

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

POSGRADO EN INGENIERÍA AGRÍCOLA Y USO INTEGRAL DEL AGUA

SIMULACIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL

TESIS
QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA AGRÍCOLA Y USO
INTEGRAL DEL AGUA, ORIENTACIÓN BIOSISTEMAS



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
DIRECCIÓN GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESQUERÍA

PRESENTA:

ANGEL GARDUÑO GARCÍA

Chapingo, Estado de México, Noviembre de 2012



SIMULACIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL

Tesis realizada por Angel Garduño García bajo la dirección del comité asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN INGENIERÍA AGRÍCOLA Y USO INTEGRAL DEL AGUA
ORIENTACIÓN: BIOSISTEMAS**

DIRECTOR:



Dr. Irineo L. López Cruz

ASESOR:



M. I. Agustín Ruíz García

ASESOR:



M. C. Salvador Martínez Romero

“Beer is proof that God loves us and wants us to be happy”.

Benjamin Franklin

AGRADECIMIENTOS

Por este medio deseo agradecer a las personas e instituciones que hicieron posible mi formación y la realización del presente trabajo, entre ellos;

A la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) por el apoyo brindado para la realización de mis estudios de maestría.

Al programa de Posgrado en Ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua de la Universidad Autónoma Chapingo, por permitirme ser parte de su proyecto educativo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo de beca para la realización de la maestría.

Al Dr. Irineo L. López Cruz, ya que gracias a su gran disposición y acertada dirección, consejo y sugerencias hizo posible la culminación de éste trabajo.

Al M. C. Salvador Martínez Romero por su disponibilidad y apoyo continuo, lo cual permitió terminar en tiempo y forma este trabajo.

Al M.C. y amigo Agustín Ruiz García por su enorme ayuda, quién siempre tuvo la atención de atender asuntos relacionados con el presente trabajo.

A todas aquellas personas que de manera desinteresada me brindaron su apoyo en la realización de éste trabajo.

DEDICATORIA

A mi querida madre
María de las Mercedes García Anzaldo

A mi tutor
Margarito López Arroyo

A mis hermanos
Marco Antonio, Martín y Margarita

A mi novia
Yanet Elizarraraz Ríos

Al Ingeniero
Ramón Lobato Silva

A todos mis amigos con los cuales he convivido durante mi estancia en Chapingo, principalmente a Carlos, Adán, Francisco, “Rabelo”, “Roger”, “Gabo” y Josué.

Y finalmente de manera especial al “bebé” (Emmanuel Pineda), quién a pesar de conocerlo por menos tiempo ha sabido ser un buen amigo.

DATOS BIOGRÁFICOS DEL AUTOR

Angel Garduño García nace en Toluca Estado de México un 14 de Abril de 1988, realizó sus estudios de primaria en la escuela Miguel Hidalgo en el municipio de Papalotla Estado de México. Cursó sus estudios de secundaria en la escuela Moisés Sáenz en el mismo municipio. En el año 2003 aprueba el examen de ingreso a la Universidad Autónoma Chapingo donde culmina exitosamente sus estudios de nivel medio superior, para después ingresar a la carrera de Ingeniería Mecánica Agrícola en la misma Universidad, egresando en el 2010. En ese mismo año se postula para ingresar al Posgrado en Ingeniería Agrícola y Uso integral del Agua, donde es aceptado y decide trabajar en el área de biosistemas mediante la investigación de simulación del proceso de fermentación de cerveza artesanal.

SIMULACIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL

Autor: Angel Garduño García
Director: Irineo L. López Cruz

El objetivo de la presente investigación fue estudiar el comportamiento del proceso de fermentación de cerveza artesanal mediante un modelo matemático dinámico. El modelo contiene las tasas de cambio de las variables de estado concentración de glucosa, maltosa y maltotriosa. La variable de salida es la concentración de etanol y como variable auxiliar contempla la concentración de biomasa (levaduras). El modelo contiene varios parámetros que requieren ser estimados a partir de mediciones experimentales. Este modelo fue programado en el ambiente Matlab-Simulink y para su integración numérica se uso el método de Dormand-Prince de cuarto grado con tamaño de paso variable con una tolerancia relativa de 10^{-8} . Para conocer sus parámetros más importantes se realizó un análisis de sensibilidad local que permitió determinar que tanto las velocidades de reacción máxima como constantes cinéticas afectan las variables de estado. Además se llevó a cabo un experimento para producir cerveza artesanal a una temperatura constante. Se implementaron 14 unidades experimentales (fermentadores) con las mismas condiciones iniciales. De cada fermentador, se midieron las concentraciones de las variables de estado incluidas en el modelo matemático. Los tiempos de medición fueron determinados de acuerdo al comportamiento de la dinámica del proceso de fermentación para una temperatura de 16 °C. Usando los resultados experimentales el modelo fue calibrado mediante los algoritmos de optimización mínimos cuadrados no lineales y evolución diferencial. De acuerdo con las estadísticas sesgo (BIAS), cuadrado medio del error (MSE), raíz cuadrada del cuadrado medio (RMSE), error medio absoluto (MAE) y eficiencia de modelación (EF) se encontró un buen ajuste entre las predicciones del modelo y las mediciones de las variables de estado después de la estimación de los parámetros.

Palabras clave: modelo mecanicista, sistema dinámico, análisis de sensibilidad, calibración.

SIMULATION OF THE FERMENTATION PROCESS OF HOMEBREWING BEER

Author: Angel Garduño García
Advisor: Irineo L. López Cruz

The aim of the current research was to study the behavior of the fermentation process of home-made beer using a mathematical dynamic model. The model contains the rates of change of the concentration state variables of glucose, maltose and maltotriose. An output variable is the ethanol concentration and an auxiliary variable is the biomass (yeast) concentration. The model has several parameters which need to be estimated from experimental measurements. The model was programmed in the Matlab-Simulink environment and for its numerical integration Dormand-Prince method of fourth order with a variable integration step size and a relative tolerance of 10^{-8} was used. In order to know which model parameters are more important, a local sensitivity analysis was carried out which allowed to determine that the maximum reaction velocity coefficients and also the kinetic constants are the most influential on the state variables. Furthermore, an experiment was performed to produce home-made beer at constant temperature. Fourteen experimental units (fermenters) with the same initial conditions were implemented. For each fermenter the concentrations of the state variables were measured at several sampling instants according to the fermentation process dynamics at 16°C of temperature. Using the experimental results the model was calibrated by means of the nonlinear least squares and differential evolution algorithms. According to the statistics bias (BIAS), mean squared error (MSE), squared root of mean squared error (RMSE), mean absolute error (MAE) and the efficiency of modeling (EF) a good fit between the model predictions and measurements was found after the model parameters estimation.

Keywords: mechanistic model, dynamic system, sensitivity analysis, calibration.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN.....	1
Capítulo 2. OBJETIVOS.....	3
3.1 Objetivo general.....	3
3.2 Objetivos particulares.....	3
Capítulo 3. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
3.1 Breve descripción del proceso de producción de cerveza artesanal.....	4
3.1.1 Limpieza y Sanitización.....	5
3.1.2 Elaboración del mosto.....	5
3.1.3 Fermentación.....	6
3.1.3.1 Sistemas de fermentación.....	8
3.1.3.2 Sistema de operación por lote.....	8
3.1.3.3 Sistema de operación en continuo.....	8
3.1.3.4 Sistema de operación semicontinuo.....	9
3.1.4 Embotellado.....	10
3.2 Modelación matemática de la fermentación de cerveza.....	10
3.3 Análisis de sensibilidad de modelos.....	14
3.4 Estimación de parámetros.....	16

3.5 Algoritmos de optimización y calibración de modelos.....	19
3.5.1 Mínimos cuadrados no-lineales.....	19
3.5.2 Evolución diferencial	21
Capítulo 4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
4.1. Descripción del experimento.....	26
4.1.1. Elaboración del mosto.....	26
4.1.2 Condiciones de operación.....	27
4.1.3 Adquisición de datos.....	28
4.1.3.1 Concentración de glucosa, maltosa y maltotriosa.....	30
4.1.3.2 Concentración de etanol.....	30
4.1.3.3 Concentración de biomasa.....	32
4.2 Descripción del modelo matemático.....	36
4.3 Implementación del modelo.....	39
4.4 Análisis de sensibilidad del modelo.....	40
4.5 Calibración del modelo.....	41
Capítulo 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
5.1 Simulaciones preliminares.....	43
5.2 Análisis de sensibilidad.....	47
5.3 Calibración.....	52
Capítulo 6. CONCLUSIONES.....	63
Capítulo 7. BIBLIOGRAFÍA.....	65
Anexo A. MEDICIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE LAS VARIABLES GLUCOSA, MALTOSA, MALTOTRIOSAS, ETANOL Y BIOMASA.....	69
Anexo B. CÁLCULO DE LAS MATRICES A, M Y ECUACIONES DE SENSIBILIDAD.....	72
Anexo C. IMPLEMENTACIÓN DEL MODELO Y CALIBRACIÓN MEDIANTE LSQNONLIN.....	76

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 4.1. Valores de los rendimientos estequiométricos para el modelo de Gee y Ramirez (1988).	38
Cuadro 4.2. Condiciones iniciales del modelo utilizadas por Gee y Ramirez (1988).....	38
Cuadro 4.3. Parámetros cinéticos del modelo para diferentes temperaturas (Gee y Ramirez, 1988)	39
Cuadro 5.1. Índices de sensibilidad local.....	52
Cuadro 5.2. Valores de los parámetros cinéticos del modelo calibrado mediante <i>lsqnonlin</i>	55
Cuadro 5.3. Estadísticas de ajuste del modelo calibrado mediante <i>lsqnonlin</i>	55
Cuadro 5.4. Valores de los parámetros cinéticos del modelo calibrado (mediante Evolución Diferencial).....	58
Cuadro 5.5. Estadísticas del modelo calibrado mediante Evolución Diferencial para una temperatura de 21 °C.....	59
Cuadro A.1 Mediciones de concentración de glucosa.....	69
Cuadro A.2 Mediciones de concentración de maltosa.....	69
Cuadro A.3 Mediciones de concentración de maltotriosa.....	70
Cuadro A.4 Mediciones de concentración de etanol.....	70
Cuadro A.5 Mediciones de concentración de biomasa.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 3.1 Proceso de producción de cerveza.....	4
Fig. 4.1. Fermentador acondicionado.....	27
Fig. 4.2. Unidades experimentales dentro de la incubadora.....	28
Fig. 4.3. Unidad experimental agitada.....	29
Fig. 4.4. Muestras congeladas de cada unidad experimental.....	30
Fig. 4.5. Muestra de 100 mL y equipo de destilación.....	31
Fig. 4.6 Agitador tipo vórtex.....	32
Fig. 4.7. Cámara Neubauer.....	33
Fig. 4.8 Enfoque de la cámara de Neubauer con microscopio.....	33
Fig. 4.9. Cuadros utilizados en el conteo de levaduras.....	34
Fig. 4.10. Convención para el conteo de células mediante una cámara Neubauer.....	34
Fig. 5.1. Concentración de las variables de estado G , M y N con respecto al tiempo de fermentación.....	43
Fig. 5.2. Concentración de etanol (E) con respecto al tiempo de fermentación.....	44
Fig. 5.3. Concentración de biomasa (X) con respecto al tiempo de fermentación.....	44
Fig. 5.4. Comparación entre predicciones y mediciones de la concentración de las variables de estado G , M y N con respecto al tiempo de fermentación.....	45

Fig. 5.5. Comparación entre predicciones y mediciones de la concentración de etanol (E) con respecto al tiempo de fermentación.....	46
Fig. 5.6. Comparación entre predicciones y mediciones de la concentración de biomasa (X) con respecto al tiempo de fermentación...	46
Fig. 5.7. Sensibilidad relativa de las variables de estado G , M y N con respecto a la velocidad de reacción máxima para la glucosa (V_G).....	46
Fig. 5.8 Sensibilidad relativa de las variables de estado G , M y N con respecto a la velocidad de reacción máxima para la maltosa (V_M).....	48
Fig. 5.9. Sensibilidad relativa de las variables de estado G , M y N con respecto a la velocidad de reacción máxima para la maltotriosa (V_N).....	48
Fig. 5.10. Sensibilidad relativa de las variables de estado G , M y N con respecto a la constante de Michaelis para la glucosa (K_G).....	49
Fig. 5.11. Sensibilidad relativa de las variables de estado G , M y N con respecto a la constante de Michaelis para la maltosa (K_M).....	49
Fig. 5.12. Sensibilidad relativa de las variables de estado G , M y N con respecto a la constante de Michaelis para la maltotriosa (K_N).....	50
Fig. 5.13. Sensibilidad relativa de las variables de estado G , M y N con respecto a la constante de inhibición para la glucosa (K'_G).....	50
Fig. 5.14. Sensibilidad relativa de las variables de estado G , M y N con respecto a la constante de inhibición para la maltosa (K'_M).....	51
Fig. 5.15. Comparación entre predicciones (modelo calibrado mediante <i>lsqnonlin</i>) y mediciones de las variables G , M y N respecto al tiempo de fermentación.....	53
Fig. 5.16. Comparación entre predicciones (modelo calibrado mediante <i>lsqnonlin</i>) y mediciones de etanol (E) con respecto al tiempo de fermentación.....	54
Fig. 5.17. Predicciones de la concentración de biomasa (X) con respecto al tiempo de fermentación (modelo calibrado mediante <i>lsqnonlin</i>).....	54

Fig. 5.18. Comparación entre predicciones (modelo calibrado mediante Evolución Diferencial) y mediciones de las variables G , M y N respecto al tiempo de fermentación.....	56
Fig. 5.19. Comparación entre predicciones (modelo calibrado mediante Evolución Diferencial) y mediciones de etanol (E) con respecto al tiempo de fermentación.....	57
Fig. 5.20. Predicciones de la concentración de biomasa (X) con respecto al tiempo de fermentación (modelo calibrado mediante Evolución Diferencial)	57

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN

La cerveza es una bebida alcohólica muy antigua, desarrollada por los pueblos de los imperios mesopotámicos y egipcios, resultado de fermentar los cereales germinados en agua, en presencia de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*). Aunque existen en el mercado cervezas de trigo, mijo y arroz, la más común es la obtenida a partir de la fermentación de la cebada (BEERTEC, 2012).

La cerveza es una bebida ampliamente consumida en México. Según los datos más recientes, nuestro país ocupa el lugar 31 en la lista de los países de mayor consumo per cápita de cerveza con 57.1 L por año (KIRIN, 2010), siendo encabezada la lista por la República Checa con un consumo de 174 L anuales, Irlanda con el segundo lugar con un consumo de 148 L por año y en tercer lugar se tiene a Austria y Alemania con 123 L anuales (BBC, 2012).

De acuerdo con la Asociación Cervecera de la República Mexicana (Acermex), en la actualidad en México, por cada 100 000 cervezas consumidas, dos de ellas son producidas por una pequeña empresa nacional (El economista, 2010).

Actualmente, el sector micro cervecero produce 30 000 cajas al mes, que contienen 9 L cada una. Sin embargo, así como ha crecido la oferta, ha crecido también la demanda, y ahora son varios los lugares que se dedican a la venta

exclusiva de cervezas artesanales. Desde el 2008, la Acermex ha buscado difundir el consumo de cerveza artesanal en México. La meta para el 2016 es que la industria micro cervecera represente el 1% del sector (El economista, 2010).

Dentro del proceso de elaboración de cerveza la fermentación juega un papel muy importante, ya que es en esta fase donde se lleva a cabo la producción de etanol. El estudio del proceso de fermentación puede ayudar a conocer y controlar las variables que tienen mayor influencia en las características finales del producto y así obtener una cerveza de mejor calidad en menos tiempo.

Precisamente, una de las diferencias más marcadas en la producción de cerveza industrial y artesanal, es el tipo de fermentación que se lleva a cabo. En la producción industrial se utiliza la fermentación tipo *Lager*, donde las levaduras crecen en el fondo del mosto a una temperatura de 7 a 15 °C y tarda de uno a tres meses; mientras que, en la producción artesanal se utiliza la fermentación tipo *Al*, donde las levaduras se localizan en la superficie a una temperatura de 18 a 24 °C y dura de una a dos semanas (López, 2007).

Actualmente existen diversos modelos matemáticos que describen el proceso de fermentación en la producción de cerveza a nivel industrial; sin embargo, no han sido desarrollados modelos que reproduzcan la dinámica del proceso de fermentación en la producción de cerveza artesanal, de esta manera, dada la importancia que está tomando la cerveza artesanal entre los consumidores, surge la necesidad de profundizar en el estudio de ella.

Capítulo 2. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

- Simular el proceso de fermentación de la cerveza artesanal mediante un modelo dinámico mecanicista utilizado para el proceso de producción de cerveza industrial.

3.2 Objetivos particulares

- Implementar en el ambiente de simulación MATLAB-SIMULINK un modelo dinámico para predecir el comportamiento del proceso de fermentación de cerveza artesanal.
- Implementar un fermentador de cerveza artesanal, y a partir del experimento obtener mediciones de las variables más relevantes en el proceso de fermentación de cerveza artesanal Llevar a cabo un análisis de sensibilidad del modelo dinámico de la fermentación de cerveza
- Llevar a cabo la calibración del modelo dinámico de fermentación para que sea capaz de predecir el comportamiento del proceso de fermentación de cerveza artesanal.

Capítulo 3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Breve descripción del proceso de producción de cerveza artesanal

En la Figura 3.1 se muestra el proceso general de producción de cerveza industrial. La producción de cerveza artesanal se realiza básicamente de la misma manera, existiendo algunos cambios en cuatro etapas principales: limpieza y sanitización, elaboración del mosto, fermentación y embotellado (López, 2007).



Fig. 3.1 Proceso de producción de cerveza (Fig. tomada de Club planeta, 2012).

3.1.1 Limpieza y Sanitización

Consiste en crear las condiciones adecuadas para que las levaduras se alimenten de las azúcares contenidas en el mosto, es decir, eliminar residuos, suciedad y bacterias en general. Para realizar lo anterior, todos los elementos que van a estar en contacto con el mosto, pueden sumergirse en una solución de 20 mL de cloro con 20 L de agua durante al menos 20 min (López, 2007), tomando en cuenta que al finalizar, los elementos debe ser enjuagados con agua caliente, ya que cualquier residuo de cloro dañaría el sabor de la cerveza.

3.1.2 Elaboración del mosto

Consiste en crear una solución rica en azúcares fermentables que será convertida en cerveza, para lograrlo, se tienen principalmente cuatro opciones: utilizar malta en grano, malta en extracto seco, malta en extracto líquido y malta en extracto lupulizado (López, 2007).

Si se elige producir cerveza con el uso de malta en grano, se debe llevar a cabo el proceso de maceración, donde la malta debe ser molida para posteriormente mezclarse con agua y calentarla gradualmente hasta una temperatura de 48 °C por aproximadamente 20 min. Se continúa el calentamiento progresivo por etapas a temperaturas de 60 °C por 30 min y posteriormente a 72 °C por 30 min más. La solución se filtra y al líquido obtenido se le añade el lúpulo. Finalmente se lleva a cabo la cocción, donde la solución se somete a temperatura de ebullición por una hora para obtener el mosto (Sánchez, 2011).

En el caso de trabajar con malta en extracto seco, malta en extracto líquido o malta en extracto lupulizado, el proceso se simplifica, ya que existen fabricantes que producen kits con los ingredientes para la preparación del mosto, los cuales tan solo deben mezclarse con agua a temperatura de ebullición durante un tiempo específico que normalmente es de aproximadamente 1 h (López, 2007). El uso de extractos de malta permite eliminar los pasos iniciales del proceso de elaboración de cerveza: molido de la malta, maceración, filtrado de la maceración, cocción del mosto, adición de lúpulo y filtración del mosto caliente. Cuando el mosto se encuentra listo se coloca en un fermentador donde le será agregada la levadura.

3.1.3 Fermentación

El término "fermentación" se deriva del verbo latino *fervere*, que significa hervir, describiendo así la apariencia de la acción de la levadura en extractos de frutas o granos malteados (Stanbury y Whitaker, 1984).

La fermentación es uno de los procesos más importantes en la producción de cerveza. Está sujeta a alteraciones derivadas principalmente de la variación en la levadura (un microorganismo vivo) y a las complejas materias primas de origen biológico. Lo anterior puede manifestarse en cambios considerables en la velocidad de fermentación entre lotes de la misma calidad (Defernez *et al.*, 2007) o causar sabores desagradables en la cerveza.

La temperatura de fermentación, así como el tipo de levaduras utilizado, son extremadamente importantes a la hora de reproducir un estilo de cerveza determinado, por lo cual en la producción industrial es común usar refrigeración para controlar la temperatura en el proceso de fermentación de cerveza en lotes (Ramirez y Maciejowski, 2007).

La fermentación es llevada a cabo por las levaduras. Este hongo es capaz de transformar el azúcar maltosa en alcohol y dióxido de carbono (CO_2) en ausencia de oxígeno. No obstante en una etapa inicial es imprescindible que la levadura se reproduzca rápidamente aunque no genere alcohol por lo cual es necesario una cierta presencia de oxígeno en el mosto. Una vez consumido el oxígeno la levadura transforma su metabolismo para producir alcohol mediante un proceso llamado fermentación alcohólica.

