9341 6,8505 1,9485 2,88 13 4,5 1,5025

Tabla A – 2. Resultados Experimentales obtenidos – Datos de Sustrato

mg Cu2O	28,301224	Muestra	1
Volumen de Tiosulfato Consumido (ml)	4,6	Tiempo (Horas)	0
Masa Inicial (g)	5,0811	Volumen de la Disolución (ml)	250
Masa de Lactosa (mg) Tabla Anexo	16,8	Volumen de la muestra de solución 1(ml)	25
%Lactosa	3,30637067	Concentración de Lactosa (g/dm3)	33,6
Densidad	1,01622		
Volumen de muestra tomada (ml)	5		
mg Cu2O	25,225004	Muestra	2
Volumen de Tiosulfato Consumido (ml)	4,1	Tiempo (Horas)	1,3
Masa Inicial (g)	5,0843	Volumen de la Disolución (ml)	250
Masa de Lactosa (mg) Tabla Anexo	14,8	Volumen de la muestra de solución 1(ml)	25
%Lactosa	2,91092186	Concentración de Lactosa (g/dm3)	29,6
Densidad	1,01686		
Volumen de muestra tomada (ml)	5		
mg Cu2O	19,687808	Muestra	3
Volumen de Tiosulfato Consumido (ml)	3,2	Tiempo (Horas)	2
Masa Inicial (g)	5,0097	Volumen de la Disolución (ml)	250
Masa de Lactosa (mg) Tabla Anexo	11,6	Volumen de la muestra de solución 1(ml)	25
%Lactosa	2,31550791	Concentración de Lactosa (g/dm3)	23,6734694
Densidad	1,02238776		
Volumen de muestra tomada (ml)	4,9		
mg Cu2O	15,3811	Muestra	4
Volumen de Tiosulfato Consumido (ml)	2,5	Tiempo (Horas)	2,35
Masa Inicial (g)	5,006	Volumen de la Disolución (ml)	250
Masa de Lactosa (mg) Tabla Anexo	8,4	Volumen de la muestra de solución 1(ml)	25
%Lactosa	1,67798642	Concentración de Lactosa (g/dm3)	17,1428571
Densidad	1,02163265		
Volumen de muestra tomada (ml)	4,9		

mg Cu2O	11,689636	Muestra	5
Volumen de Tiosulfato Consumido (ml)	1,9	Tiempo (Horas)	3
Masa Inicial (g)	5,005	Volumen de la Disolución (ml)	250
Masa de Lactosa (mg) Tabla Anexo	5,8	Volumen de la muestra de solución 1(ml)	25
%Lactosa	1,15884116	Concentración de Lactosa (g/dm3)	11,8367347
Densidad	1,02142857		
Volumen de muestra tomada (ml)	4,9		
mg Cu2O	9,22866	Muestra	6
Volumen de Tiosulfato Consumido (ml)	1,5	Tiempo (Horas)	4,3
Masa Inicial (g)	5,086	Volumen de la Disolución (ml)	250
Masa de Lactosa (mg) Tabla Anexo	5,1	Volumen de la muestra de solución 1(ml)	25
%Lactosa	1,00275265	Concentración de Lactosa (g/dm3)	10,4081633
Densidad	1,03795918		
Volumen de muestra tomada (ml)	4,9		
mg Cu2O	9,22866	Muestra	7
Volumen de Tiosulfato Consumido (ml)	1,5	Tiempo (Horas)	4,5
Masa Inicial (g)	5,002	Volumen de la Disolución (ml)	250
Masa de Lactosa (mg) Tabla Anexo	4,9	Volumen de la muestra de solución 1(ml)	25
%Lactosa	0,97960816	Concentración de Lactosa (g/dm3)	10,2083333
Densidad	1,04208333		
Volumen de muestra tomada (ml)	4,8		