En la producción de cerveza artesanal se utiliza la fermentación tipo *A/e*, por lo que se debe tener cuidado de que a la hora de agregar la levadura al mosto, se encuentre en un rango de temperatura entre 18 y 24 °C. La cantidad de levadura agregada y la concentración de oxígeno disuelto en el mosto tiene una importancia relevante, ya que influyen directamente en la fase de multiplicación de las células antes de comenzar la fermentación (López, 2007).

El tiempo que dura el mosto dentro del fermentador es de aproximadamente siete días, ya que la etapa de fermentación en la elaboración de cerveza generalmente dura una semana a una temperatura de 20 °C (Stanier *et al.* citado por Sánchez 2011).

3.1.3.1 Sistemas de fermentación

De acuerdo con Sánchez (2011), un sistema fermentativo se define como el volumen de reacción limitado por un contenedor físico (biorreactor). Donde se lleva a cabo la degradación biológica anaerobia de moléculas orgánicas mediante la acción de ciertas enzimas que actúan directamente o como componentes de ciertas bacterias y levaduras. El biorreactor más simple es el matraz erlenmeyer. En base a su alimentación, los biorreactores se pueden operar en: continuo, semicontinuo y lote.

3.1.3.2 Sistema de operación por lote

En el sistema de fermentación por lote inicialmente se añade al biorreactor una solución rica en nutrientes (concentración de sustrato, S_0) la cual se inocula con microorganismos (concentración de biomasa, X) que producen un determinado producto de interés (concentración de producto, P). A medida que procede la fermentación se tiene un estado no estacionario de los componentes del sistema (S , X y P). La multiplicación celular cesa por limitación de nutrientes y/o acumulación de productos tóxicos de excreción celular. Una vez que se ha alcanzado el nivel deseado de fermentación (S , X , P), el biorreactor se vacía, se lava, se esteriliza y el proceso se repite. Los cambios en los componentes del medio de fermentación dentro del biorreactor producen a su vez cambios en el metabolismo.

3.1.3.3 Sistema de operación en continuo

En el sistema de fermentación continuo se añade al biorreactor una solución rica en nutrientes (S_0) la cual se inocula con microorganismos (X_0). Una vez

inoculado el biorreactor, se comienza a suministrar un flujo continuo de alimentación $F(S_a)$. En los sistemas continuos, el flujo de salida (efluente) del biorreactor es igual al flujo de entrada. El flujo de alimentación $F(S_a)$ está compuesto por los nutrientes del medio de cultivo o sustrato, mientras que el efluente $F(S_f, X_f, P_f)$ contiene el sustrato residual, la biomasa, así como los productos de fermentación.

Si se tiene un mezclado homogéneo en el biorreactor, las condiciones son uniformes y esporádicamente se alcanza el estado estacionario (estado de equilibrio dinámico), el cual se define como una condición de estabilidad en la que varios factores permanecen constantes a través del tiempo, entre ellos el volumen de operación y concentraciones de biomasa, sustrato y producto.

3.1.3.4 Sistema de operación semicontinuo

Se añade al biorreactor una solución rica en nutrientes (S_0) la cual se inocula con microorganismos (X_0). Una vez inoculado el biorreactor se tiene un comportamiento similar al sistema por lote en el cual se permite un tiempo de crecimiento celular y de formación del producto, a este tiempo se le conoce como tiempo de retención hidráulico (TRH). Después de transcurrido este tiempo, cierto volumen del medio de cultivo se extrae del biorreactor “purga”, V_{purga} (S_f , X_f , P_f) y se sustituye por el mismo volumen de medio nutritivo fresco, $V_{alimentación}(S_0)$. El proceso de purga y alimentación (recambio de medio) se realiza periódicamente a intervalos de tiempo constantes. En el nuevo medio de fermentación las levaduras continúan su crecimiento, así como la formación de productos.

3.1.4 Embotellado

La última etapa después de la fermentación es el embotellado de la cerveza. El factor más importante aquí, es la determinación del momento exacto para hacerlo. Existen dos métodos sencillos para saber cuándo la cerveza esta lista para ser embotellada. El primero es el método empírico y consiste en observar que si no salen más burbujas en un plazo de dos días, la cerveza está lista para ser embotellada. El segundo método implica el uso de un hidrómetro para medir la densidad de la cerveza, y cuando el peso específico permanece constante, quiere decir que la fermentación ha terminado (López, 2007).

Una vez determinado el momento óptimo para embotellar, se debe tomar en cuenta que es necesario sanitizar los elementos que están en contacto con la cerveza, posteriormente, se transfiere el líquido del fermentador a un contenedor de embotellado, una vez ahí, se le agrega una solución de azúcar con la finalidad de que la cerveza se carbonate una vez que sea sellada en el envase final (López, 2007).

3.2 Modelación matemática de la fermentación de cerveza

Un modelo matemático del proceso de fermentación de cerveza puede definirse mediante la ecuación diferencial ordinaria de primer orden no-lineal de la forma:

$$\frac{dx}{dt} = f(x, u, p) \text{ , } x(t_0) = \beta \quad (3.1)$$

donde $x \in R^n$, $u \in R^m$ $p \in R^q$ y $\beta \in R^n$. El vector de las variables de estado (x) contiene las variables que caracterizan el sistema, tales como concentración de

glucosa, maltosa y maltotriosa, la concentración de levaduras o la concentración de sustrato contenidos en el fermentador. El vector de las variables de entrada (u) contiene variables que expresan el efecto del ambiente sobre el comportamiento del sistema, tales como la temperatura. El vector (p) representa los parámetros bioquímicos del modelo tales como los coeficientes de cinética química de Michaelis-Menten. Cabe destacar que en general f es un vector de funciones no-lineales, por lo que el modelo dinámico no tiene solución analítica y este debe ser resuelto mediante integración numérica o simulación digital. A partir de las ecuaciones de estado se pueden calcular otras variables llamadas salidas del sistema (y). La ecuación algebraica general no lineal es entonces:

$$y = g(x, u, p) \tag{3.2}$$

Algunas variables de salida en cultivos son el contenido de alcohol.

Muchos científicos han propuesto diferentes modelos para simular el proceso de fermentación en la cerveza, pero estos se enfocan en la cerveza producida a gran escala en la industria, por lo que intentan duplicar en laboratorio las condiciones industriales reales.

Existe una investigación realizada por Xiao (2004), en la cual durante un período fijo de tiempo de fermentación, se construyeron una serie de diferentes perfiles de temperatura, en el cual fue elegido el perfil óptimo de temperatura con el que se maximiza la producción de etanol y se reduce al mínimo la concentración de subproductos y el riesgo de deterioro. Para la optimización de

la cinética del modelo fue utilizado un algoritmo de optimización de colonia de hormigas.

Madar *et al.* (2005) plantearon un problema de optimización donde el objetivo fue reducir al mínimo el tiempo de fermentación y optimizar la calidad de la cerveza, en su trabajo, para la optimización utilizaron Computación Evolutiva Interactiva (IEC, un algoritmo evolutivo cuya función es proporcionada por los usuarios humanos). Los resultados que obtuvieron muestran que IEC es un método eficiente y cómodo para incorporar el conocimiento del usuario en la optimización del modelo basado en procesos por lotes.

Por otro lado, Oonsivila R. y Oonsivilai A. (2009) realizaron estudios controlando un perfil de temperatura para impulsar el proceso, a fin de obedecer a ciertas restricciones durante la fermentación de la cerveza. El diseño de este perfil de temperatura también es un problema de optimización, donde el objetivo es reducir al mínimo el tiempo de operación y optimizar la calidad de la cerveza, dicho problema fue resuelto mediante un algoritmo evolutivo llamado evolución diferencial. Los resultados, al igual que los de Madar *et al.* (2005), muestran que la evolución diferencial es un método fácil y competente para incorporar el conocimiento previo del usuario en la optimización del perfil de temperatura de los procesos por lotes.

Otro experimento importante relacionado con este tema, es el desarrollado para el control del proceso de fermentación con algoritmos evolutivos (Andrés-Toro *et al.*, 2004), en el cual se realiza una investigación empírica sobre el modelado,

optimización y control de la fermentación de la cerveza, cuyas ecuaciones utilizadas para el modelo se obtienen de Andrés-Toro *et al.* (1998). En estos dos trabajos en conjunto, se implementó un experimento para reproducir en laboratorio las condiciones reales de la industria cervecera, así el modelo matemático desarrollado simula de manera eficiente la fermentación de cerveza a nivel industrial, una vez obtenido el modelo, lo utilizaron para optimizar el proceso de fermentación mediante el uso de algoritmos de control inteligente.

Existe una investigación de Cristian *et al.* (2001) donde se proponen y validan tres modelos dinámicos de fermentación de cerveza a escala de laboratorio: un modelo basado en el conocimiento biológico de la fermentación, un modelo empírico basado en la forma de curvas experimentales y un modelo de caja negra basado en una red neural artificial. Los modelos toman en cuenta la temperatura de fermentación, la presión en la parte superior del fermentador y la concentración inicial de levadura, y predicen la densidad del mosto, la concentración de azúcar residual, la concentración de etanol y el CO₂ liberado. Los modelos fueron comparados en términos de precisión de la predicción, la robustez y capacidad de generalización (interpolación y extrapolación), llegando a la conclusión de que debido a los pocos datos obtenidos durante el proceso de medición, los modelos que incluyen más conocimiento del proceso parecen igualmente precisos, pero más fiables que la red neuronal.

Otro modelo importante es el desarrollado por Engasser (1981) para controlar el proceso de fermentación, el cual toma en consideración el metabolismo de la levadura y expresiones cinéticas relativamente simples para la asimilación de

diferentes azúcares. Este modelo fue modificado por Gee y Ramirez (1988) para incluir los efectos de la temperatura en dicho proceso, donde se asume que el medio de fermentación contiene tres azúcares, maltosa, glucosa y maltotriosa. En investigaciones más recientes, Gee y Ramirez (1994) desarrollaron un nuevo modelo de fermentación de cerveza, el cual se puede subdividir en un modelo de crecimiento, un modelo de aminoácidos y un modelo de sabor-aroma. Los resultados evidenciaron la capacidad de describir con precisión la dinámica de fermentación de cerveza por lotes.

3.3 Análisis de sensibilidad de modelos

El objetivo de un análisis de sensibilidad es evaluar la importancia relativa que las variables de entrada, las condiciones iniciales de las variables de estado y los parámetros del modelo tienen sobre la evolución en el tiempo de las variables de estado y las salidas (Saltelli *et al.*, 2000).

Para determinar los parámetros que más influyen en el comportamiento de un modelo y por consiguiente candidatos para ser estimados, se realiza un análisis de sensibilidad local, para lo cual, diferenciando las ecuaciones de estado respecto al vector de parámetros θ , y suponiendo que el vector de las variables de entrada no depende de θ , se tiene que:

$$\frac{\partial}{\partial t} \frac{\partial x}{\partial \theta} = \left. \frac{\partial f(x, u, \theta)}{\partial x} \right|_{x=x(t, \theta^0)} \frac{\partial x}{\partial \theta} + \left. \frac{\partial f(x, u, \theta)}{\partial \theta} \right|_{x=x(t, \theta^0)} \quad (3.3)$$

De donde resultan las ecuaciones de sensibilidad:

$$\frac{\partial S(t)}{\partial t} = \left. \frac{\partial f(x, u, \theta)}{\partial x} \right|_{x=x(t, \theta^0)} S(t) + \left. \frac{\partial f(x, u, \theta)}{\partial \theta} \right|_{x=x(t, \theta^0)} \quad (3.4)$$

Donde:

$$S(t) = S_{ij}(t) = \frac{\partial x_i(t, \theta^0)}{\partial \theta_j}; \quad i = 1, \dots, n; \quad j = 1, \dots, p. \quad (3.5)$$

O bien, definiendo:

$$A(t, \theta^0) = \frac{\partial f(x, u, \theta)}{\partial x} \Big|_{x=x(t, \theta^0)} \quad (3.6)$$

$$M(t, \theta^0) = \frac{\partial f(x, u, \theta)}{\partial \theta} \Big|_{x=x(t, \theta^0)} \quad (3.7)$$

Entonces, la ecuación de sensibilidad en forma matricial es:

$$\begin{matrix} \dot{S}(t) & = & A(t, \theta^0)S(t) & + & M(t, \theta^0) \\ nxp & & nxn & & nxp & & nxp \end{matrix} \quad (3.8)$$

Donde el número de ecuaciones de sensibilidad resultante es de $n \times p$.

Con fines de comparación entre parámetros, es posible calcular las sensibilidades relativas mediante la ecuación:

$$s_{ij}^r(t) = \theta^0 \frac{\partial x_i(t, \theta^0)}{\partial \theta_j} \quad \theta^0 \neq 0 \quad (3.9)$$

Dado que las sensibilidades son funciones variantes en el tiempo, puede calcularse la integral del valor absoluto de las sensibilidades relativas $S(t)$ en el periodo de fermentación:

$$I = \int_0^t |S| dt \quad (3.10)$$

Donde t es el tiempo final y 0 el tiempo inicial. La integral permite comparar de forma numérica los parámetros y determinar cuáles afectan en mayor medida el comportamiento del modelo.

3.4 Estimación de parámetros

Una de las fases del modelado consiste en la calibración o la estimación y ajuste de los parámetros característicos de un modelo (Rodríguez, 2002). Un parámetro es un valor numérico que no es calculado, ni tampoco una medición o variable de entrada observada. El objetivo de un método de estimación, es precisamente estimar los valores de los parámetros del modelo (θ) de una muestra de datos (Wallach *et al.*, 2006).

Algunos valores de los parámetros en un modelo pueden ser asignados por estudios basados en los principios físicos que rigen a los procesos involucrados, o bien, por medidas directas e indirectas realizadas en el sistema real, pero en algunos casos esto no es posible o resulta muy costoso. Por lo tanto, es necesario resolver el problema inverso, es decir, utilizar datos de entrada y salida medidos en sistemas reales para de esta forma ajustar los parámetros a estimar, de tal manera que los que los datos de salida del modelo se ajusten a los medidos.

El proceso de calibración debe llevarse a cabo mediante una técnica de optimización de forma que se minimice una función objetivo que mida o estime de alguna forma cómo se ajusta la salida del modelo a los datos reales (Wang citado por Rodríguez, 2002). Generalmente, se han utilizado técnicas de

optimización que minimizan el criterio de mínimos cuadrados ponderados como se indica en la ecuación 3.11:

$$J = \|X_{real} - X_{sim}\|^2 = \sum_{i=1}^n (X_{real,i} - X_{sim,i})^2 \quad (3.11)$$

Donde $X_{real} = (X_{real,1}, \dots, X_{real,n})$ es un conjunto de n medidas tomadas cada determinado tiempo y $X_{sim} = (X_{sim,1}, \dots, X_{sim,n})$ es el conjunto de las estimaciones del modelo implementado para los instantes n de tiempo.

La calidad de la parametrización de un modelo se cuantifica por varios índices estadísticos y se juzga por predicciones del modelo para otras condiciones experimentales. La cantidad básica para medir el ajuste entre el modelo y las observaciones es la diferencia entre ambas, denotada por:

$$D_i = Y_i - \hat{Y}_i \quad (3.12)$$

Donde Y_i es el valor medido para el caso i , $\hat{Y}_i$ corresponde al valor estimado por el modelo y D_i es el residual del modelo o error.

Una forma muy sencilla de resumir los valores para varios casos es calcular su promedio, también conocido como sesgo de modelo:

$$Bias = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N D_i \quad (3.13)$$

Donde N es el número total de casos.

Hay dos medidas clásicas de ajuste que eliminan el problema de compensación entre una sobre predicción y sub predicción. El primero y más ampliamente usado es el promedio del cuadrado del error definido como:

$$MSE = \left(\frac{1}{N}\right) \sum_{i=1}^N (D_i)^2 \quad (3.14)$$

O bien, frecuentemente es conveniente trabajar con la raíz cuadrada del MSE, llamada raíz del cuadrado medio del error:

$$RMSE = \sqrt{MSE} \quad (3.15)$$

La ventaja de la RMSE es que tiene las mismas unidades que la variable Y (variable dependiente) y además es más fácil de interpretar.

La segunda medida que eliminan el problema de compensación entre una sobre predicción y sub predicción es el promedio error absoluto:

$$MAE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |D_i| \quad (3.16)$$

Dentro de las medidas normalizadas se consideran las medidas de distancia las cuales tienen un límite inferior y/o límite superior. Estas medidas se interpretan de manera más fácil y pueden ser convenientes para comparar casos completamente diferentes (modelos diferentes, datos diferentes). Probablemente una de las medidas más usadas de este tipo es la eficiencia del modelo, definida como:

$$EF = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{\sum_{i=1}^N (Y_i - \bar{Y})^2} \quad (3.17)$$

El coeficiente de eficiencia es una medida de la desviación entre predicciones del modelo y mediciones en relación a la dispersión de los datos observados. $E = 1.0$ indica una perfecta concordancia entre resultados observados y de simulaciones.

Una segunda medida normalizada que es utilizada en algunas ocasiones es el coeficiente de correlación entre los valores medidos y calculados, y está definida por:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^N [(Y_i - \bar{Y})(\hat{Y}_i - \bar{\hat{Y}})]}{\sqrt{\sum_{i=1}^N (Y_i - \bar{Y})^2 \sum_{i=1}^N (\hat{Y}_i - \bar{\hat{Y}})^2}} \quad (3.18)$$

3.5 Algoritmos de optimización y calibración de modelos

La estimación de parámetros o calibración de un modelo es el proceso de alterar los parámetros para obtener un mejor ajuste entre datos simulados y medidos. Los parámetros seleccionados para la calibración son aquellos que son inciertos y afectan el comportamiento del modelo de manera importante. Existen diversos algoritmos para minimizar la función objetivo que mide o estima cómo se ajusta la salida de un modelo a datos reales, entre ellos se encuentra los algoritmos evolutivos y el método de mínimos cuadrados ordinarios.

3.5.1 Mínimos cuadrados no-lineales

El método más simple para estimar los parámetros de un modelo es mediante mínimos cuadrados ordinarios (OLS por sus siglas en inglés). Este método

permite estimar los parámetros θ minimizando la suma de las diferencias al cuadrado entre las mediciones y las predicciones del modelo:

$$Z_{OLS}(\theta) = \sum_{i=1}^N [y_i - f(x_i; \theta)]^2 \quad (3.19)$$

En el caso de modelos lineales es posible calcular analíticamente la estimación mediante mínimos cuadrados no lineales. La forma general de un modelo lineal es $f(x_i; \theta) = x_i^T \theta$ donde T es el operador matriz transpuesta. Para este tipo de modelo, el estimador OLS de θ es $\hat{\theta}_{OLS} = (X^T X)^{-1} X^T Y$ donde $Y = (y_1, \dots, y_N)^T$ y X es una matriz que incluye los valores medidos de las variables de entrada. Las líneas de X son $x_1^T, \dots, x_i^T, \dots, x_N^T$. $\hat{\theta}_{OLS}$ se relaciona con las observaciones Y a través de una función analítica simple. Esta función puede ser usada directamente para calcular los valores de los parámetros estimados a partir de los datos.

Lo anterior, generalmente es imposible cuando se trata de modelos no lineales, ya que los parámetros no pueden ser expresados como función de las observaciones. En este caso, considerando el modelo no lineal definido por $f(x_i; \theta)$. El objetivo es calcular el valor de θ que minimice $Z_{OLS}(\theta)$. A continuación se presenta el algoritmo utilizado para resolver este problema:

a) Definir un valor inicial para θ , denotado como $\hat{\theta}_0$.

b) Linealizar el modelo para remplazar el modelo no lineal por un modelo lineal, la expansión de Taylor se calcula como:

$$f(x; \theta) \approx f(x; \hat{\theta}_0) + \sum_{j=1}^p \left. \frac{\partial f(x; \theta)}{\partial \theta_j} \right|_{\hat{\theta}_0} (\theta_j - \hat{\theta}_{0j}) \quad (3.20)$$

Donde p es el número total de parámetros y $\left. \frac{\partial f(x; \theta)}{\partial \theta_j} \right|_{\hat{\theta}_0}$ es la derivada de $f(x; \theta)$ relativa al j -ésimo parámetro tomado de $\hat{\theta}_0$.

c) Calcular la estimación mediante cuadrados mínimos ordinarios de θ para el modelo lineal. Esta estimación se obtiene minimizando:

$$\sum_{i=1}^N \left\{ y_i - \left[f(x; \hat{\theta}_0) + \sum_{j=1}^p \left. \frac{\partial f(x; \theta)}{\partial \theta_j} \right|_{\hat{\theta}_0} (\theta_j - \hat{\theta}_{0j}) \right] \right\}^2 \quad (3.21)$$

Como ahora el modelo es lineal, puede ser derivada una expresión analítica para el estimador. Se obtiene $\hat{\theta}_1 = \hat{\theta}_0 + \Delta_0$, donde $\hat{\theta}_1$ son los nuevos parámetros estimados, $\Delta_0 = (F^T F)^{-1} F^T [Y - F]$, $F = [f(x_1; \hat{\theta}_0), \dots, f(x_N; \hat{\theta}_0)]^T$, y F es una matriz $(N \times p)$ cuyos elementos están definidos por $\left. \frac{\partial f(x; \theta)}{\partial \theta_j} \right|_{\hat{\theta}_0}$.

d) Reemplazar $\hat{\theta}_0$ por $\hat{\theta}_1$ y volver al paso a).

3.5.2 Evolución diferencial

Los algoritmos evolutivos (EA) son un método de cálculo computacional que utilizan un modelo de selección natural, estos trabajan con una población de soluciones potenciales a un problema, donde cada individuo dentro de la población representa una solución particular (Madar, 2005).

Los algoritmos de Evolución Diferencial (ED) son una variante de los algoritmos evolutivos propuesta por Storn y Price (1995). Los algoritmos de ED poseen muy buenas capacidades de exploración y explotación por sus operadores evolutivos y han mostrado que son significativamente rápidos y robustos para problemas de optimización numérica (Storn y Price, 1997).

Dentro de la ED, las variables se representan mediante números reales. La población inicial es generada aleatoriamente verificando que cada variable se genere dentro de los límites requeridos. Posteriormente, se selecciona aleatoriamente un individuo para reemplazo y se seleccionan 3 individuos como padres. Uno de los 3 padres seleccionados es el “padre principal”. Con alguna probabilidad, se cambia cada variable del padre principal, de tal forma que al menos una de sus variables sea modificada (Ruíz, 2009).

El cambio se efectúa agregando al valor de la variable una razón de la diferencia entre los dos valores de esta variable en los otros dos padres. En esencia, el vector del padre principal se perturba con el vector de los otros dos padres. Este proceso representa el equivalente de la cruce en ED. Si el valor resultante es mejor que el elegido para reemplazo, entonces lo reemplaza. De lo contrario, se retiene el vector elegido para reemplazo.

De acuerdo con Price *et al.* (2005), el “ED clásico” puede resumirse como sigue:

a. La población

$$P_{x,g} = (x_{i,g}), \quad i = 0, 1, \dots, Np - 1; \quad g = 0, 1, \dots, g_{\max} \quad (3.22)$$

$$\mathbf{x}_{i,g} = (x_{j,i,g}), \quad j = 0, 1, \dots, D - 1. \quad (3.23)$$

Donde Np denota el número de vectores o individuos de la población, g define el contador de generación, y D la dimensionalidad, es decir, el número de variables.

b. La inicialización de la población vía

$$\mathbf{x}_{j,i,0} = \text{rand}_j[0, 1)(\mathbf{b}_{j,U} - \mathbf{b}_{j,L}) + \mathbf{b}_{j,L} \quad (3.24)$$

Los vectores de inicialización D-dimensional, $\mathbf{b}_L$ y $\mathbf{b}_U$ indican los límites de los parámetros superior e inferior de los parámetros $\mathbf{x}_{i,j}$. El generador de números aleatorios $\text{rand}_j[0, 1)$, devuelve un número aleatorio uniformemente distribuido en el rango $\text{rand}_j[0, 1)$. El subíndice j indica que un nuevo valor aleatorio es generado para cada parámetro.

c. Una vez inicializado, el ED lleva a cabo la mutación y recombinación de la población para producir una población Np de vectores de prueba. La perturbación de un vector base $\mathbf{y}_{i,g}$ mediante el uso de mutación basado en diferencia vectorial.

$$\mathbf{v}_{i,g} = \mathbf{y}_{i,g} + F(\mathbf{x}_{r1,g} - \mathbf{x}_{r2,g}) \quad (3.25)$$

Para generar un vector perturbado $\mathbf{V}_{i,g}$. Los índices en la diferencia de vectores, $r1$ y $r2$ son elegidos aleatoriamente una vez por vector base. Estableciendo $\mathbf{y}_{i,g} = \mathbf{x}_{r0,g}$ se define lo que a menudo se denomina “ED clásico” donde el

vector base es también un vector población elegido aleatoriamente. Los índices aleatorios $r0$, $r1$ y $r2$ deberán ser mutuamente excluyentes.

d. Mejoramiento de la diversidad. La variante clásica de mejoramiento de la diversidad es el cruzamiento que mezcla parámetros del vector perturbado $\mathbf{v}_{i,g}$ y el llamado objetivo $\mathbf{x}_{i,g}$ para generar el vector prueba $\mathbf{u}_{i,g}$. La forma más común de cruzamiento es el uniforme y se define como:

$$\mathbf{u}_{i,g} = \mathbf{u}_{j,i,g} = \begin{cases} v_{j,i,g} & \text{si } \text{rand}_j[0, 1) \leq Cr \text{ o } j = j_{\text{rand}} \\ x_{j,i,g} & \text{de lo contrario} \end{cases} \quad (3.26)$$

Para prevenir el caso $\mathbf{u}_{i,g} = \mathbf{x}_{j,i,g}$ al menos un componente es tomado como vector perturbado $\mathbf{v}_{i,g}$, aleatoriamente es elegido el parámetro de prueba con índice $j = j_{\text{rand}}$.

La probabilidad de cruzamiento $CR \in [0, 1]$, es un vector definido por el usuario que controla la fracción de valores de los parámetros que son copiados desde el perturbado.

e. Selección. El Ed usa la selección del sobreviviente uno-a-uno donde el vector de prueba $\mathbf{u}_{i,g}$ compite contra el vector objetivo $\mathbf{x}_{i,g}$. El valor con más bajo valor de la función objetivo sobrevive pasando a formar parte de la siguiente generación $g+1$.

$$\mathbf{x}_{i,g+1} = \begin{cases} \mathbf{u}_{i,g} & \text{si } f(\mathbf{u}_{i,g}) \leq f(\mathbf{x}_{i,g}) \\ \mathbf{x}_{i,g} & \text{de lo contrario} \end{cases} \quad (3.27)$$

Los algoritmos de ED comúnmente son clasificados usando la notación definida por “DE/x/y/z”, donde “x” denota el vector base, “y” el número de diferencia de vectores usados, y “z” representa el método de la cruza. El caso “DE clásico” es el utilizado más frecuentemente en la práctica y se denota por “DE/rand/1/bin”.

Capítulo 4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Descripción del experimento

4.1.1. Elaboración del mosto

Para esta fase se utilizó extracto de malta en polvo, con la finalidad de evitar todo el proceso anterior en la producción de cerveza e ir directamente a la preparación del mosto. Para realizar lo anterior se calentaron 10 L de agua hasta llegar al punto de ebullición, en ese momento; se agregaron 2 kg de malta en polvo y 10 L más de agua, para así obtener una relación de un 1 kg de malta por cada litro de agua. Posteriormente, se llevó la mezcla al punto de ebullición nuevamente y se mantuvo a esta temperatura durante los siguientes 55 min. Durante este intervalo de tiempo se agregó lúpulo (*Humulus lupulus*, var. cascade) en dos ocasiones, la primera a los 15 min después de haber alcanzado la temperatura de ebullición y la segunda 25 min después de la primera aplicación.

Una vez realizado el proceso anterior, se enfrió el mosto hasta llegar a temperatura ambiente y a continuación se filtraron todos los restos de lúpulo e impurezas para iniciar la puesta en marcha del experimento.

4.1.2 Condiciones de operación

Dado que la cerveza artesanal lleva a cabo su fermentación en un rango de 17-24 °C (López, 2007) y el experimento se realizó a temperatura constante, se decidió trabajar con una temperatura de 21 °C, por lo cual, se acondicionaron 14 fermentadores de 0.5 L, a los cuales se les agregaron 0.4 L de mosto y posteriormente fueron llevados a la temperatura de 21 °C.

En el proceso de fermentación se utilizó una levadura seca tipo ale (*Saccharomyces cerevisiae*). Para este tipo de levadura se recomienda agregar aproximadamente 0.5 g/L (FERMENTIS, 2012), por lo que a cada unidad experimental le fueron adicionados 0.2 gramos. La levadura fue sembrada directamente en cada uno de los fermentadores, cerciorándose que la temperatura del mosto estuviera a 21 °C.

Los fermentadores se dejaron en reposo por 30 min y luego se mezclaron agitándolos lentamente con el fin de distribuir la levadura y airear el mosto. Después, cada fermentador fue acondicionado con un tapón de goma y un airlock que permitiera la salida de gases durante la fermentación (Figura 4.1).



Fig. 4.1. Fermentador acondicionado.

Como el proceso se realizó a temperatura constante fue necesario el uso de una incubadora, la cual fue acondicionada un día antes de iniciar el experimento para que mantuviera una temperatura de 21 °C. Finalmente, todos los fermentadores fueron acomodados dentro de la incubadora como se muestra en la Figura 4.2.



Fig. 4.2. Unidades experimentales dentro de la incubadora.

4.1.3 Adquisición de datos

Como el modelo utilizado fue el propuesto por Gee y Ramirez (1988), las variables medidas durante la fermentación fueron: concentración de glucosa, maltosa, maltotriosa, biomasa y etanol. La biomasa fue estimada como la suma de levaduras vivas y muertas en el fermentador. La variable temperatura del modelo no fue considerada debido a que el experimento fue realizado a temperatura constante de 21 °C.

Las condiciones iniciales para las variables de estado fueron determinadas al momento de colocar la levadura en los fermentadores, conociendo que en la

hora cero, la concentración de etanol presente era de 0 mol/m^3 y la cantidad de biomasa de 19.3 mol/m^3 . Para determinar las concentraciones iniciales de glucosa, maltosa y maltotriosa, se guardó una muestra del producto sin fermentar, a la cual no se le agregó levadura y se colocó en congelamiento para su posterior análisis. Los tiempos de medición fueron determinados de acuerdo a la dinámica del proceso de fermentación, el cual presenta una mayor variación durante los primeros días. Por lo anterior, las mediciones se realizaron al principio cada 6 horas, después cada 12 y aproximadamente del día 5 en adelante, se realizaron cada 24 h, debido a que el proceso presentaba una mayor estabilidad.

En cada medición realizada, se tomó una unidad experimental para su análisis, la cual era agitada para homogenizar la muestra (Figura 4.3). De cada fermentador lo primero que se realizó, fue guardar 40 mL de muestra en un tubo de ensayo y colocarlo inmediatamente en congelación. (Figura 4.4).



Fig. 4.3. Unidad experimental agitada.

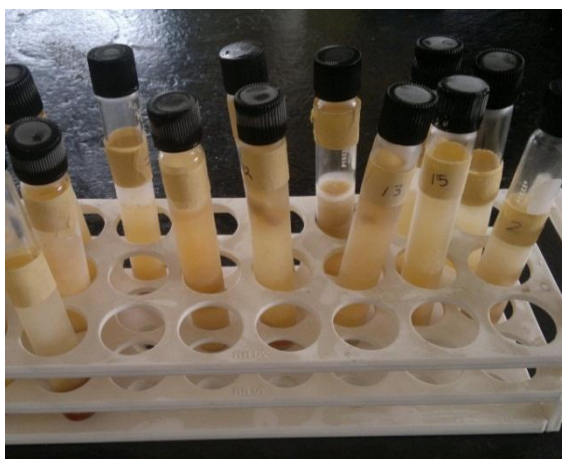


Fig. 4.4. Muestras congeladas de cada unidad experimental.

4.1.3.1 Concentración de glucosa, maltosa y maltotriosa

De las muestras congeladas se eligieron las más representativas dentro del proceso de fermentación, en base al comportamiento de etanol y biomasa medidos con respecto al tiempo. Las muestras seleccionadas fueron enviadas al laboratorio de cromatografía del Instituto de química de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) para la determinación de las concentraciones de glucosa, maltosa y maltotriosa (Anexo A).

4.1.3.2 Concentración de etanol

Para obtener la concentración de etanol (Anexo A), se extrajeron 100 mL de muestra, los cuales se montaron en un equipo de destilación (Figura 4.5). La muestra se calentó hasta que se evaporó aproximadamente un 60% de la cantidad contenida en el matraz, posteriormente el producto evaporado se mezcló con agua destilada hasta alcanzar nuevamente una muestra de 100 mL. A partir del producto destilado se llevó a cabo el procedimiento de

determinación de alcohol mediante diferencia de densidad con la ayuda de un picnómetro y una balanza de precisión.

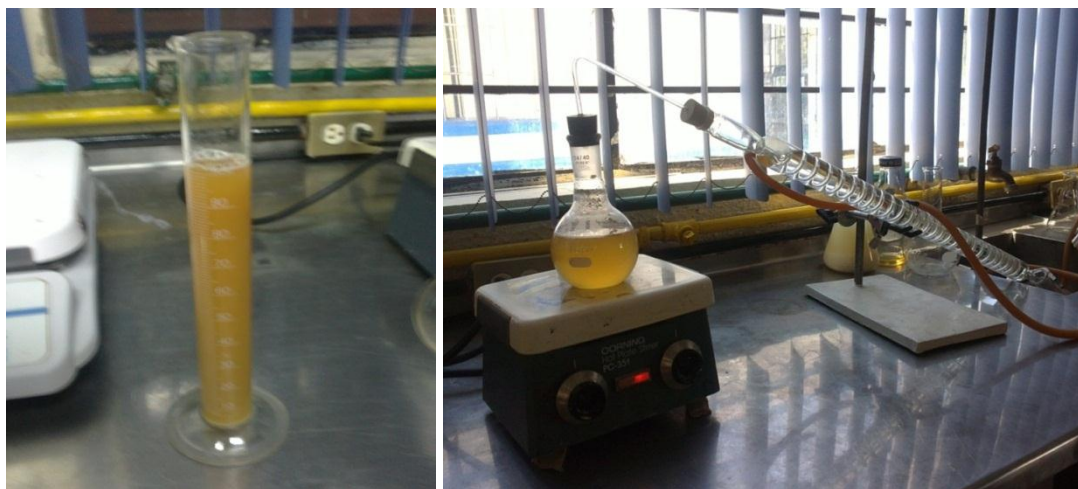


Fig. 4.5. Muestra de 100 mL y equipo de destilación.

Para determinar el contenido de etanol mediante el uso del picnómetro y la balanza de precisión, se utilizó la ecuación 4.1:

$$d = \left(\frac{M_3 - M_1}{M_2 - M_1} \right) d_{H_2O} \quad (4.1)$$

Donde d es la densidad de la muestra destilada a 20 °C (g/mL), M_1 es la masa del picnómetro vacío (perfectamente seco) (g), M_2 es la masa del picnómetro lleno de agua destilada (g), M_3 es la masa del picnómetro lleno con la muestra destilada (g) y d_{H_2O} es la densidad del agua a 20 °C.

Debido a que la ecuación (4.1) da como resultado la densidad de la muestra destilada, se hizo uso de valores tabulados por Vogt (1972) para poder transformar las unidades a gramos de alcohol por litro (g/L). Sin embargo, el modelo matemático considera la concentración de etanol en mol/m³, por lo que

la concentración se multiplicó por un factor de (1000/peso molecular del etanol) donde el peso molecular del etanol es de 46.069 g/mol (Doran, 2003) y de esta forma obtener la concentración de etanol en las unidades deseadas.

4.1.3.3 Concentración de biomasa

La concentración de biomasa (Anexo A), fue determinada mediante conteo de células al microscopio, para esto, se tomó una muestra de 40 mL de la unidad experimental y se colocó en un tubo de ensayo. Para poder tener una medición más exacta, la muestra tomada fue homogeneizada mediante un agitador tipo vórtex (Figura 4.6). De esta manera las levaduras tenían una mejor distribución.



Fig. 4.6 Agitador tipo vórtex.

Para el conteo de levaduras al microscopio, se utilizó una cámara Neubauer con las siguientes especificaciones (Fig. 4.7):

- Cuadro grande central (formado por 400 cuadros pequeños): 1mm
- Cuadro mediano (formado por 16 cuadros pequeños): 0.2 mm x 0.2 mm
- Cuadro pequeño: 0.05 mm x 0.05 mm = 0.0025 mm²
- Líneas separadoras de cuadros medianos (en rojo): 0.025 mm

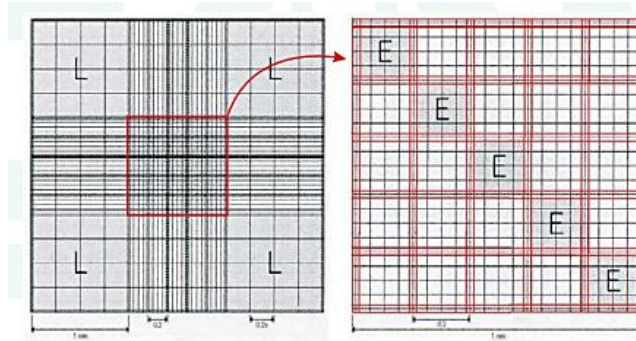


Fig. 4.7. Cámara Neubauer (Figura tomada de GAB, 2012).

En la preparación de la cámara, fue utilizada una pipeta para tomar una porción del líquido contenido en el tubo de ensayo y colocarla en la ranura formada por la cámara y el cubreobjetos para distribuir la muestra por capilaridad.

El enfoque del microscopio se inició con el objetivo de menor aumento, y se fue eligiendo uno mayor hasta enfocar el centro teórico de la cruz de la cámara. Después se colocó el objetivo lo más cerca posible del cubreobjetos pero sin tocarlo y posteriormente se fue ajustando hasta que se logró la imagen lo más clara y nítida posible (Figura 4.8).

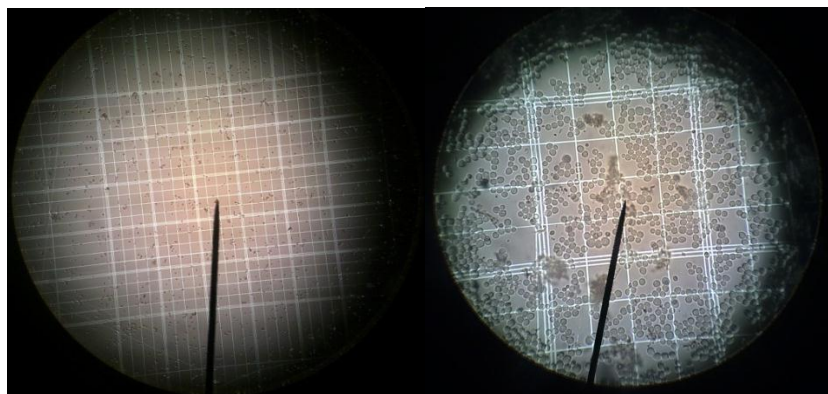


Fig. 4.8 Enfoque de la cámara de Neubauer con microscopio.

Para el conteo de levaduras, fueron utilizados cinco cuadros medianos, los cuatro de la esquina y el que se encuentra en el centro (Figura 4.9). Se contaron las levaduras totales contenidas dentro de cada uno de los cinco cuadros de manera directa (Figura 4.9), respetando la convención sugerida por GAB (2012), por la cual si las células tocan el límite superior o el límite izquierdo del cuadro deben contabilizarse; sin embargo, las que tocan el límite inferior o el límite derecho no deben ser tomadas en cuenta (Figura 4.10).

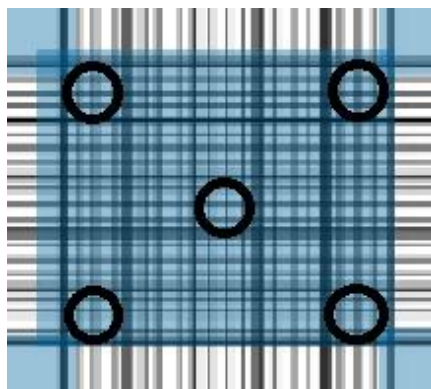


Fig. 4.9. Cuadros utilizados en el conteo de levaduras (Figura tomada de Celeromics, 2012).

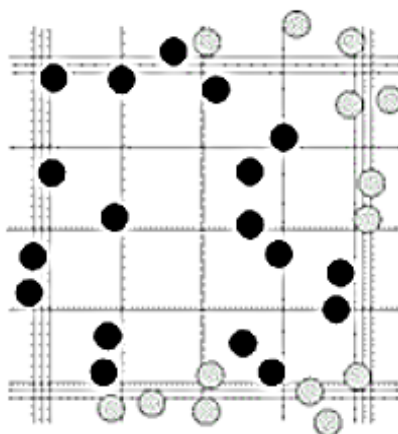


Fig. 4.10. Convención para el conteo de células mediante una cámara Neubauer (Figura tomada de Celeromics, 2012)..

Una vez que fueron contadas las levaduras en los cinco cuadros elegidos, al total se le determinó la media, es decir, el número total de levaduras contadas se dividió entre cinco (número de cuadro medianos utilizados). Al haber obtenido la media, se aplicó la ecuación 4.2:

$$\left(\frac{X}{Y}\right) \left(\frac{\# \text{ de cuadros de la cámara}}{\text{Volumen de la cámara}}\right) \left(\frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ mL}}\right) = \# \text{ de Levaduras/mL} \quad (4.2)$$

Donde X es el número promedio de levaduras contadas, Y es el número de cuadros pequeños contenidos en un cuadro mediano (16 para la cámara Neubauer), # de cuadros de la cámara es el total de cuadro pequeños (400), el volumen de la cámara es 0.1 mm^3 , y todo esto multiplicado por el factor de conversión que aparece en la ecuación para arrojar el resultado en # de levaduras/mL.