Tabla A – 3. Resultados Experimentales obtenidos – Datos de Producto

		Muestra A	Muestra B	Promedio	% de Acidez titulable	% Promedio de Acidez titulable	
	Factor de Corrección	0,09				0,1744	
	Masa del Recipiente(g)	57,7241	56,3958	57,05995	0,1709	Densidad Muestra(g/ml)	0,9820
Muestra 1	Masa del Recipiente + Muestra(g)	62,9896	60,95	61,9698	0,1779	Volumen de Muestra (ml)	5,0000
	Volumen consumido de NaOH(ml)	1	0,9	0,95		Concentración de ácido en (g/dm3)	1,7125
0	Normalidad del NaOH	0,1					
		Muestra A	Muestra B	Promedio	% de Acidez titulable	% Promedio de Acidez titulable	
	Factor de Corrección	0,09				0,1734	
	Masa del Recipiente(g)	57,7241	56,3958	57,05995	0,1758	Densidad Muestra(g/ml)	1,0380
Muestra 2	Masa del Recipiente + Muestra(g)	62,8423	61,658	62,25015	0,1710	Volumen de Muestra (ml)	5,0000
	Volumen consumido de NaOH(ml)	1	1	1		Concentración de ácido en (g/dm3)	1,8003
0.2	Normalidad del NaOH	0,1					
		Muestra A	Muestra B	Promedio	% de Acidez titulable	% Promedio de Acidez titulable	
	Factor de Corrección	0,09				0,1827	
	Masa del Recipiente(g)	57,7241	56,3958	57,05995	0,1718	Densidad Muestra(g/ml)	1,0354
Muestra 3	Masa del Recipiente + Muestra(g)	62,9626	61,5114	62,237	0,1935	Volumen de Muestra (ml)	5,0000
	Volumen consumido de NaOH(ml)	1	1,1	1,05		Concentración de ácido en (g/dm3)	1,8913
1	Normalidad del NaOH	0,1					
·		Muestra A	Muestra B	Promedio	% de Acidez titulable	% Promedio de Acidez titulable	
	Factor de Corrección	0,09				0,2276	
	Masa del Recipiente(g)	57,7241	56,3958	57,05995	0,2451	Densidad Muestra(g/ml)	1,0279
Muestra 4	Masa del Recipiente + Muestra(g)	62,8641	61,5348	62,19945	0,2102	Volumen de Muestra (ml)	5,0000
	Volumen consumido de NaOH(ml)	1,4	1,2	1,3		Concentración de ácido en (g/dm3)	2,3400
1,35	Normalidad del NaOH	0,1					

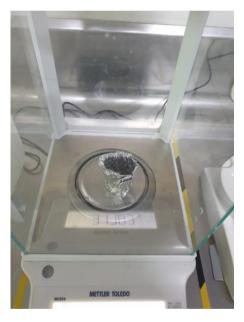
		Muestra A	Muestra B	Promedio	% de Acidez titulable	% Promedio de Acidez titulabl	е
	Factor de Corrección	0,09				0,2478	
	Masa del Recipiente(g)	57,7241	56,3958	57,05995	0,2475	Densidad Muestra(g/ml)	0,9804
Muestra 5	Masa del Recipiente + Muestra(g)	62,4519	61,4725	61,9622	0,2482	Volumen de Muestra (ml)	5,0000
	Volumen consumido de NaOH(ml)	1,3	1,4	1,35		Concentración de ácido en (g/dm3)	2,4299
1,7	Normalidad del NaOH	0,1					
-		Muestra A	Muestra B	Promedio	% de Acidez titulable	% Promedio de Acidez titulable	
	Factor de Corrección	0,09				0,2935	
	Masa del Recipiente(g)	57,7241	56,3958	57,05995	0,2855	Densidad Muestra(g/ml)	0,9804
Muestra 6	Masa del Recipiente + Muestra(g)	62,4519	61,4725	61,9622	0,3014	Volumen de Muestra (ml)	5,0000
	Volumen consumido de NaOH(ml)	1,5	1,7	1,6		Concentración de ácido en (g/dm3)	2,8772
2	Normalidad del NaOH	0,1					
		Muestra A	Muestra B	Promedio	% de Acidez titulable	% Promedio de Acidez titulable	
	Factor de Corrección	0,09				0,3913	
	Masa del Recipiente(g)	57,7241	56,3958	57,05995	0,3746	Densidad Muestra(g/ml)	1,0360
Muestra 7	Masa del Recipiente + Muestra(g)	63,0092	61,4708	62,24	0,4079	Volumen de Muestra (ml)	5,0000
	Volumen consumido de NaOH(ml)	2,2	2,3	2,25		Concentración de ácido en (g/dm3)	4,0535
2,3	Normalidad del NaOH	0,1					
		Muestra A	Muestra B	Promedio	% de Acidez titulable	% Promedio de Acidez titulable	
	Factor de Corrección	0,09				0,5210	
	Masa del Recipiente(g)	57,7241	56,3958	57,05995	0,5348	Densidad Muestra(g/ml)	1,0530
Muestra 8	Masa del Recipiente + Muestra(g)	63,1093	61,541	62,32515	0,5073	Volumen de Muestra (ml)	5,0000
	Volumen consumido de NaOH(ml)	3,2	2,9	3,05		Concentración de ácido en (g/dm3)	5,4867
2,7	Normalidad del NaOH	0,1	_				
		Muestra A	Muestra B	Promedio	% de Acidez titulable	% Promedio de Acidez titulable	
	Factor de Corrección	0,09				0,5526	
	Masa del Recipiente(g)	57,7241	56,3958	57,05995	0,5403	Densidad Muestra(g/ml)	1,0359
Muestra 9	Masa del Recipiente + Muestra(g)	62,8883	61,1758	62,03205	0,5649	Volumen de Muestra (ml)	4,8000
	Volumen consumido de NaOH(ml)	3,1	3	3,05		Concentración de ácido en (g/dm3)	5,7237
3	Normalidad del NaOH	0,1					