Debido a que la concentración de biomasa en el modelo matemático utilizado está dada en (mol/m^3) , fue necesario realizar la conversión de unidades, para esto se tomaron 0.5 g de la levadura seca y se diluyeron en 1 L de agua destilada. De la dilución (0.5 g/L) se tomó una muestra y se realizó el conteo de levaduras al microscopio, dando como resultado una concentración de 65 000 células/mL. Entonces, el resultado obtenido en la ecuación 4.2 en cada medición fue multiplicado por un factor de $\left(\frac{0.2 \frac{\text{g}}{\text{L}}}{65\,000 \frac{\text{células}}{\text{mL}}}\right) (1000)$ para obtener la concentración de biomasa en $\left(\frac{\text{g}}{\text{m}^3}\right)$, el cual finalmente se dividió entre el peso molecular de la biomasa que se consideró igual a 25.9 g/mol (Doran, 2003). De esta forma, se obtuvo la concentración de biomasa en unidades de (mol/m^3) .

4.2 Descripción del modelo matemático

Engasser (1981) desarrolló un modelo matemático del proceso de fermentación de cerveza, que fue modificado por Gee y Ramirez (1988) para incluir los efectos de la temperatura en dicho proceso. En esta investigación no se consideró la variable de estado temperatura debido a que el proceso se llevó a cabo a temperatura constante. En este modelo se asume que el medio de fermentación contiene tres azúcares, maltosa, glucosa y maltotriosa. Las tasas de cambio de los tres azúcares (variables de estado) se calculan mediante tres ecuaciones diferenciales:

Glucosa:

$$\frac{dG}{dt} = -\mu_1(G)X \quad (4.3)$$

Maltosa:

$$\frac{dM}{dt} = -\mu_2(M, G)X \quad (4.4)$$

Maltotriosa:

$$\frac{dN}{dt} = -\mu_3(N, M, G)X \quad (4.5)$$

Donde:

$$\mu_1(G) = \frac{V_G G}{K_G + G} \quad (4.6)$$

$$\mu_2(M, G) = \frac{V_M M}{K_M + M} \frac{K'_G}{K'_G + G} \quad (4.7)$$

$$\mu_3(N, M, G) = \frac{V_N N}{K_N + N} \frac{K'_G}{K'_G + G} \frac{K'_M}{K'_M + M} \quad (4.8)$$

Y:

G = Concentración de glucosa, mol/m³

M = Concentración de maltosa, mol/m³

N = Concentración de maltotriosa, mol/m³

X = Concentración de biomasa, mol/m³

μ_i = Tasa específica de absorción de azúcar, h⁻¹

V_i = Velocidad de reacción máxima para el azúcar ($i = G, M, \text{ o } N$), h⁻¹

K_i = Constante de Michaelis para el azúcar ($i = G, M, \text{ o } N$), mol/m³

K'_i = Constante de inhibición para el azúcar ($i = G \text{ o } M$)

Otra modificación realizada al modelo por Gee y Ramirez (1988), consistió en que las tasas de producción de biomasa y etanol fueron relacionadas proporcionalmente a las captaciones de las azúcares individuales por coeficientes de rendimiento constante (Cuadro 4.1). Las expresiones resultantes fueron integradas para dar como resultado las siguientes ecuaciones algebraicas para concentraciones de biomasa y etanol, respectivamente:

$$X(t) = X(t_0) + R_{X_G}[G(t_0) - G(t)] + R_{X_M}[M(t_0) - M(t)] + R_{X_N}[N(t_0) - N(t)] \quad (4.9)$$

$$E(t) = R_{E_G}[G(t_0) - G(t)] + R_{E_M}[M(t_0) - M(t)] + R_{E_N}[N(t_0) - N(t)] \quad (4.10)$$

Donde:

R_{X_i} = Rendimiento estequiométrico de la biomasa por mol de azúcar reaccionado, $i = G, M$, o N , que se asume constante.

R_{E_i} = Rendimiento estequiométrico de etanol por mol de azúcar reaccionado, $i = G, M$, o N , que se asume constante.

Cuadro 4.1. Valores de los rendimientos estequiométricos para el modelo de Gee y Ramirez (1988).

Azúcar	R_{E_i}	R_{X_i}
Glucosa (G)	1.92	0.134
Maltosa (M)	3.84	0.268
Maltotriosa (N)	5.76	0.402

En el ejemplo mostrado por Gee y Ramirez (1988) para la simulación del proceso de fermentación se utilizaron las condiciones iniciales del Cuadro 4.2, con lo valores de los parámetros cinéticos (Cuadro 4.3) correspondiente a una temperatura de fermentación de 8 °C.

Cuadro 4.2. Condiciones iniciales del modelo utilizadas por Gee y Ramirez (1988).

Variable	Condición inicial
Glucosa	70 (mol/m ³)
Maltosa	220 (mol/m ³)
Maltotriosa	40 (mol/m ³)
Biomasa	185 (mol/m ³)

Cuadro 4.3. Parámetros cinéticos del modelo para diferentes temperaturas (Gee y Ramirez, 1988).

Parámetros	Temperatura de fermentación			
	4 °C	8 °C	12 °C	16 °C
V_G (h^{-1})	0.0048	0.013	0.015	0.0302
V_M (h^{-1})	0.0144	0.0268	0.028	0.0364
V_N (h^{-1})	0.087	0.113	0.013	0.151
K_G (mol/m^3)	23.5	4.7	1.8	0.102
K_M (mol/m^3)	1 100	814	610	360
K_N (mol/m^3)	10 900	7 160	4 460	2 410
K'_G (mol/m^3)	123	182	240	262
K'_M (mol/m^3)	2 090	6 360	8 010	17 500

4.3 Implementación del modelo

La implementación del modelo se llevó a cabo en MATLAB-SIMULINK y el código aparece en el Anexo C. La implementación consta de un programa principal (home_beer.m) donde se definen las condiciones iniciales, el tiempo de simulación y los parámetros del modelo para una temperatura de 8 °C, esto con el fin de reproducir el ejemplo mostrado por Gee y Ramirez (1988) y corroborar que la programación se realizó de manera correcta. Adicionalmente, se cuenta con un archivo SIMULINK donde se implementa el modelo (homebeer.mdl), en el cual se definen las variables de estado (glucosa, maltosa y maltotriosa), la ecuación auxiliar (biomasa) y la ecuación de salida (etanol). El programa principal llama al modelo simulink (archivo .mdl) que contiene el modelo matemático. Para integrar el modelo se utilizó el algoritmo de Dormand-

Prince el cual está programado en la función ode45.m de Matlab. Este método utiliza un tamaño de paso de integración (Δt) variable. Se utilizó una tolerancia relativa de 1×10^{-8} .

4.4 Análisis de sensibilidad del modelo

Las sensibilidades relativas (ecuación 3.9) de los estados respecto a cada uno de los parámetros se obtuvieron gráficamente resolviendo de forma numérica las ecuaciones de sensibilidad programadas mediante la implementación de un código en MATLAB-SIMULINK, para esto se utilizaron las matrices **A** y **M**, las cuales fueron sustituidas en la ecuación matricial (3.8) y de esta manera obtener las ecuaciones de sensibilidad en la forma:

$$\frac{dS_{ij}}{dt} = a_{ii}S_{ij} + m_{ij}; \quad \text{donde} \quad i = 1, \dots, 3; \quad j = 1, \dots, 8. \quad (4.11)$$

Las estructuras de las matrices **A** y **M** son las siguientes:

$$A(t, \theta^0) = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial G} & \frac{\partial f_1}{\partial M} & \frac{\partial f_1}{\partial N} \\ \frac{\partial f_2}{\partial G} & \frac{\partial f_2}{\partial M} & \frac{\partial f_2}{\partial N} \\ \frac{\partial f_3}{\partial G} & \frac{\partial f_3}{\partial M} & \frac{\partial f_3}{\partial N} \end{bmatrix} \quad (4.12)$$

$$M(t, \theta^0) = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial V_G} & \frac{\partial f_1}{\partial V_M} & \frac{\partial f_1}{\partial V_N} & \frac{\partial f_1}{\partial K_G} & \frac{\partial f_1}{\partial K_M} & \frac{\partial f_1}{\partial K_N} & \frac{\partial f_1}{\partial K'_G} & \frac{\partial f_1}{\partial K'_M} \\ \frac{\partial f_2}{\partial V_G} & \frac{\partial f_2}{\partial V_M} & \frac{\partial f_2}{\partial V_N} & \frac{\partial f_2}{\partial K_G} & \frac{\partial f_2}{\partial K_M} & \frac{\partial f_2}{\partial K_N} & \frac{\partial f_2}{\partial K'_G} & \frac{\partial f_2}{\partial K'_M} \\ \frac{\partial f_3}{\partial V_G} & \frac{\partial f_3}{\partial V_M} & \frac{\partial f_3}{\partial V_N} & \frac{\partial f_3}{\partial K_G} & \frac{\partial f_3}{\partial K_M} & \frac{\partial f_3}{\partial K_N} & \frac{\partial f_3}{\partial K'_G} & \frac{\partial f_3}{\partial K'_M} \end{bmatrix} \quad (4.13)$$

Donde:

$$f_1 = -\left(\frac{V_G G}{K_G + G}\right)X \quad (4.14)$$

$$f_2 = -\left(\frac{V_M M}{K_M + M} \frac{K'_G}{K'_G + G}\right)X \quad (4.15)$$

$$f_3 = -\left(\frac{V_N N}{K_N + N} \frac{K'_G}{K'_G + G} \frac{K'_M}{K'_M + M}\right)X \quad (4.16)$$

Tanto los elementos de las matrices **A** y **M** como las ecuaciones de sensibilidad, se muestran en anexo B.

Para poder conocer la importancia relativa de los parámetros con respecto a cada uno de los estados en forma numérica, se realizó la integración de las gráficas de análisis de sensibilidad mediante la función trapz de Matlab (ecuación 3.10).

4.5 Calibración del modelo

En la calibración del modelo se tomaron en cuenta las mediciones obtenidas de las variables de estado (Glucosa, Maltosa y Maltotriosa) y la variable de salida (Etanol). Las concentraciones que se obtuvieron de biomasa no se utilizaron en este proceso, debido a que las mediciones no fueron muy confiables.

Para llevar a cabo la calibración del modelo se planteó un problema de optimización, usando el procedimiento de mínimos cuadrados no lineales para estimar los valores de los parámetros de mayor importancia, los cuales fueron seleccionados previamente mediante el análisis de sensibilidad. El algoritmo de

optimización utilizado permitió aproximar lo más posible las predicciones del modelo a las mediciones. La función a minimizar fue:

$$F(\theta) = \sum_{i=1}^X \left((G_{est_i} - G_{obs_i})^2 + (M_{est_i} - M_{obs_i})^2 + (N_{est_i} - N_{obs_i})^2 + 0.21(E_{est_i} - E_{obs_i})^2 \right) \quad (4.17)$$

Donde θ es un vector que contiene los parámetros a estimar, X es el número de mediciones de Glucosa (G), Maltosa (M), Maltotriosa (N) y Etanol (E), 0.21 es un factor de escala, el subíndice *est* indica el valor estimado y el subíndice *obs* indica el valor observado. El problema de optimización se resolvió mediante la rutina *lsqnonlin* del *Optimization toolbox* de Matlab, utilizando el algoritmo “trust-region-reflective”.

Con fines de comparación, la estimación de parámetros también fue realizada mediante el algoritmo de evolución diferencial, en donde se utilizó la estrategia clásica “DE/rand/1/bin”, con una probabilidad de cruzamiento $CR = 0.2$, factor de variación diferencial $F = 0.9$, tamaño de la población igual $NP = 10 \times n$ donde n es el número de parámetros a estimar, con una precisión de convergencia de la población 1×10^{-8} y número máximo de generaciones de 50. Las estadísticas de ajuste utilizadas para evaluar el desempeño del modelo con los parámetros estimados en la calibración fueron: el error cuadrático medio (*RMSE*), el error absoluto (*MAE*), el sesgo (*BIAS*), la eficiencia (*EF*) y el coeficiente de correlación (r).

Capítulo 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Simulaciones preliminares

En la Figura 5.1 se muestra la dinámica de la concentración de cada una de las variables de estado con respecto al tiempo de fermentación. Las condiciones iniciales (Cuadro 4.2) y el tiempo de simulación utilizados fueron los mismos que los usados por Gee y Ramirez (1988), los valores de los parámetros cinéticos son los correspondientes a una temperatura de 8 °C (Cuadro 4.3). En las Figuras 5.2 y 5.3 se muestran las dinámicas de concentración de etanol y biomasa con respecto al tiempo de fermentación, respectivamente.

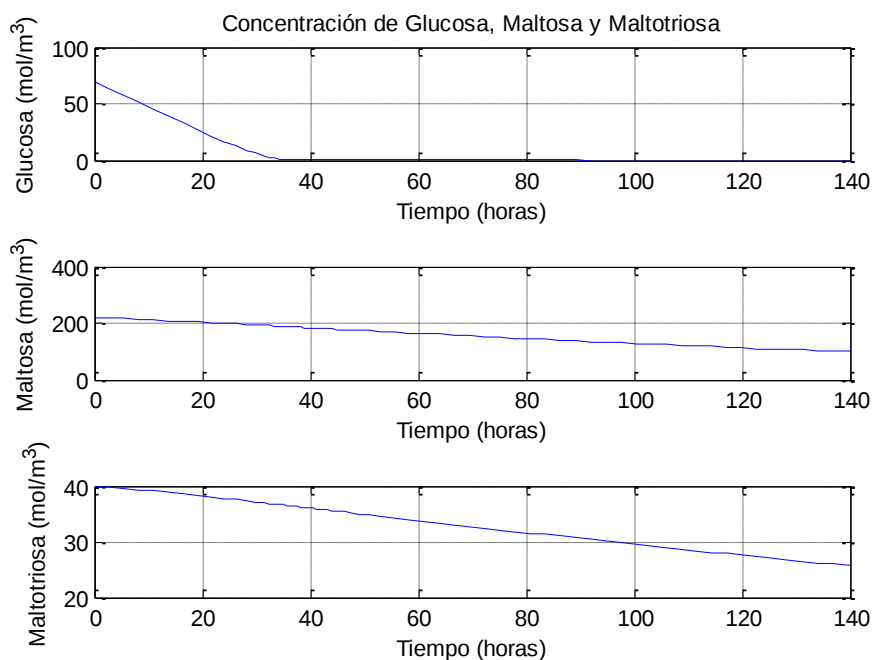


Fig. 5.1. Concentración de las variables de estado G , M y N con respecto al tiempo de fermentación.

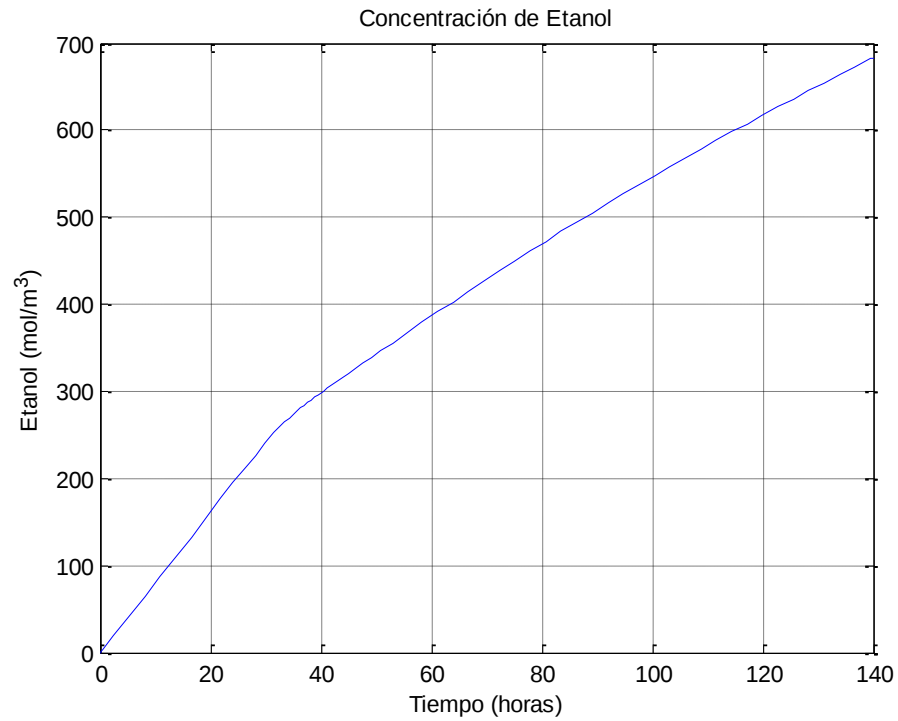


Fig. 5.2. Concentración de etanol (E) con respecto al tiempo de fermentación.

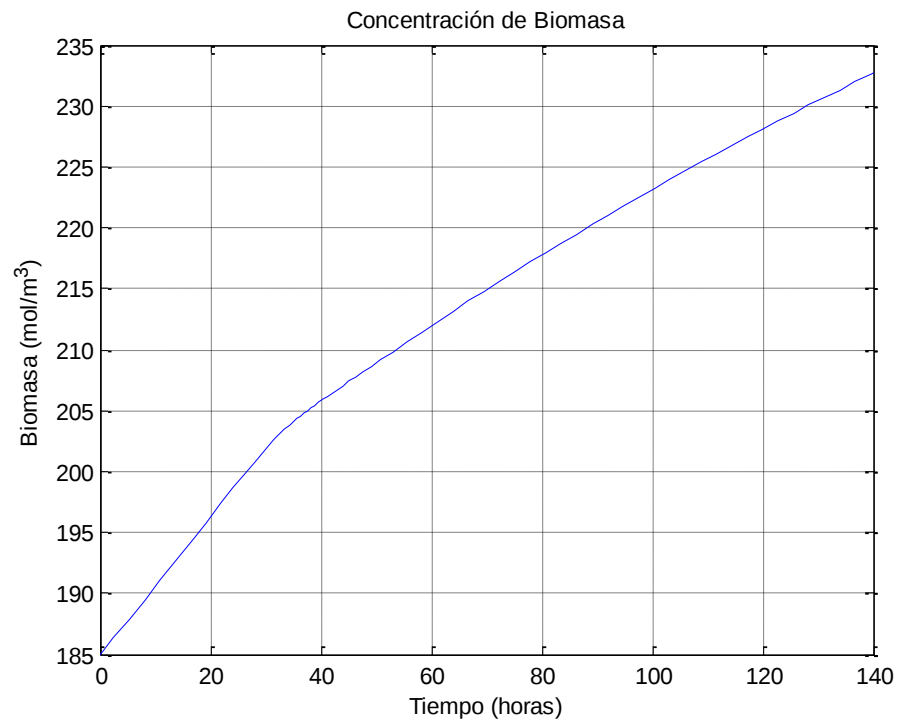


Fig. 5.3. Concentración de biomasa (X) con respecto al tiempo de fermentación

En la Figura 5.4 se muestra la comparación entre los valores medidos y los valores simulados para la concentración de las variables de estado (G , M y N) con respecto al tiempo de fermentación. Las condiciones iniciales utilizadas para la simulación fueron las del experimento (Anexo A). Debido a que el proceso de fermentación se realizó a una temperatura de 21 °C, se utilizó los parámetros cinéticos correspondientes a la temperatura de 16 °C (Cuadro 4.3), esto con la finalidad de tener una mayor semejanza entre los valores simulados y los medidos. De la misma manera, en las Figura 5.5 y 5.6 se muestran las dinámicas de las concentraciones simuladas y medidas de etanol y biomasa con respecto al tiempo de fermentación, respectivamente.

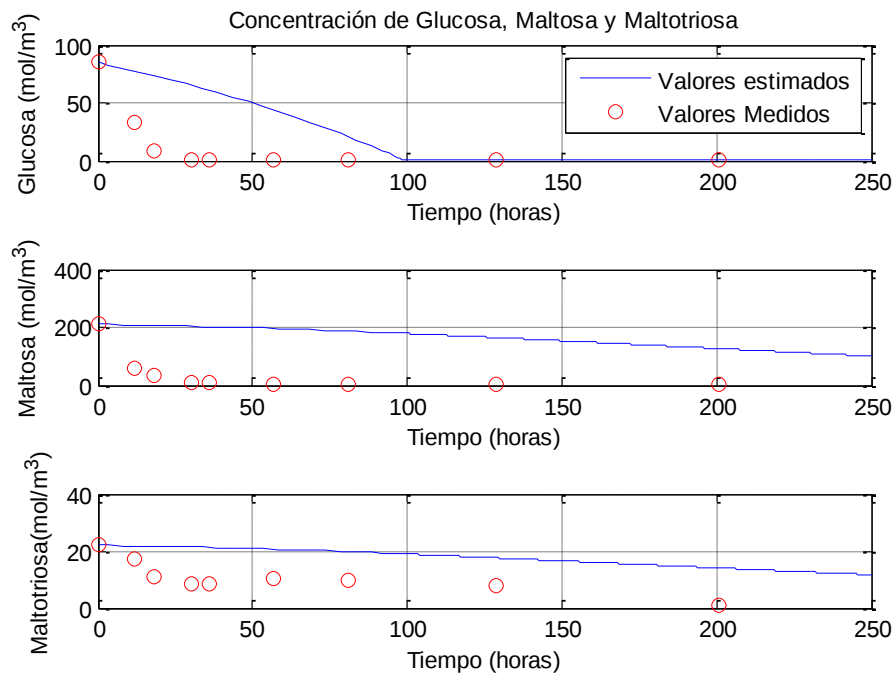


Fig. 5.4. Comparación entre predicciones y mediciones de la concentración de las variables de estado G , M y N con respecto al tiempo de fermentación.

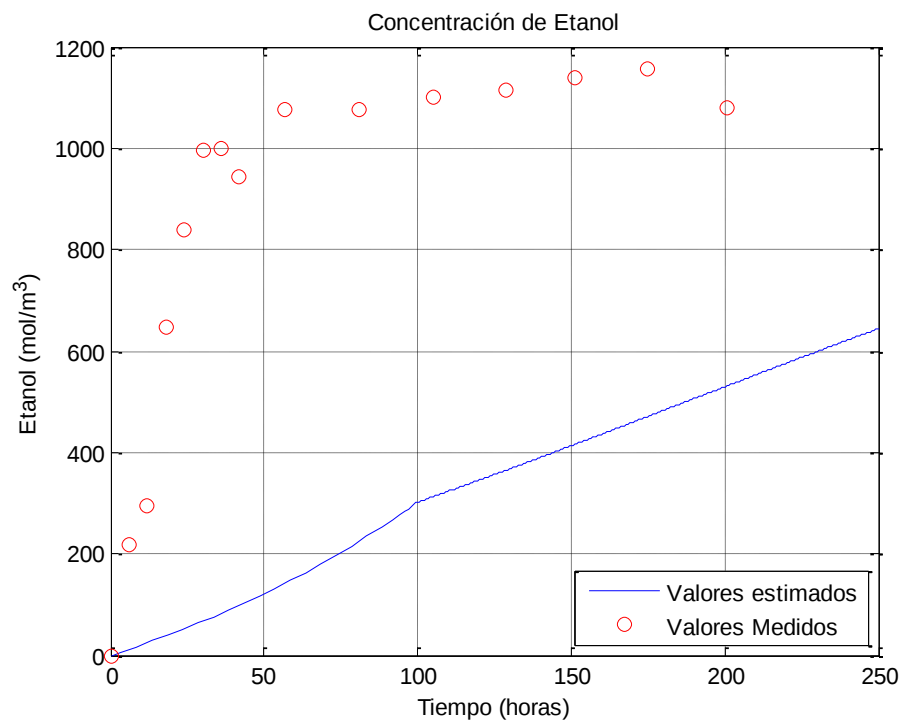


Fig. 5.5. Comparación entre predicciones y mediciones de la concentración de etanol (E) con respecto al tiempo de fermentación.

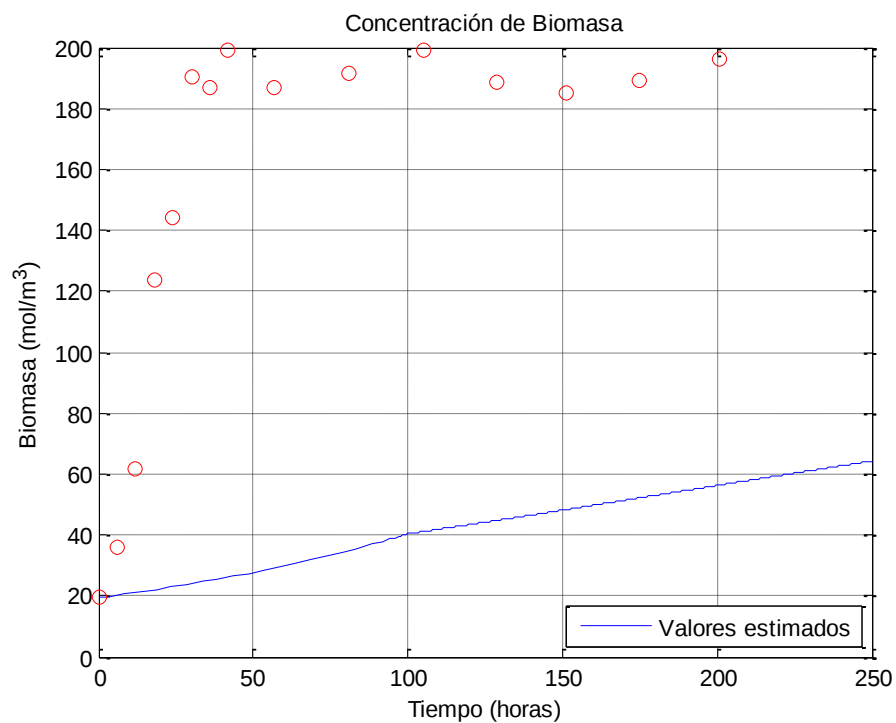


Fig. 5.6. Comparación entre predicciones y mediciones de la concentración de biomasa (X) con respecto al tiempo de fermentación.

Como puede observarse en las Figuras 5.4 a 5.6, las predicciones del modelo con los valores de los parámetros para una temperatura de 16 °C, reproduce la dinámica del comportamiento de las variables modeladas; sin embargo, los valores medidos y los simulados difieren de manera importante, por cual fue necesario realizar la estimación de los parámetros (calibración del modelo) seleccionados mediante el análisis de sensibilidad descrito en la metodología.

5.2 Análisis de sensibilidad

En las Figuras (5.7) a (5.14) se muestran las sensibilidades relativas de los estados glucosa (G), maltosa (M) y maltotriosa (N), con respecto a cada uno de los parámetros. Si el valor absoluto de la sensibilidad relativa es mayor que cero, indica que el modelo es sensible a un cambio pequeño del parámetro respectivo.

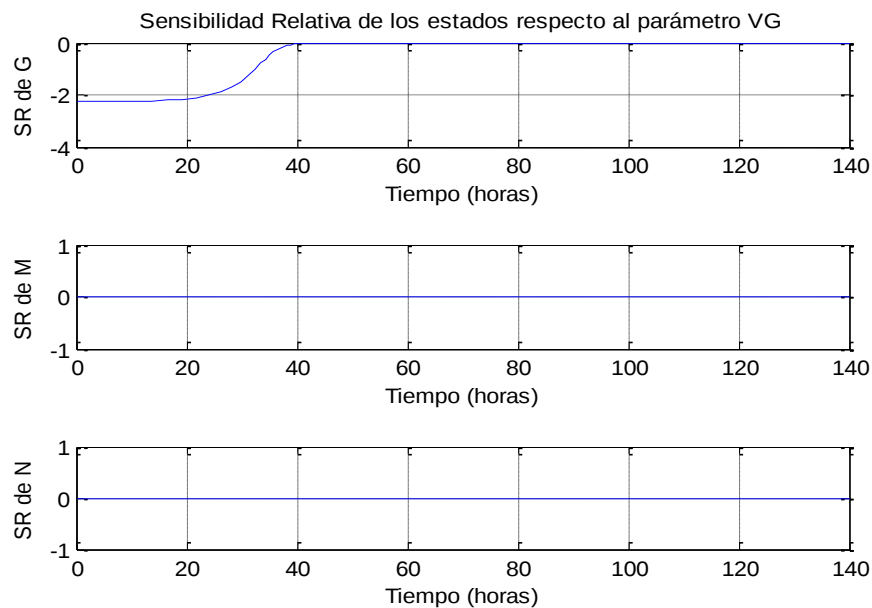


Fig. 5.7. Sensibilidad relativa de las variables de estado G, M y N con respecto a la velocidad de reacción máxima para la glucosa (V_G).

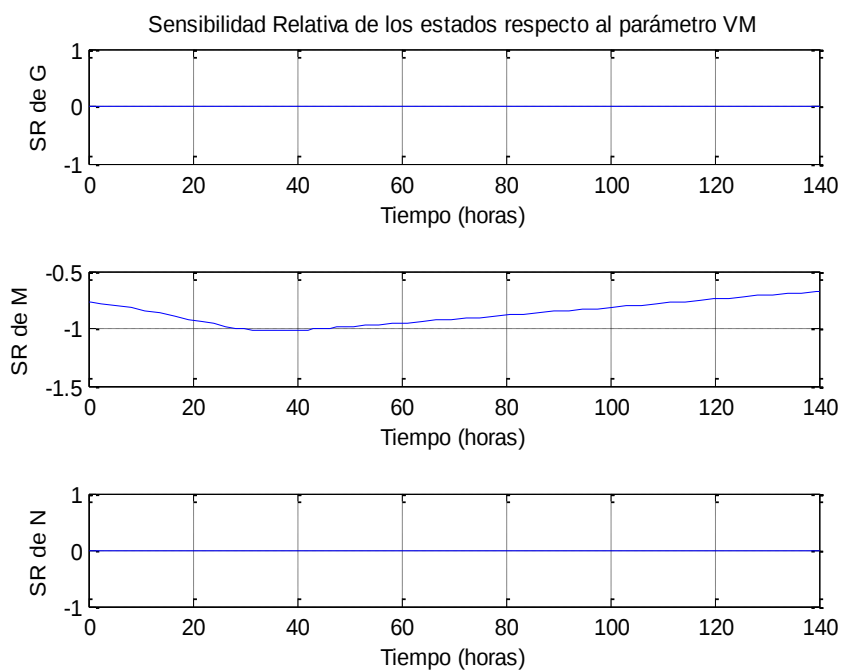


Fig. 5.8 Sensibilidad relativa de las variables de estado G , M y N con respecto a la velocidad de reacción máxima para la maltosa (V_M).

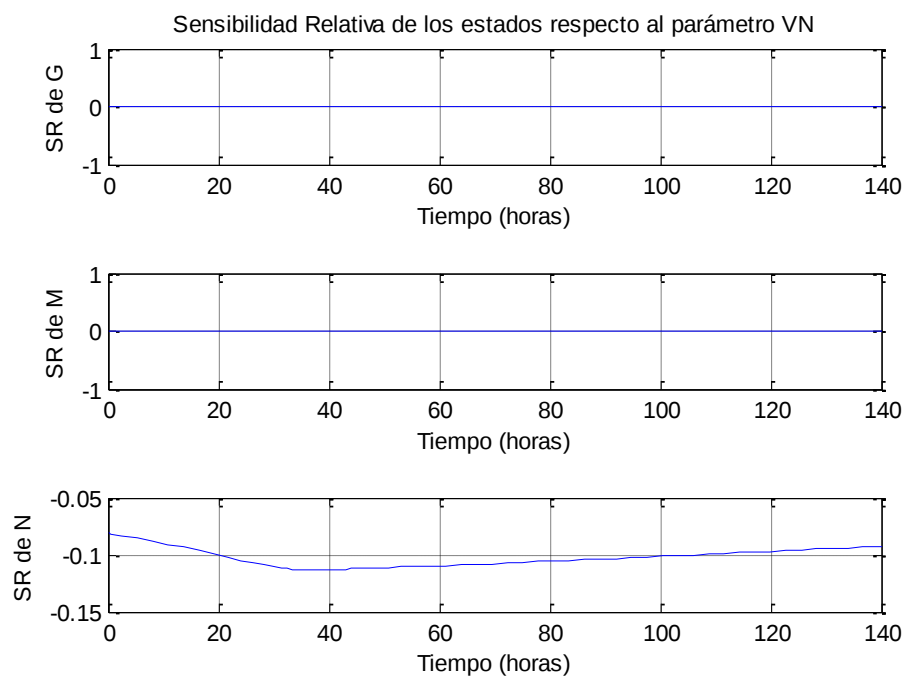


Fig. 5.9. Sensibilidad relativa de las variables de estado G , M y N con respecto a la velocidad de reacción máxima para la maltotriosa (V_N).

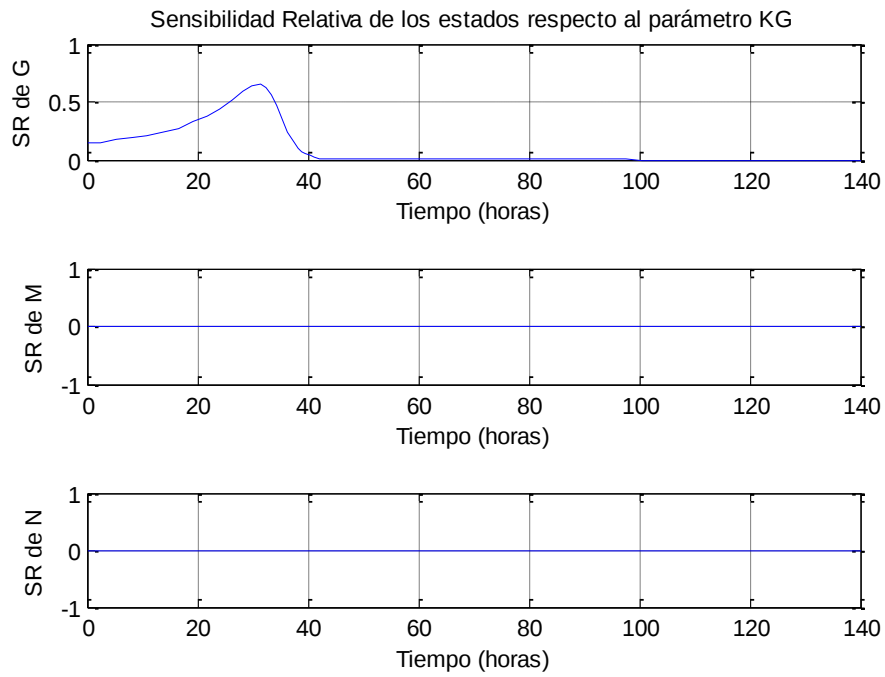


Fig. 5.10. Sensibilidad relativa de las variables de estado G , M y N con respecto a la constante de Michaelis para la glucosa (K_G).

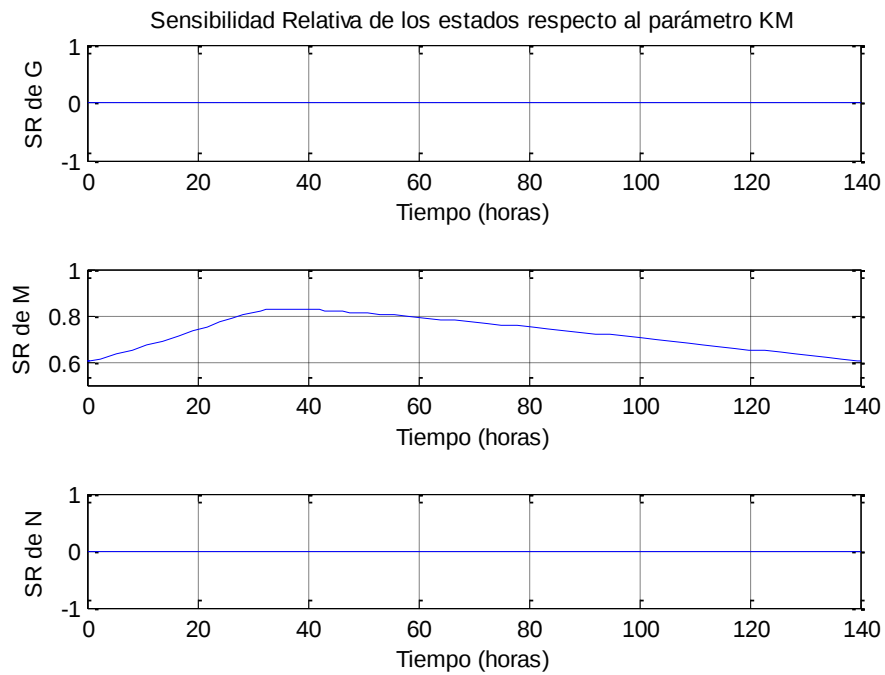


Fig. 5.11. Sensibilidad relativa de las variables de estado G , M y N con respecto a la constante de Michaelis para la maltosa (K_M).

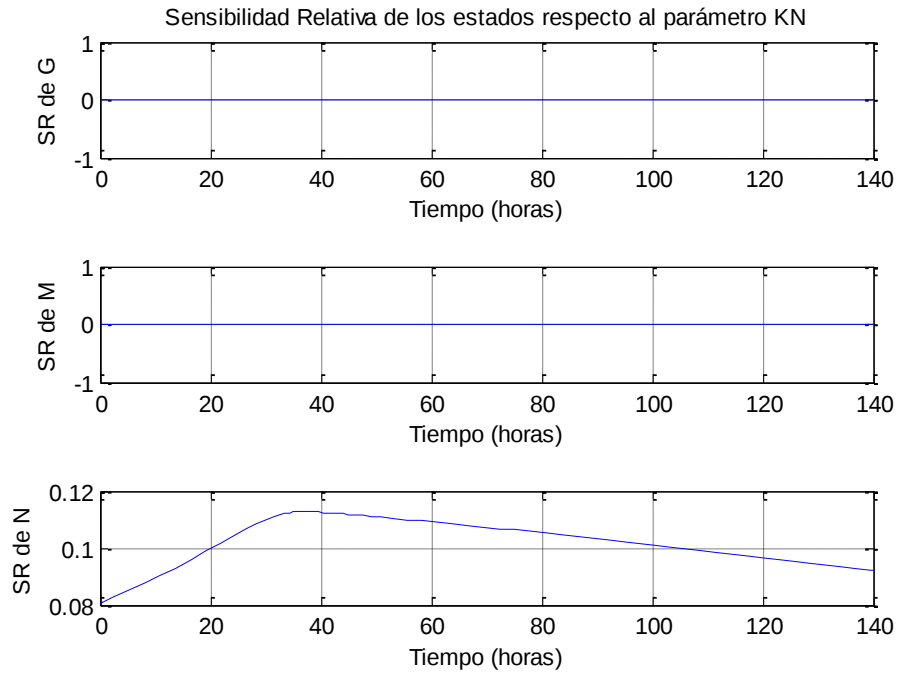


Fig. 5.12. Sensibilidad relativa de las variables de estado G , M y N con respecto a la constante de Michaelis para la maltotriosa (K_N).

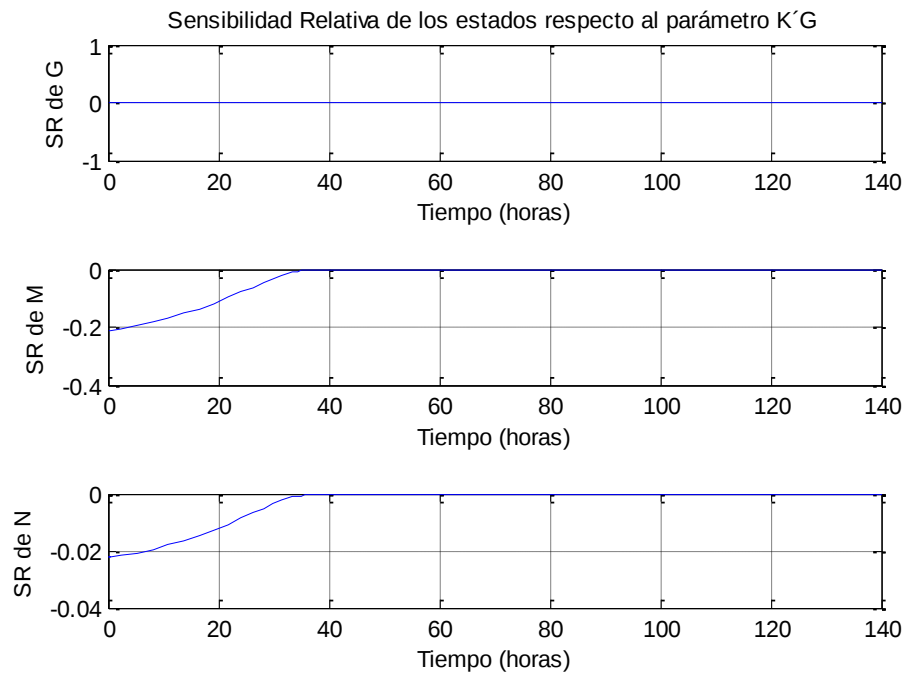


Fig. 5.13. Sensibilidad relativa de las variables de estado G , M y N con respecto a la constante de inhibición para la glucosa (K'_G).

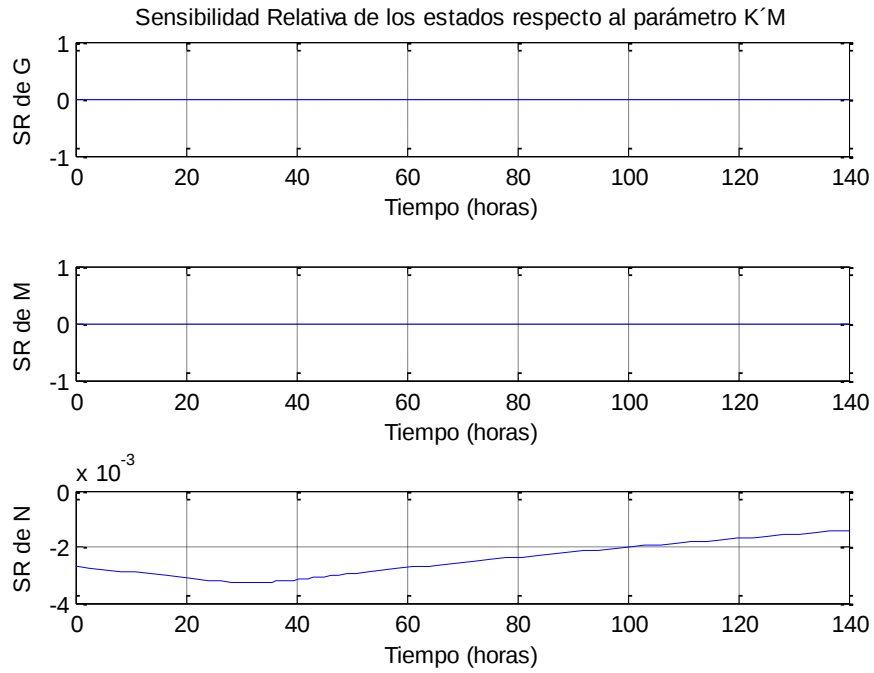


Fig. 5.14. Sensibilidad relativa de las variables de estado G , M y N con respecto a la constante de inhibición para la maltosa (K'_M).