			Muestra B	Promedio	% de Acidez titulable	% Promedio de Acidez titulable		
	Factor de Corrección	0,09				0,6119	ı	
	Masa del Recipiente(g)	57,7241	56,3958	57,05995	0,6286	Densidad Muestra(g/ml)	1,0368	
Muestra 10	Masa del Recipiente + Muestra(g)	62,5923	61,6878	62,14005	0,5952	Volumen de Muestra (ml)	4,9000	
	Volumen consumido de NaOH(ml)	3,4	3,5	3,45		Concentración de ácido en (g/dm3)	6,3439	
3,3	Normalidad del NaOH	0,1					•	
		Muestra A	Muestra B	Promedio	% de Acidez titulable	% Promedio de Acidez titulable		
	Factor de Corrección	0,09				0,6732	,6732	
	Masa del Recipiente(g)	57,7241	56,3958	57,05995	0,6707	Densidad Muestra(g/ml)	1,0607	
Muestra 11	Masa del Recipiente + Muestra(g)	62,5548	61,3235	61,93915	0,6758	Volumen de Muestra (ml)	4,6000	
	Volumen consumido de NaOH(ml)	3,6	3,7	3,65		Concentración de ácido en (g/dm3)	7,1410	
4	Normalidad del NaOH	0,1						
	•		Muestra B	Promedio	% de Acidez titulable	% Promedio de Acidez titulable		
	Factor de Corrección	0,09				0,9251		
	Masa del Recipiente(g)	57,7241	56,3958	57,05995	0,9412	Densidad Muestra(g/ml)	1,0391	
Muestra 12	Masa del Recipiente + Muestra(g)	62,3139	60,95	61,63195	0,9091	Volumen de Muestra (ml)	4,4000	
	Volumen consumido de NaOH(ml)	4,8	4,6	4,7		Concentración de ácido en (g/dm3)	9,6130	
4,3	Normalidad del NaOH	0,1						
			Muestra B	Promedio	% de Acidez titulable	% Promedio de Acidez titulable		
	Factor de Corrección	0,09				0,9547		
	Masa del Recipiente(g)	57,7241	56,3958	57,05995	0,9608	Densidad Muestra(g/ml)	1,0391	
Muestra 13	Masa del Recipiente + Muestra(g)	62,3139	60,95	61,63195	0,9486	Volumen de Muestra (ml)	4,4000	
	Volumen consumido de NaOH(ml)	4,9	4,8	4,85		Concentración de ácido en (g/dm3)	9,9202	
4,5	Normalidad del NaOH	0,1					·	

## **Anexo**



Anexo 1. Muestras de biomasa dentro del horno para su calentamiento



Anexo 2. Pesado de la muestra de Biomasa posterior al calentamiento



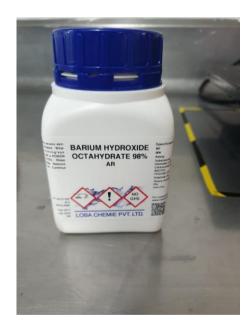
Anexo 3. Muestras de Biomasa posterior al calentamiento.



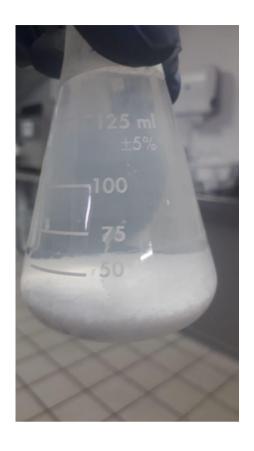
Anexo 4. Muestra de analito diluido en el sistema



Anexo 5. Reactivo Ácido Fosfórico 1N



Anexo 6. Reactivo de Hidróxido de Bario al 98%



Anexo 7. Separación de fase acuosa mezclada de lactosa con la fase orgánica



Anexo 8. Solución Fehling A, Fehling B y agua destilada.



Anexo 9. Baño maría de la Solución Fehling con muestra de lactosa para su validación.



Anexo 10. Solución de óxido cuproso, muestra de lactosa validada.



Anexo 11. Solución de ácido nítrico 50:50



Anexo 12. Reactivo, solución de loduro de Potasio



Anexo 13. Solución indicadora de Fenolftaleína



Anexo 14. Solución de Hidróxido de Sodio 0.1N

•



Anexo 15. Neutralización de la solución mediante solución indicadora.



Anexo 16. Punto de viraje de la muestra para determinación de Producto en la mezcla.