Las sensibilidades relativas de los parámetros se muestran en el Cuadro 5.1, donde G , M y N son las variables de estado y V_G , V_M , V_N , K_G , K_M , K_N , K'_G y K'_M los parámetros cinéticos del modelo.

En el mismo Cuadro 5.1 se observa que la variable de estado G es sensible al cambio en los parámetros V_G y K_G , la variable de estado M es sensible al cambio en los parámetros V_M y K_M , mientras que la variable de estado N es sensible al cambio en los parámetros V_N y K_N . Por lo cual, todos estos parámetros de gran importancia, fueron tomados en cuenta durante la calibración del modelo. Mientras que los parámetros K'_G y K'_M al ser poco relevantes debido a que su variación no afecta en gran medida al modelo, no

fueron considerados para la calibración, por lo cual, los valores de estos parámetros fueron tomados del Cuadro 4.3 para una temperatura de 16 °C.

Cuadro 5.1. Índices de sensibilidad local

Parámetros	Variables de estado		
	<i>G</i>	<i>M</i>	<i>N</i>
V_G	35.88	0	0
V_M	0	61.73	0
V_N	0	0	7.17
K_G	8.39	0	0
K_M	0	51.27	0
K_N	0	0	7.14
K'_G	0	2.08	0.22
K'_M	0	0	0.18

5.3 Calibración

Una vez seleccionados los parámetros que afectan el comportamiento del modelo de manera importante, se llevó a cabo la calibración. Los valores de los parámetros nominales se aproximaron de forma manual siguiendo la tendencia de éstos al aumentar la temperatura de fermentación (Cuadro 4.3), en el momento en que se logró cierta proximidad entre los valores simulados y los valores medidos de las variables de estado, estos valores de los parámetros se consideraron como nominales, a los cuales en la calibración se les dio un rango de variación (Ver programa, Anexo C) para encontrar los valores que minimizaran la función objetivo (ecuación 4.17).

En la Figura 5.14 se muestra la comparación entre los valores de las variables de estado medidas y simuladas con respecto al tiempo de fermentación, en donde la simulación fue realizada con los parámetros cinéticos estimados mediante el método de mínimos cuadrados no lineales para una temperatura de 21 °C. De igual manera en la Figura 5.15 se muestra la comparación entre los valores medidos y simulados para la concentración de etanol mediante el modelo ya calibrado. Finalmente, en la Figura 5.16 se muestra la predicción de la concentración de biomasa con respecto al tiempo del modelo calibrado.

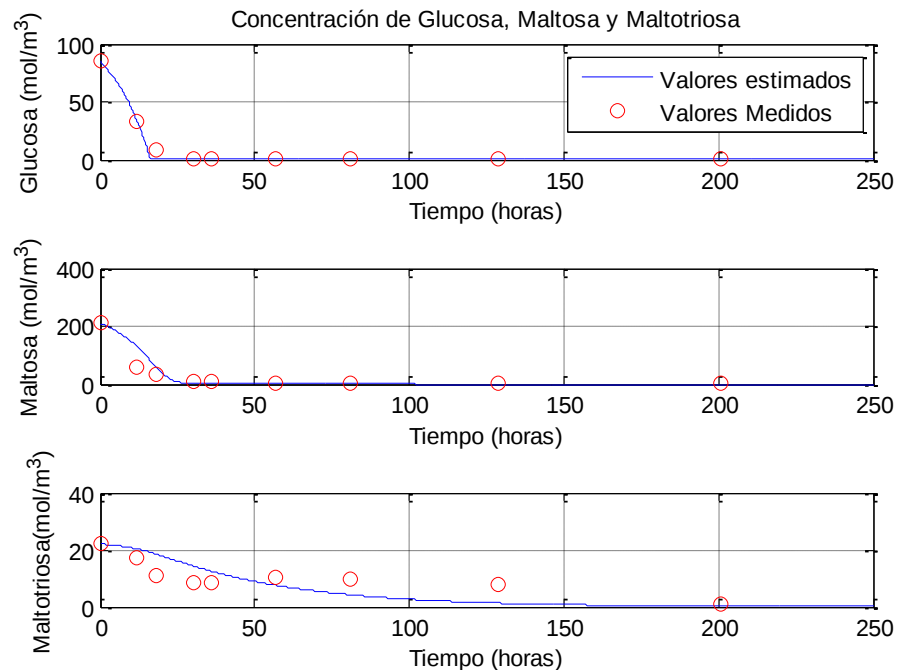


Fig. 5.15. Comparación entre predicciones (modelo calibrado mediante *lsqnonlin*) y mediciones de las variables *G*, *M* y *N* respecto al tiempo de fermentación.

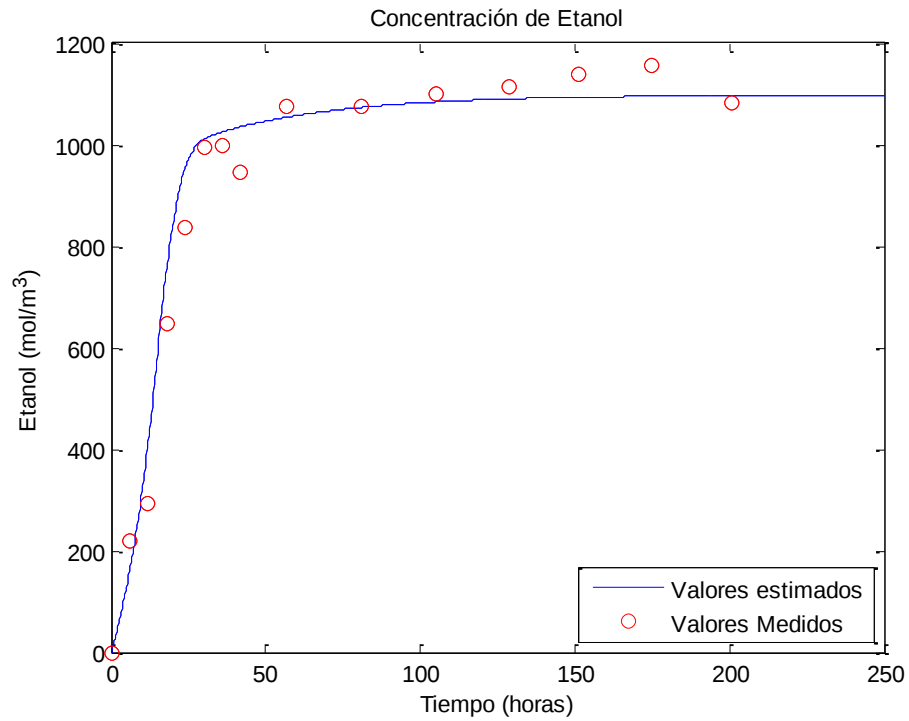


Fig. 5.16. Comparación entre predicciones (modelo calibrado mediante *lsqnonlin*) y mediciones de etanol (E) con respecto al tiempo de fermentación.

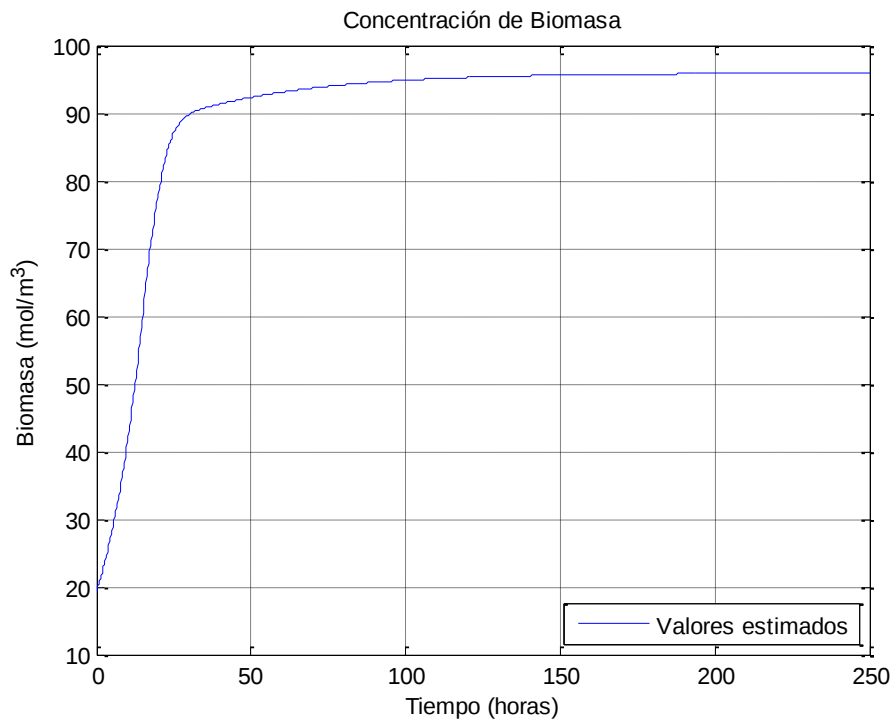


Fig. 5.17. Predicciones de la concentración de biomasa (X) con respecto al tiempo de fermentación (modelo calibrado mediante *lsqnonlin*).

En el Cuadro 5.2 se muestran los valores estimados para cada uno de los parámetros cinéticos del modelo. En el Cuadro 5.3 se encuentran las estadísticas de ajuste entre el modelo ya calibrado y los datos medidos para cada una de las variables de estado y la variable de salida.

Cuadro 5.2. Valores de los parámetros cinéticos del modelo calibrado mediante *lsqnonlin*.

Parámetro	Valor estimado
V_G	0.1365
V_M	0.3885
V_N	0.3287
K_G	0.0980
K_M	85.9316
K_N	1254.9

Cuadro 5.3. Estadísticas de ajuste del modelo calibrado mediante *lsqnonlin*.

Variable del modelo	<i>BIAS</i>	<i>MAE</i>	<i>EF</i>	<i>RMSE</i>	<i>r</i>
Glucosa	-1.14	1.14	0.99	2.61	0.99
Maltosa	8.44	13.71	0.84	27.07	0.94
Maltotriosa	0.58	3.99	0.30	5.20	0.81
Etanol	26.66	36.55	0.98	49.21	0.99

En la Figura 5.17 se muestra la comparación entre los valores de las variables de estado medidas y simuladas con respecto al tiempo de fermentación, en donde la simulación fue realizada con los parámetros cinéticos estimados mediante el algoritmo de Evolución Diferencial para una temperatura de 21 °C.

De igual manera en la Figura 5.18 se muestra la comparación entre los valores medidos y simulados para la concentración de etanol mediante el modelo ya calibrado. Finalmente, en la Figura 5.19 se muestra la predicción de la concentración de biomasa con respecto al tiempo del modelo calibrado.

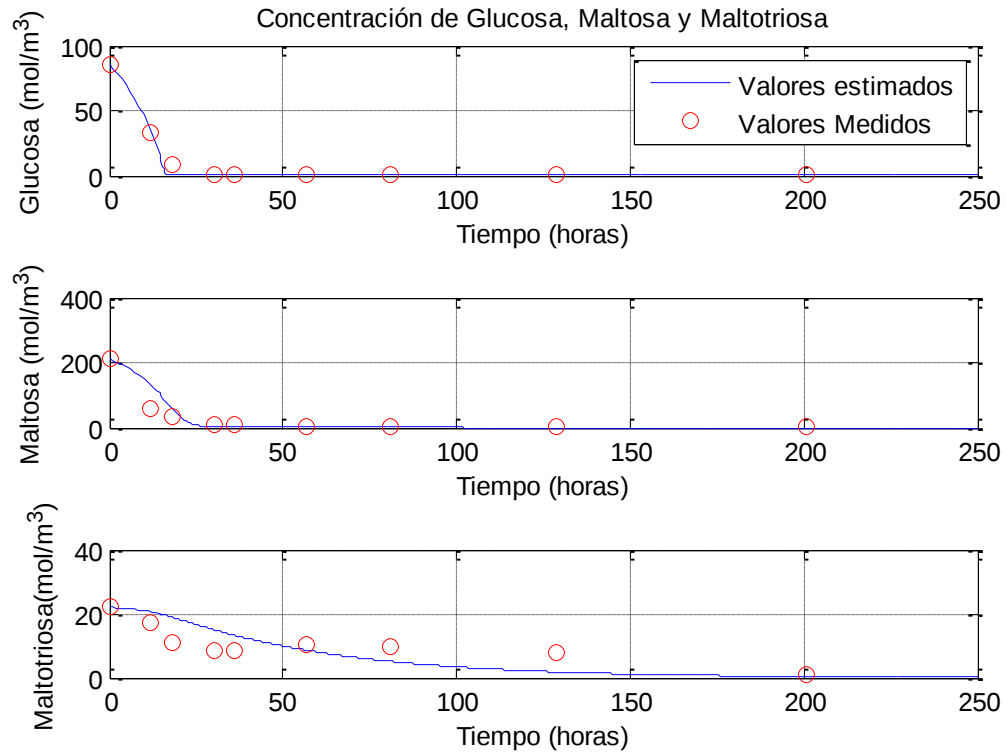


Fig. 5.18. Comparación entre predicciones (modelo calibrado mediante Evolución Diferencial) y mediciones de las variables G , M y N respecto al tiempo de fermentación.

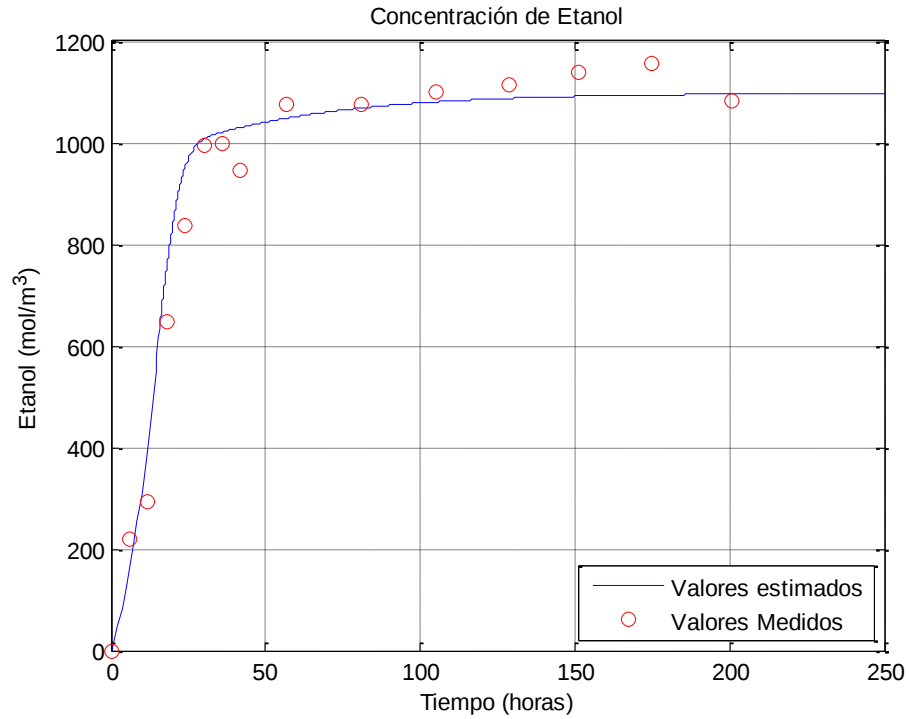


Fig. 5.19. Comparación entre predicciones (modelo calibrado mediante Evolución Diferencial) y mediciones de etanol (E) con respecto al tiempo de fermentación.

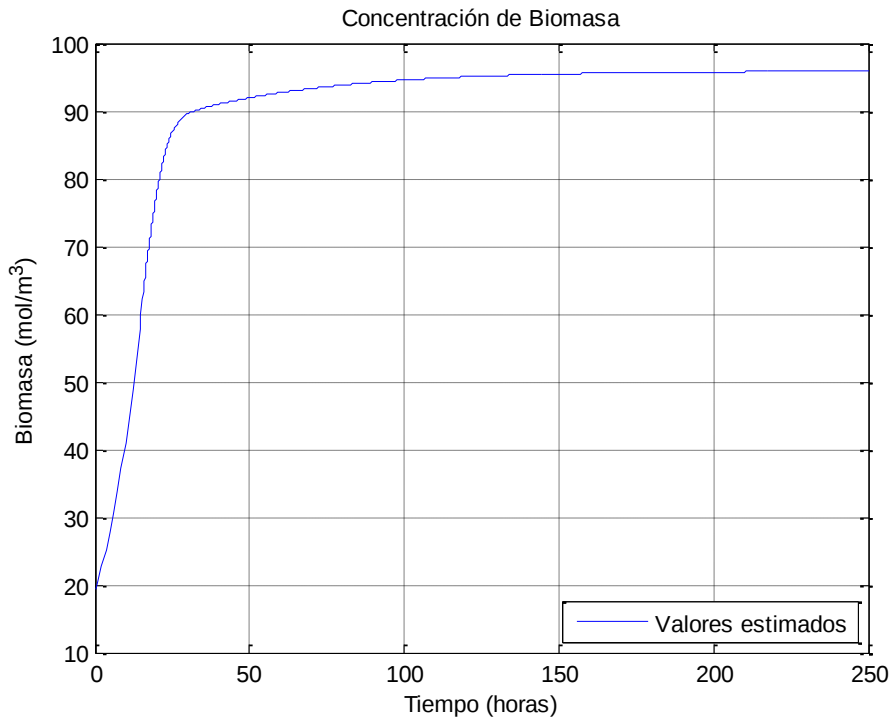


Fig. 5.20. Predicciones de la concentración de biomasa (X) con respecto al tiempo de fermentación (modelo calibrado mediante Evolución Diferencial).

En el Cuadro 5.4 se muestran los valores estimados de los parámetros y de la función minimizada (ecuación 4.17) en cada una de las optimizaciones realizadas mediante el algoritmo de Evolución Diferencial.

Cuadro 5.4. Valores de los parámetros cinéticos del modelo calibrado mediante Evolución Diferencial.

No. de opt.	V_G	V_M	V_N	K_G	K_M	K_N	$L(x(i))$
1	0.1365	0.3885	0.3134	0.0902	85.9275	1350	7398.832
2	0.1365	0.3885	0.2566	0.0902	85.9275	1104.3	7398.827
3	0.1365	0.3885	0.2099	0.0902	85.9275	902.2056	7398.825
4	0.1365	0.3885	0.2124	0.0902	85.9275	911.5717	7398.825
5	0.1365	0.3885	0.2567	0.0902	85.9275	1107.5	7398.827
6	0.1365	0.3885	0.2483	0.0902	85.9275	1006.6	7398.829
7	0.1365	0.3885	0.2726	0.0902	85.9275	1176.7	7398.828
8	0.1365	0.3885	0.1910	0.0902	85.9275	820.1613	7398.825
9	0.1365	0.3885	0.1100	0.0902	85.9275	465.0434	7398.824
10	0.1365	0.3885	0.1347	0.0902	85.9275	572.3846	7398.823
11	0.1365	0.3885	0.2124	0.0902	85.9275	911.5717	7398.825
12	0.1365	0.3885	0.2567	0.0902	85.9275	1107.5	7398.827
13	0.1365	0.3885	0.2483	0.0902	85.9275	1066.6	7398.829
14	0.1365	0.3885	0.2726	0.0902	85.9275	1176.7	7398.828
15	0.1365	0.3885	0.1910	0.0902	85.9275	820.1613	7398.825
16	0.1365	0.3885	0.1100	0.0902	85.9275	465.0434	7398.824
17	0.1365	0.3885	0.1347	0.0902	85.9275	572.3846	7398.823
18	0.1365	0.3885	0.2966	0.0902	85.9275	1279.4	7398.828
19	0.1365	0.3885	0.3080	0.0902	85.9275	1318.7	7398.827
20	0.1365	0.3885	0.2127	0.0902	85.9275	912.91	7398.828
Promedio	0.1365	0.3885	0.2224	0.0902	85.9275	952.3705	7398.826
Varianza	0	0	0.0039	0	0	6.966x10 ⁴	5.3x10 ⁻⁶

En el Cuadro 5.5 se encuentran las estadísticas de ajuste entre el modelo ya calibrado con Evolución Diferencial y los datos medidos para cada una de las variables de estado y la variable de salida.

Cuadro 5.5. Estadísticas del modelo calibrado mediante Evolución Diferencial para una temperatura de 21 °C.

Variable de estado	BIAS	MAE	EF	RMSE	r
Glucosa	-1.13	1.13	0.99	2.62	0.99
Maltosa	8.48	13.74	0.84	27.13	0.94
Maltotriosa	1.09	3.95	0.29	5.17	0.81
Etanol	23.52	36.45	0.98	49.11	0.99

El rango de la temperatura de fermentación dentro del cual se desarrolló el modelo de Gee y Ramirez (1988) tiene una variación importante con respecto al rango de temperatura de fermentación de cerveza artesanal, en consecuencia, cuando se realizan las simulaciones previas utilizando los valores de los parámetros correspondientes a una temperatura de 16 °C (Cuadro 4.3), se esperaba encontrar una diferencia significativa entre los valores simulados y los valores medidos de la concentraciones de las variables de estado del modelo (Figuras 5.4 a 5.6), de esta manera surgió la necesidad de realizar una estimación de los parámetros del modelo. En el análisis de sensibilidad, fueron definidos seis parámetros como los candidatos a estimar para llevar a cabo a la calibración (Cuadro 5.1).

En la estimación de los parámetros del modelo no se tomó en cuenta la variable de estado biomasa ya que su medición contiene una gran incertidumbre.. Lo anterior sucedió debido a que se utilizó un método indirecto para determinar la concentración de esta variable en (mol/m^3), y esto en principio provocó que las mediciones obtenidas tuvieran cierto margen de error. Además de lo anterior, el conteo de levaduras no fue del todo eficiente, ya que su distribución en la muestra no era homogénea debido a que tendían a aglutinarse (Figura 4.8) a pesar de haber utilizado el agitador tipo vórtex (Figura 4.6).

Adicionalmente, para la obtención de la masa por unidad de volumen en la concentración de biomasa, fue calculado un factor de conversión que supone que existe homogeneidad en el tamaño de las levaduras, lo cual en la realidad no sucede debido a que estas se reproducen mediante gemación, y esto hace imposible que exista dicha homogeneidad. Finalmente el peso molecular utilizado para realizar la conversión de unidades a (mol/m^3), es un peso teórico que no considera en su totalidad a los elementos que conforman una molécula de levadura.

En las Figuras 5.14, 5.15, 1.17 y 5.18 puede observarse que la calibración del modelo en general es aceptable debido a que los resultados fueron similares usando un algoritmo de optimización local y un método de optimización global (rutina *lsqnonlin* y Evolución Diferencial), ya que en los dos casos al comparar las simulaciones con las mediciones de las variables, puede observarse que se reproduce de manera general la tendencia de cada variable durante el proceso de fermentación.

De acuerdo a las estadísticas de ajuste del modelo calibrado, en los cuadros 5.3 y 5.5 se observa que el modelo es un buen predictor de la variable de estado glucosa, ya que en ambos casos (calibración mediante *lsqnonlin* y Evolución Diferencial) se tiene un coeficiente de correlación (r) cercano a 1 y un BIAS cercano a cero, así como una alta eficiencia (EF).

De la misma forma en los Cuadros 5.3 y 5.5, de acuerdo con el coeficiente de correlación (r) y la eficiencia (EF), el modelo es un buen predictor de la variable etanol, ya que ambos tienen un valor cercano a 1, sin embargo, en los mismos cuadros se puede observar que se tienen valores un poco elevados para el resto de las estadísticas (BIAS, MAE y MSE) lo cual es probable que se deba a la diferencia entre las concentraciones medidas y estimadas alrededor de las 35 y 50 h en el proceso de fermentación (Figuras 5.15 y 5.18) que fueron posiblemente causadas por un error en la medición de la variable. Lo anterior se puede mejorar considerando un mayor número de mediciones de la concentración de etanol en el rango de tiempo mencionado, ya que es aquí donde el proceso de fermentación comenzó a estabilizarse.

A pesar de haber surgido valores elevados en algunas estadísticas de ajuste para el etanol, debe tomarse en cuenta que las concentraciones de esta variable superan los 1 000 unidades, por lo que en forma porcentual el error surgido es poco significativo.

Para el caso de la maltosa, el modelo calibrado por ambos métodos tiene estadísticas de ajuste aceptables, sin embargo con el fin obtener una mayor

precisión en la predicción del modelo para esta variable, es necesario tomar un mayor número de mediciones entre las 10 y 25 h del tiempo de fermentación, ya que en este rango la concentración de maltotriosa presenta una mayor variación.

Al observar los Cuadros 5.3 y 5.5, puede decirse que el modelo calibrado por ambos métodos es un buen predictor de la variable de estado maltotriosa, debido a que tiene un coeficiente de correlación cercano a uno y un BIAS cercano a cero. Sin embargo, en este caso la EF presenta un valor aparentemente bajo, lo cual se debe a que las mediciones de maltotriosa son un poco irregulares entre las 20 y 40 h del tiempo de fermentación. Lo anterior pudo haber sucedido, debido a que a pesar de que la muestra se encontraba congelada, la fermentación siguió llevándose a cabo en una escala mucho más pequeña, sin embargo, esto se vio reflejado de forma más importante en la concentración de maltotriosa. Este mismo fenómeno fue observado por Gee y Ramirez (1988) para la variable maltosa.

Capítulo 6. CONCLUSIONES

En la presente investigación se encontró que es posible estudiar el proceso de fermentación de cerveza artesanal usando modelos matemáticos dinámicos. Se mostró que se puede entender el comportamiento del proceso aplicando la metodología de modelación de sistemas. En particular se encontró que un modelo matemático que simula la dinámica del proceso de fermentación de cerveza industrial, puede ser útil para predecir el comportamiento de las variables que influyen en el proceso de fermentación de cerveza artesanal, realizando previamente la estimación de los parámetros del modelo.

Una vez calibrado el modelo matemático, este puede utilizarse para el estudio de estrategias de manejo, que hagan más eficiente el proceso de fermentación de la cerveza artesanal. De la misma manera, dado que la concentración de etanol es una variable de gran importancia en la producción de cerveza, el modelo puede emplearse para controlar la cantidad de etanol final en el producto u optimizar el proceso de fermentación.

Las estadísticas de ajuste entre los datos y el modelo calibrado con los métodos mínimos cuadrados no lineales (LSQNONLIN) y evolución diferencial son muy similares. Por tanto, el algoritmo de evolución diferencial es un método eficiente

y robusto para estimar los parámetros del modelo matemático de la fermentación de la cerveza.

En esta investigación, se trabajó con una temperatura constante, por lo que el modelo se limita a simular el proceso de fermentación bajo esta condición, sin embargo, el trabajo realizado sirve como base para futuras investigaciones, en las cuales se tome en cuenta los efectos de la temperatura.

Otro resultado obtenido, es la dinámica del comportamiento de cada una de las variables durante el tiempo de fermentación, la importancia de esto radica en el hecho de que en futuras investigaciones, se tendrá una referencia más exacta para determinar los tiempos y el número de mediciones en los intervalos donde suceden cambios significativos en el comportamiento de dichas variables. Lo anterior incluye a modelos más complejos que contengan un mayor número de variables de estado y a modelos más simples como los de caja negra, ya que de igual manera, al conocer la dinámica del proceso de fermentación, también pueden ser elegidos de forma más eficiente los tiempos de muestreo en los cuales se realizará la medición de las variables.

Como comentario final, para trabajos posteriores es recomendable determinar la concentración de biomasa mediante el peso seco de las levaduras, para de esta forma obtener directamente las unidades en masa por unidad de volumen.

Capítulo 7. BIBLIOGRAFÍA

Andrés-Toro B.; Girón-Sierra J.M.; Fernández-Blanco P.; López-Orozco J.A.; Besada-Portas E. 2004. Multiobjective optimization and multivariable control of the beer fermentation process with the use of evolutionary algorithms. Journal of Zhejiang University SCIENCE 5(4): 378-389.

Andrés-Toro B.; Girón-Sierra J.M.; López-Orozco J.A., Peinado J.M., García-Ochoa F. 1998. A kinetic model for beer fermentation under industrial operational conditions. Mathematics and Computer Simulation 48:65-74.

BEERTEC. 2011. (Internet site). Disponible en: <http://beertec.galeon.com/productos1436661.html>. [Verificado 2 de Diciembre de 2011].

BBC. 2012. (Internet site). Disponible en: http://www.bbc.co.uk/mundo/noticias/2012/09/120906_economia_asia_cerveza_crecimiento_tsb.shtml. [Verificado 10 de Octubre de 2012].

Celeromics 2012. (Internet site). Disponible en: <http://celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Conteo-Camara-Neubauer.pdf>. [Verificado 15 de Junio de 2012].

Club planeta 2012. (Internet site). Disponible en: http://www.clubplaneta.com.mx/bar/proceso_de_elaboracion_de_la_cerveza.htm. [Verificado 20 de Junio de 2012].

Cristian T.I.; Titica M.; Landaud S.; Latrille E.; Corrieu G.; Cheruy A. 2001. Predictive modelling of brewing fermentation: from knowledge-based to black-box models. *Mathematics and Computers in Simulation* 56: 405–424.

Defernez M.; Foxall R.J.; O'Malley C.J.; Montague G., Ringa S.M.; Kemsley E.K. 2007. Modelling beer fermentation variability. *Journal of Food Engineering* 83: 167–172.

Doran P. M. 2002. *Bioprocess Engineering Principles*. Academic Press. San Diego. 439 p.

El economista. 2010. (Internet site). Disponible en: <http://elempresario.mx/actualidad/cerveza-artesanal-busca-mas-clientes> [Verificado 10 de Octubre de 2012].

Engasser J. M.; Marc I.; Moll M.; and B. Duteurtr. 1981. Kinetic modeling of beer fermentation. *EBC Congress*: 579–586.

FERMENTIS. 2012. (Internet site). Disponible en: http://www.fermentis.com/fo/pdf/HB/ES/Safale_S-04_HB_ES.pdf. [Verificado 5 de Noviembre de 2012].

GAB Sistemática Analítica S.L. 2012. (Internet site). Disponible en: http://shop.gabsystem.com/data/descargas/Camara%20thoma%20neubauer_Esp.pdf. [Verificado 15 de Junio de 2012].

Gee D. A.; Ramirez W.F. 1988. Optimal Temperature Control for Batch Beer Fermentation. *Biotechnology and Bioengineering* 31: 224-234.

Gee D. A.; Ramirez W.F. 1994. A flavour model for beer fermentation. *Journal Institute of Brewing* 100 (5): 321-329.

KIRIN. 2010. (Internet site). Disponible en: http://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2011/1221_01.html. [Verificado 15 de Octubre de 2012].

López M.H. 2007. Cerveza Casera. Trafford, Victoria, BC. 100 p.

Madar J.; Abonyi J.; Szeifert F. 2005. Interactive evolutionary computation in process engineering. Computers and Chemical Engineering 7: 1591-1597

Oonsivilai R.; Oonsivilai A.; 2010. Temperature profile in fermenting process using differential evolution. Proceedings of the 5th IASME/WSEAS international conference on Energy & environment: 315-319.

Price K.; Storn R.; Lampinen J. 2005. Differential evolution: A practical approach to global optimization. Springer. New York. 538 p.

Ramirez W.F.; Maciejowski J. Optimal beer fermentation. 2007. Journal Institute of Brewing 113 (3): 325-333.

Rodríguez D.F. 2002. Modelado y control jerárquico de crecimiento de cultivos en invernadero. Tesis (Doctorado en Informática). España, Universidad de Almería: 365 p.

Ruíz G.A. 2009. Modelos para simulación y control del clima de un invernadero con ventilación natural. Tesis (Maestría en Ingeniería). México, Universidad Autónoma Chapingo: 114 p.

Saltelli A.; Chan K.; Scott E. M. 2000. Sensitivity Analysis. John Wiley & Sons Ltd. Chichester. UK. 475 p.

Sánchez A. M. 2011. Fermentación de malta empleando un sistema semicontinuo en el proceso de elaboración de cerveza. Tesis (Ingeniería). México, Universidad Tecnológica de la Mixteca: 91 p.

Stanbury P.F.; Whitaker A. 1984. Principles of Fermentation Technology. Pergamon Press. Oxford. 255 p.

Storn R.; Price K. 1995. Differential evolution - a simple and efficient adaptive scheme for global optimization over continuous spaces. Technical Report TR-95-012, ICSI.

Storn R.; Price K. 1997. Differential evolution. A simple and efficient heuristic for global optimization over continuous spaces. Journal of Global Optimization 11: 341-359.

Vogt E. 1972. La Fabricación de Vinos. Acribia, España. 292 p.

Wallach D.; Makowski D.; Jones J.W.; 2006. Working with Dynamic Crop Models. First edition. Elsevier. The Netherlands. 462 p.

Xiao J.; Zhou Z.; Zhang G. 2004. Ant colony system algorithm for the optimization of beer fermentation control. Journal of Zhejiang University SCIENCE 5(12): 1597-1603.

**Anexo A. MEDICIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE LAS VARIABLES
GLUCOSA, MALTOSA, MALTOTRIOSIA, ETANOL Y BIOMASA.**

Cuadro A.1 Mediciones de concentración de glucosa.

Tiempo de medición (h)	Concentración de Glucosa (mol/m ³)
0	84.8
12	33.4
18	7.7
30	0.4
36	0.5
57	0.3
81	0.4
129	0.7
201	0.05

Cuadro A.2 Mediciones de concentración de maltosa.

Tiempo de medición (h)	Concentración de Maltosa (mol/m ³)
0	210.4
12	61.2
18	31.08
30	11.12
36	6.46
57	3.68
81	2.56
129	0.61
201	0.68

Cuadro A.3 Mediciones de concentración de maltotriosa.

Tiempo de medición (h)	Concentración de Maltotriosa (mol/m^3)
0	22.03
12	17.3
18	10.7
30	8.7
36	8.5
57	10.1
81	9.7
129	7.6
201	1.2

Cuadro A.4 Mediciones de concentración de etanol.

Tiempo de medición (h)	Concentración de Etanol (mol/m^3)
0	0
6	219
12	294
18	648.1
24	838.2
30	996.3
36	944.2
42	1074.5
57	1074.5
81	1100.5
105	1113.5
129	1113.5
151	1139.6
175	1154.8
201	1080.8

Cuadro A.5 Mediciones de concentración de biomasa.

Tiempo de medición (h)	Concentración de Biomasa (mol/m^3)
0	19.3
6	35.8
12	61.6
18	123.8
24	144
30	190.1
36	187.1
42	199
57	187.1
81	191.6
105	199
129	188.6
151	184.9
175	189.3
201	196

Anexo B. ELEMENTOS DE LAS MATRICES **A, **M** Y ECUACIONES DE SENSIBILIDAD.**

ELEMENTOS DE LA MATRIZ **A:**

$$a_{11} = \frac{\partial f_1}{\partial G} = R_{X_G} V_G - \frac{K_G V_G (X_{10} + G_{10} R_{X_G} - M R_{X_M} + M_{10} R_{X_M} - N R_{X_N} + N_{10} R_{X_N})}{(G + K_G)^2}$$

$$a_{12} = \frac{\partial f_1}{\partial M} = \frac{G R_{X_M} V_G}{G + K_G}$$

$$a_{13} = \frac{\partial f_1}{\partial N} = \frac{G R_{X_N} V_G}{G + K_G}$$

$$a_{21} = \frac{\partial f_2}{\partial G} = \frac{K'_G M V_M (X_{10} + G_{10} R_{X_G} + K'_G R_{X_G} - M R_{X_M} + M_{10} R_{X_M} - N R_{X_N} + N_{10} R_{X_N})}{(G + K'_G)^2 (K_M + M)}$$

$$a_{22} = \frac{\partial f_2}{\partial M} = \frac{-K_M K'_G V_M (X_{10} - G R_{X_G} + G_{10} R_{X_G} - 2 M R_{X_M} + M_{10} R_{X_M} - N R_{X_N} + N_{10} R_{X_N}) - K'_G M^2 R_{X_M} V_M}{(G + K'_G) (K_M + M)^2}$$

$$a_{23} = \frac{\partial f_2}{\partial N} = \frac{K'_G M R_{X_N} V_M}{(G + K'_G) (K_M + M)}$$

$$a_{31} = \frac{\partial f_3}{\partial G} = \frac{K'_G K'_M N V_N (X_{10} + G_{10} R_{X_G} + K'_G R_{X_G} - M R_{X_M} + M_{10} R_{X_M} - N R_{X_N} + N_{10} R_{X_N})}{(G + K'_G)^2 (K'_M + M) (K_N + N)}$$

$$a_{32} = \frac{\partial f_3}{\partial M} = \frac{K'_G K'_M N V_N (X_{10} - G R_{X_G} + G_{10} R_{X_G} + K'_M R_{X_M} + M_{10} R_{X_M} - N R_{X_N} + N_{10} R_{X_N})}{(G + K'_G) (K'_M + M)^2 (K_N + N)}$$

$$a_{33} = \frac{\partial f_3}{\partial N} = \frac{-K_N K'_G K'_M V_M (X_{10} - G R_{X_G} + G_{10} R_{X_G} - M R_{X_M} + M_{10} R_{X_M} - 2 N R_{X_N} + N_{10} R_{X_N}) - K'_G K'_M N R_{X_N} V_N}{(G + K'_G) (K'_M + M) (K_N + N)^2}$$

ELEMENTOS DE LA MATRIZ **M:**

$$m_{11} = \frac{\partial f_1}{\partial V_G} = \frac{G (R_{X_M} (M - M_{10}) - X_{10} + R_{X_N} (N - N_{10}) + R_{X_G} (G - G_{10}))}{G + K_G}$$

$$m_{12} = \frac{\partial f_1}{\partial V_M} = 0$$

$$m_{12} = \frac{\partial f_1}{\partial V_N} = 0$$

$$m_{14} = \frac{\partial f_1}{\partial K_G} = \frac{GV_G(R_{X_M}(M - M10) - X10 + R_{X_N}(N - N10) + R_{X_G}(G - G10))}{(G + K_G)^2}$$

$$m_{15} = \frac{\partial f_1}{\partial K_M} = 0$$

$$m_{16} = \frac{\partial f_1}{\partial K_N} = 0$$

$$m_{17} = \frac{\partial f_1}{\partial K'_G} = 0$$

$$m_{18} = \frac{\partial f_1}{\partial K'_M} = 0$$

$$m_{21} = \frac{\partial f_2}{\partial V_G} = 0$$

$$m_{22} = \frac{\partial f_2}{\partial V_M} = \frac{K'_G M(R_{X_M}(M - M10) - X10 + R_{X_N}(N - N10) + R_{X_G}(G - G10))}{(G + K'_G)(K_M + M)}$$

$$m_{23} = \frac{\partial f_2}{\partial V_N} = 0$$

$$m_{24} = \frac{\partial f_2}{\partial K_G} = 0$$

$$m_{25} = \frac{\partial f_2}{\partial K_M} = -\frac{K'_G M V_M(R_{X_M}(M - M10) - X10 + R_{X_N}(N - N10) + R_{X_G}(G - G10))}{(G + K'_G)(K_M + M)^2}$$

$$m_{26} = \frac{\partial f_2}{\partial K_N} = 0$$

$$m_{27} = \frac{\partial f_2}{\partial K'_G} = \frac{GMV_M(R_{X_M}(M - M10) - X10 + R_{X_N}(N - N10) + R_{X_G}(G - G10))}{(G + K'_G)^2(K_M + M)}$$

$$m_{28} = \frac{\partial f_2}{\partial K'_M} = 0$$

$$m_{31} = \frac{\partial f_3}{\partial V_G} = 0$$

$$m_{32} = \frac{\partial f_3}{\partial V_M} = 0$$

$$m_{33} = \frac{\partial f_3}{\partial V_N} = \frac{K'_G K'_N N (R_{X_M} (M - M10) - X10 + R_{X_N} (N - N10) + R_{X_G} (G - G10))}{(G + K'_G)(K'_M + M)(K_N + N)}$$

$$m_{34} = \frac{\partial f_3}{\partial K_G} = 0$$

$$m_{35} = \frac{\partial f_3}{\partial K_M} = 0$$

$$m_{36} = \frac{\partial f_3}{\partial K_N} = - \frac{K'_G K'_N N V_N (R_{X_M} (M - M10) - X10 + R_{X_N} (N - N10) + R_{X_G} (G - G10))}{(G + K'_G)(K'_M + M)(K_N + N)^2}$$

$$m_{37} = \frac{\partial f_3}{\partial K'_G} = - \frac{G K'_M N V_N (X10 - G R_{X_G} + G10 R_{X_G} - M R_{X_M} + M10 R_{X_M} - N R_{X_N} + N10_{X_N})}{(G + K'_G)^2 (K'_M + M)(K_N + N)}$$

$$m_{38} = \frac{\partial f_3}{\partial K'_M} = - \frac{K'_G M N V_N (X10 - G R_{X_G} + G10 R_{X_G} - M R_{X_M} + M10 R_{X_M} - N R_{X_N} + N10_{X_N})}{(G + K'_G)(K'_M + M)^2 (K_N + N)}$$

ECUACIONES DE SENSIBILIDAD:

$$\dot{S}_{11} = a_{11}S_{11} + a_{12}S_{21} + a_{13}S_{31} + m_{11}$$

$$\dot{S}_{12} = a_{11}S_{12} + a_{12}S_{22} + a_{13}S_{32} + m_{12}$$

$$\dot{S}_{13} = a_{11}S_{13} + a_{12}S_{23} + a_{13}S_{33} + m_{13}$$

$$\dot{S}_{14} = a_{11}S_{14} + a_{12}S_{24} + a_{13}S_{34} + m_{14}$$

$$\dot{S}_{15} = a_{11}S_{15} + a_{12}S_{25} + a_{13}S_{35} + m_{15}$$

$$\dot{S}_{16} = a_{11}S_{16} + a_{12}S_{26} + a_{13}S_{36} + m_{16}$$

$$\dot{S}_{17} = a_{11}S_{17} + a_{12}S_{27} + a_{13}S_{37} + m_{17}$$

$$\dot{S}_{18} = a_{11}S_{18} + a_{12}S_{28} + a_{13}S_{38} + m_{18}$$

$$\dot{S}_{21} = a_{21}S_{11} + a_{22}S_{21} + a_{23}S_{31} + m_{21}$$

$$\dot{S}_{22} = a_{21}S_{12} + a_{22}S_{22} + a_{23}S_{32} + m_{22}$$

$$\dot{S}_{23} = a_{21}S_{13} + a_{23}S_{23} + a_{23}S_{33} + m_{23}$$

$$\dot{S}_{24} = a_{21}S_{14} + a_{24}S_{24} + a_{23}S_{34} + m_{24}$$

$$\dot{S}_{25} = a_{21}S_{15} + a_{25}S_{25} + a_{23}S_{35} + m_{25}$$

$$\dot{S}_{26} = a_{21}S_{16} + a_{26}S_{26} + a_{23}S_{36} + m_{26}$$

$$\dot{S}_{27} = a_{21}S_{17} + a_{27}S_{27} + a_{23}S_{37} + m_{27}$$

$$\dot{S}_{28} = a_{21}S_{18} + a_{28}S_{28} + a_{23}S_{38} + m_{28}$$

$$\dot{S}_{31} = a_{31}S_{11} + a_{32}S_{21} + a_{33}S_{31} + m_{31}$$

$$\dot{S}_{32} = a_{31}S_{12} + a_{32}S_{22} + a_{33}S_{32} + m_{32}$$

$$\dot{S}_{33} = a_{31}S_{13} + a_{33}S_{23} + a_{33}S_{33} + m_{33}$$

$$\dot{S}_{34} = a_{31}S_{14} + a_{34}S_{24} + a_{33}S_{34} + m_{34}$$

$$\dot{S}_{35} = a_{31}S_{15} + a_{35}S_{25} + a_{33}S_{35} + m_{35}$$

$$\dot{S}_{36} = a_{31}S_{16} + a_{36}S_{26} + a_{33}S_{36} + m_{36}$$

$$\dot{S}_{37} = a_{31}S_{17} + a_{37}S_{27} + a_{33}S_{37} + m_{37}$$

$$\dot{S}_{38} = a_{31}S_{18} + a_{38}S_{28} + a_{33}S_{38} + m_{38}$$

Anexo C. IMPLEMENTACIÓN DEL MODELO Y CALIBRACIÓN MEDIANTE LSQNONLIN

IMPLEMENTACIÓN DEL MODELO. PROGRAMA PRINCIPAL:

```
% Simulación del proceso de fermentación de cerveza
clear all
close all

%Parámetros y constantes
% G = Concentración de glucosa, mol/m^3
% M = Concentración de maltosa, mol/m^3
% N = Concentración de maltotriosa, mol/m^3
% X = Concentración de biomasa, mol/m^3
% mui = Tasa específica de absorción de azúcar, h^(-1)
% Vi = Velocidad de reacción máxima para el azúcar (i = G, M, or N), h^(-)
% Ki = Constante de Michaelis para el azúcar (i = G, M, or N )
% K'i = Constante de inhibición para el azúcar (i = G or M )

% Rxi = Rendimiento estequiométrico de la biomasa por mol de azúcar
reaccionado,
%i = G, M , or N, se asume constante
% REi = Rendimiento estequiométrico del etanol por mol de azúcar
reaccionado,
%i = G, M , or N, se asume constante

% Parámetros cinéticos para una temperatura de fermentación de 8° C
VG=0.013;
VM=0.0268;
VN=0.113;
KG=4.7;
KM=814;
KN=7160;
KprimaG=182;    %K'G
KprimaM=6360;   %K'M

% Parámetros de reacción (Rendimientos estequiométricos constantes)
RXG=0.134;
RXM=0.268;
RXN=0.402;
REG=1.92;
REM=3.84;
REN=5.76;
```

```

%%Condiciones Iniciales (MEDICIONES)
% X10=125;
% G10=70;
% M10=220;
% N10=40;

%%Condiciones Iniciales (Gee y Freed)
X10=125;
G10=70;
M10=220;
N10=40;
% Tiempo de simulación
t1=140;

opciones=simset('solver','ode45','RelTol',1e-8);
[t,x,y]=sim('homebeer',t1,opciones);

figure(1)
subplot(3,1,1);
plot(t,y(:,1));
grid
xlabel('Tiempo(horas)');
ylabel('Glucosa (mol/m^3)');
title('Simulación del proceso de fermentación de cerveza');

subplot(3,1,2);
plot(t,y(:,2));
grid
xlabel('Tiempo(horas)');
ylabel('Maltosa (mol/m^3)');

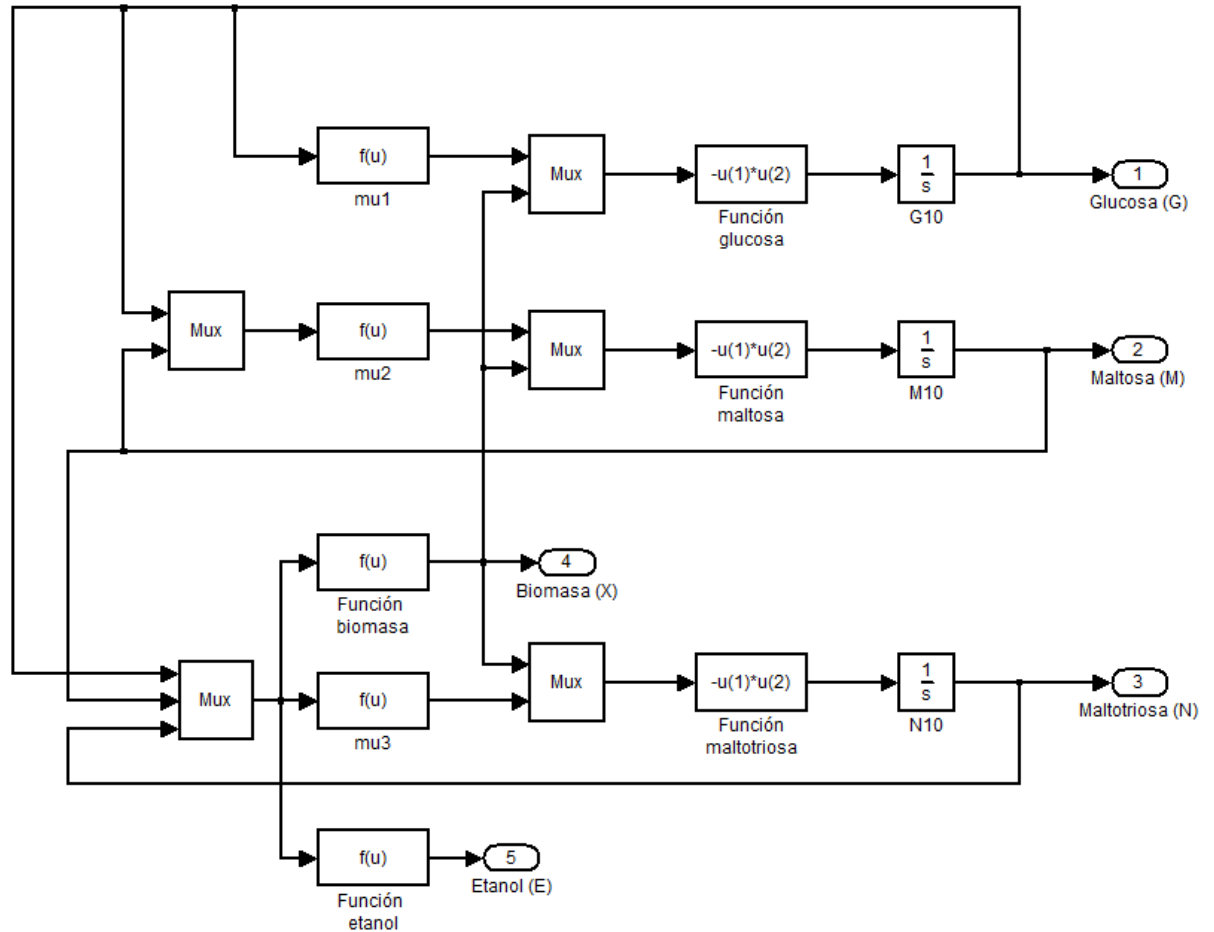
subplot(3,1,3);
plot(t,y(:,3));
grid
xlabel('Tiempo(horas)');
ylabel('Maltotriosa(mol/m^3)');

figure(2)
plot(t,y(:,4));
grid
xlabel('Tiempo(horas)');
ylabel('Biomasa (mol/m^3)');
title('Concentración de Biomasa');

figure(3)
plot(t,y(:,5));
grid
xlabel('Tiempo(horas)');
ylabel('Etanol (mol/m^3)');
title('Concentración de Etanol');

```

MODELO EN SIMULINK:



CALIBRACIÓN MEDIANTE *LSQNONLIN* (PROGRAMA PRINCIPAL)

```
% Simulación del proceso de fermentación de cerveza
clear all
close all
warning off

global RXG RXM RXN REG REM REN
global X10 G10 M10 N10
global VG VM VN KG KM KN KprimaG KprimaM

% Parámetros de reacción (Rendimientos estequiométricos constantes)
RXG=0.134;
RXM=0.268;
RXN=0.402;
REG=1.92;
REM=3.84;
REN=5.76;
```

```

% Condiciones Iniciales
X10=19.3;
G10=84.8;
M10=210.4;
N10=22.03;

% Parámetros cinéticos para una temperatura de fermentación de 21 °C
% (Nominales)
VG = 0.13;
VM = 0.37;
VN = 0.22;
KG = 0.095;
KM = 90.45;
KN = 900;
KprimaG=262;    %K'G
KprimaM=17500;  %K'M

%Parámetros a estimar (Valor inicial)
Param0 = [VG, VM, VN, KG, KM, KN];

%valor mínimo y máximo del parámetro
lb = [VG-.05*VG, VM-.05*VM, VN-.5*VN, KG-.05*KG, KM-.05*KM, KN-.5*KN];

ub = [VG+.05*VG, VM+.05*VM, VN+.5*VN, KG+.05*KG, KM+.05*KM, KN+.5*KN];

% Tiempo de simulación
time = 0:0.25:250;

options = optimset('MaxIter',2500,'Display','Iter','MaxFunEvals',5000);

[Xmin, RESNORM, RESIDUAL, EXITFLAG, OUTPUT, LAMBDA, JACOBIAN]=lsqnonlin(@Eval_
_beer,Param0,lb,ub,options);

VG=Xmin(1)
VM=Xmin(2)
VN=Xmin(3)
KG=Xmin(4)
KM=Xmin(5)
KN=Xmin(6)

opciones=simset('solver','ode45','RelTol',1e-8);
[t,x,y]=sim('homebeer',time,opciones);

% Valor medido de las variables para la calibración (5 variables)
GlucosaMed=[84.8 33.4 7.7 0.4 0.5 0.3 0.4 0.7 0.05]';
MaltosaMed=[210.4 61.2 31.08 11.12 6.46 3.68 2.56 0.61 0.68]';
MaltotriosaMed=[22.03 17.3 10.7 8.7 8.5 10.1 9.7 7.6 1.2]';
BiomasaMed=[19.3 61.6 123.8 190.1 187.1 187.1 191.6 188.6 196]';
EtanolMed=[0 294.0 648.1 996.3 998.5 1074.5 1074.5 1113.5 1080.8]';
t1=[0 12 18 30 36 57 81 129 201]';

```

```

%tiempo de la medición (horas)
t2=[0 6 12 18 24 30 36 42 57 81 105 129 151 175 201];

%Mediciones de Etanol (Para graficar predicciones vs. Mediciones)
EtanolMed2=[0 219.2 294.0 648.1 838.2 996.3 998.5 944.2 1074.5 1074.5
1100.5 1113.5 1139.6 1154.8 1080.8];

m2=[t y(:,1) y(:,2) y(:,3) y(:,4) y(:,5)];

GlucosaEst=[];
MaltosaEst=[];
MaltotriosaEst=[];
EtanolEst=[];
BiomasaEst=[];

for i=1:length(t1)
    for j=1:length(m2)
        if t1(i) == m2(j,1)
            GlucosaEst = [GlucosaEst; m2(j,2)];
            MaltosaEst = [MaltosaEst; m2(j,3)];
            MaltotriosaEst = [MaltotriosaEst; m2(j,4)];
            BiomasaEst = [BiomasaEst; m2(j,5)];
            EtanolEst = [EtanolEst; m2(j,6)];
            break;
        end
    end
end

ErrorG = (GlucosaEst-GlucosaMed);
ErrorM = (MaltosaEst-MaltosaMed);
ErrorT = (MaltotriosaEst-MaltotriosaMed);
ErrorE = (EtanolEst-EtanolMed);

% Estadísticas para la calibración BIAS, MSE, RMSE, MAE, EF,
correlation coefficient
% disp('Medidas de ajuste del modelo - VALIDACION')
disp('Estadísticas para la calibración "GLUCOSA"')
GD_i = GlucosaEst-GlucosaMed;
NumDatos = length(GD_i);
% Bias
Bias = (1/NumDatos)*sum(GD_i)
% Mean absolute error
MAE = (1/NumDatos)*sum(abs(GD_i))
% Modeling efficiency
mediaYObs = mean(GlucosaMed);
mediaYSim = mean(GlucosaEst);
NumEF = sum(GD_i.^2);
DenEF = sum((GlucosaMed-mediaYObs).^2);
EF = 1-(NumEF/DenEF)
RegresLineal = regstats(GlucosaEst,GlucosaMed);
disp('MSE = ')
disp(RegresLineal.mse)
disp('RMSE = ')
disp(sqrt(RegresLineal.mse))
disp('b = ')

```

```

disp(RegresLineal.beta)
disp('R^2 = ')
disp(RegresLineal.rsquare)
disp('r = ')
disp(sqrt(RegresLineal.rsquare))

disp('Estadísticas para la calibración "MALTOSA"')
MDi = MaltosaEst-MaltosaMed;
NumDatos = length(MDi);
% Bias
Bias = (1/NumDatos)*sum(MDi)
% Mean absolute error
MAE = (1/NumDatos)*sum(abs(MDi))
% Modeling efficiency
mediaYObs = mean(MaltosaMed);
mediaYSim = mean(MaltosaEst);
NumEF = sum(MDi.^2);
DenEF = sum((MaltosaMed-mediaYObs).^2);
EF = 1-(NumEF/DenEF)
RegresLineal = regstats(MaltosaEst,MaltosaMed);
disp('MSE = ')
disp(RegresLineal.mse)
disp('RMSE = ')
disp(sqrt(RegresLineal.mse))
disp('b = ')
disp(RegresLineal.beta)
disp('R^2 = ')
disp(RegresLineal.rsquare)
disp('r = ')
disp(sqrt(RegresLineal.rsquare))

disp('Estadísticas para la calibración "MALTOTRIOSIA"')
NDi = MaltotriosaEst-MaltotriosaMed;
NumDatos = length(NDi);
% Bias
Bias = (1/NumDatos)*sum(NDi)
% Mean absolute error
MAE = (1/NumDatos)*sum(abs(NDi))
% Modeling efficiency
mediaYObs = mean(MaltotriosaMed);
mediaYSim = mean(MaltotriosaEst);
NumEF = sum(NDi.^2);
DenEF = sum((MaltotriosaMed-mediaYObs).^2);
EF = 1-(NumEF/DenEF)
RegresLineal = regstats(MaltotriosaEst,MaltotriosaMed);
disp('MSE = ')
disp(RegresLineal.mse)
disp('RMSE = ')
disp(sqrt(RegresLineal.mse))
disp('b = ')
disp(RegresLineal.beta)
disp('R^2 = ')
disp(RegresLineal.rsquare)
disp('r = ')
disp(sqrt(RegresLineal.rsquare))

```

```

disp('Estadísticas para la calibración "ETANOL"')
EDi = EtanolEst-EtanolMed;
NumDatos = length(EDi);
% Bias
Bias = (1/NumDatos)*sum(EDi)
% Mean absolute error
MAE = (1/NumDatos)*sum(abs(EDi))
% Modeling efficiency
mediaYObs = mean(EtanolMed);
mediaYSim = mean(EtanolEst);
NumEF = sum(EDi.^2);
DenEF = sum((EtanolMed-mediaYObs).^2);
EF = 1-(NumEF/DenEF)
RegresLineal = regstats(EtanolEst,EtanolMed);
disp('MSE = ')
disp(RegresLineal.mse)
disp('RMSE = ')
disp(sqrt(RegresLineal.mse))
disp('b = ')
disp(RegresLineal.beta)
disp('R^2 = ')
disp(RegresLineal.rsquare)
disp('r = ')
disp(sqrt(RegresLineal.rsquare))

figure(1)
subplot(3,1,1);
plot(t,y(:,1),'-b');
hold on
plot(t1,GlucosaMed,'or');
grid
xlabel('Tiempo (horas)');
ylabel('Glucosa (mol/m^3)');
title('Concentración de Glucosa, Maltosa y Maltotriosa');
legend('Valores estimados','Valores Medidos','Location','NorthEast');
%
subplot(3,1,2);
plot(t,y(:,2),'-b');
hold on
plot(t1,MaltosaMed,'or');
grid
xlabel('Tiempo (horas)');
ylabel('Maltosa (mol/m^3)');
%
subplot(3,1,3);
plot(t,y(:,3),'-b');
hold on
plot(t1,MaltotriosaMed,'or');
grid
xlabel('Tiempo (horas)');
ylabel('Maltotriosa (mol/m^3)');
%
figure(2)

```

```

plot(t,y(:,4));
grid
xlabel('Tiempo (horas)');
ylabel('Biomasa (mol/m^3)');
title('Concentración de Biomasa');
legend('Valores estimados','Location','SouthEast');

%
figure(3)
plot(t,y(:,5),'-b');
hold on
plot(t2,EtanolMed2,'or');
grid
xlabel('Tiempo (horas)');
ylabel('Etanol (mol/m^3)');
title('Concentración de Etanol');
legend('Valores estimados','Valores Medidos','Location','SouthEast');

```

CALIBRACIÓN MEDIANTE *LSQNONLIN* (FUNCIÓN PARA CALCULAR EL VALOR DE LA FUNCIÓN OBJETIVO):

```

function f = Eval_beer(X)
global RXG RXM RXN REG REM REN
global X10 G10 M10 N10
global VG VM VN KG KM KN KprimaG KprimaM
% Parametros de reaccion
RXG=0.134;
RXM=0.268;
RXN=0.402;
REG=1.92;
REM=3.84;
REN=5.76;

% Condiciones Iniciales (Mediciones)
X10=19.3;
G10=84.8;
M10=210.4;
N10=22.03;

% Parámetros poco reelevantes de acuerdo con el análisis de
sensibilidad
KprimaG=262;    %K'G
KprimaM=17500;  %K'M

% Parametros calibrados
VG=X(1);
VM=X(2);
VN=X(3);
KG=X(4);
KM=X(5);
KN=X(6);

time = 0:0.25:250;

```

```

opciones=simset('solver','ode45','RelTol',1e-8);
[t,x,y]=sim('homebeer',time,opciones);
% Valor medido de la variables (5 variables)
GlucosaMed=[84.8 33.4 7.7 0.4 0.5 0.3 0.4 0.7 0.05]';
MaltosaMed=[210.4 61.2 31.08 11.12 6.46 3.68 2.56 0.61 0.68]';
MaltotriosaMed=[22.03 17.3 10.7 8.7 8.5 10.1 9.7 7.6 1.2]';
BiomasaMed=[19.3 61.6 123.8 190.1 187.1 187.1 191.6 188.6 196]';
EtanolMed=[0 294.0 648.1 996.3 998.5 1074.5 1074.5 1113.5 1080.8]';

t1=[0 12 18 30 36 57 81 129 201]'; %tiempo de la medición (horas)

m2=[t y(:,1) y(:,2) y(:,3) y(:,4) y(:,5)];

GlucosaEst=[];
MaltosaEst=[];
MaltotriosaEst=[];
EtanolEst=[];
BiomasaEst=[];

for i=1:length(t1)
    for j=1:length(m2)
        if t1(i) == m2(j,1)
            GlucosaEst = [GlucosaEst; m2(j,2)];
            MaltosaEst = [MaltosaEst; m2(j,3)];
            MaltotriosaEst = [MaltotriosaEst; m2(j,4)];
            BiomasaEst = [BiomasaEst; m2(j,5)];
            EtanolEst = [EtanolEst; m2(j,6)];
            break;
        end
    end
end

ErrorG = (GlucosaEst-GlucosaMed);
ErrorM = (MaltosaEst-MaltosaMed);
ErrorT = (MaltotriosaEst-MaltotriosaMed);
ErrorE = (EtanolEst-EtanolMed);

% Función objetivo
f =ErrorG+ErrorM+ErrorT+ErrorE*.21;

```