



Scientia Agropecuaria

Sitio en internet: www.sci-agropecu.unitru.edu.pe

Facultad de Ciencias
Agropecuarias

Universidad Nacional de
Trujillo

Control difuso del oxígeno disuelto, pH y temperatura de un biorreactor columna de burbujas en la producción de biomasa de *Candida utilis*

Fuzzy control of dissolved oxygen, pH and temperature of bubble column bioreactor for *Candida utilis* biomass production

Hubert Arteaga Miñano^{*}; Víctor Vásquez Villalobos^{*}

Departamento de Ciencias Agroindustriales, Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II s/n. Ciudad Universitaria. Trujillo, Perú.

Recibido 03 diciembre 2011; aceptado 12 abril 2012

Resumen

Se implementó un sistema de control automático por lógica difusa de oxígeno disuelto (OD), pH y temperatura en un biorreactor columna de burbujas (BCB), para la producción de biomasa de *Candida utilis* CECT 10704. Su desempeño se comparó con el control proporcional clásico. Para el control se diseñó, construyó y programó una tarjeta de adquisición de datos, utilizando el software Eagle 4.14 para el diseño y Microcode Studio Plus 3.0 para la programación. Se elaboró un programa en Visual Basic 6.0, que enlazó con MatLab 7.0 para el control difuso; utilizando la inferencia Mandani, funciones de membresía de entrada y salida trapezoidal y triangular; 4 reglas para el OD, 3 para el pH y 3 para la temperatura; con conector tipo *and* y para desdifusificar el método del centroide. La evaluación de la producción de biomasa se realizó mediante la determinación de peso seco y cinética de crecimiento con el modelo de Gompertz. El control difuso del OD, pH y temperatura, mostró superioridad al control proporcional; caracterizado por un control muy cercano al *set point* y una menor desviación estándar. El control difuso del OD en 6 ppm, pH de 6 y 30°C, permitió tener el mayor peso seco de 7.65±0.02 g/L; así como el mayor crecimiento máximo de 1.51±0.2, la menor fase de adaptación de 0.27±0.01 h y la mayor velocidad específica de crecimiento de 0.7±0.01 h⁻¹ de *Candida utilis*.

Palabras clave: Control difuso, *Candida utilis*, biorreactor columna de burbujas (BCB), modelo de Gompertz.

Abstract

An automatic control system by dissolved oxygen (DO) fuzzy logic, pH and temperature in a bubble column bioreactor (BCB) for *Candida utilis* CECT 10704 biomass production was implemented. Their performance was compared with the classical proportional control. A data acquisition card for the control was designed, built and programmed, using the 4.14 Eagle software for the design and the 3.0 Microcode Studio Plus for programming. A program in 6.0 Visual Basic, which linked up with 7.0 MatLab for fuzzy control was developed; using Mandani inference, membership functions of input and output trapezoidal and triangular; 4 rules for the DO, 3 for pH and 3 for temperature, with connector *and* type and for defuzzifying the centroid method. Evaluation of biomass production was performed by determining dry weight and growth kinetics with the Gompertz model. The fuzzy control performance of DO, pH and temperature showed superiority in proportional control, characterized by a very close control to *set point* and a low standard deviation. DO Fuzzy control at 6 ppm, pH of 6 and 30°C, allowed to have the greatest dry weight of 7.65±0.02 g/L and the highest maximum growth of 1.51±0.2, the lowest adaptation phase of 0.27±0.01 h and the greatest specific speed of *Candida utilis* growth rate of 0.7±0.01 h⁻¹.

Keywords: Fuzzy control, *Candida utilis*, bubble column bioreactor (BCB), Gompertz model.

1. Introducción

La desnutrición en el Perú llega a 7.1%, los mayores y menores porcentajes en Améri-

ca Latina se presentan en Guatemala con 24.2% y en Chile 0.8% respectivamente (CEPAL - UNICEF, 2006); la que está

^{*} Autores para correspondencia

Email: harteaga@unitru.edu.pe (H. Arteaga); vvasquez@unitru.edu.pe (V. Vásquez).

influenciado por un déficit de proteínas en la dieta diaria y es en esta problemática, que las proteínas unicelulares (PUC) especialmente las levaduras adquieren importancia, por su elevado valor proteico (aproximadamente 40%); las cuales han sido utilizadas por los humanos por cientos de años, en fermentación de bebidas alcohólicas y fabricación de pan. Actualmente son usadas como fuentes de proteínas, enzimas, vitaminas, así como aditivos alimentarios, acondicionadores, aromatizantes, medios microbiológicos, así como alimento para ganado. Estas fortalezas adquieren relevancia en un contexto de baja producción agrícola e incremento rápido de la población, por lo que son una alternativa para la industria, concitando la atención de los científicos (Bekatorou *et al.*, 2006).

Exebio (2003) reportaron en un diagnóstico para la PUC en el mercado Norteamericano, de la Unión Europea y Asia que *Candida utilis* y *Saccharomyces cerevisiae* mostraron una elevada tasa de crecimiento en el consumo humano. *Candida utilis* posee una alta velocidad de crecimiento, en un sustrato rico en azúcares; necesitando otros factores como oxígeno, pH y temperatura; los que deben controlarse adecuadamente (Giraldo y Lopez, 2008), lo cual se puede realizar en biorreactores pues estos cumplen la función de proporcionar condiciones ambientales propicias a los microorganismos que se cultivan, lo cual debe ser monitoreado y controlado en forma manual o automática. Sin embargo los métodos convencionales de control automático son complejos y no siempre proporcionan resultados satisfactorios (Alcalá, 2007); en tanto los controladores difusos son una alternativa, ya que mediante algoritmos convierten una estrategia de control lingüístico en una estrategia de control automático (Cotero, 2003). Estos se basan en la aplicación de la lógica difusa, la cual permite manejar y procesar información inexacta, imprecisa o subjetiva, similar al cerebro humano. El diseño de un

controlador difuso está basado en reglas que operan con conjuntos difusos, utilizando tres pasos: difusificación, inferencia y desdifusificación (Puig, 2008).

En esta investigación se comparó la efectividad de un controlador difuso del OD, pH y temperatura de un BCB, con respecto a un proporcional, durante la producción de biomasa de *Candida utilis*.

2. Materiales y métodos

Se utilizó un inóculo de 10^6 - 10^7 células/mL de *Candida utilis* CECT 10704. Melaza de 6.5°Brix con buffer acetato pH 4 y/o buffer fosfato pH=6. Cámara Neubauer. Microscopio óptico 400x, computador Pentium IV, con software Eagle 4.14, Microcode Studio Plus 3.0, Visual Basic 6.0 y MatLab 7.0. BCB (Figura 1) de h=0.48 m y d=0.123 m, con aspersor cribado malla N° 16, resistencias de 100 W, sensor de temperatura LM35. Compresor de aire (140 L/min, presión 116 Psi). Trampa con NaCl al 20%. Oxímetro Hach Sension 6, pHmetro Hach Sension 2, válvula solenoide (2.94 MPa). Recipientes con CH₃COOH al 10% y NaOH al 4%. Tarjeta de control y adquisición de datos (TAD), cuyos componentes principales fueron: 3 reles para activar las válvulas solenoides y 2 para las resistencias, 1 microcontrolador, puntos de conexión para la fuente, sensor de temperatura, válvulas y resistencias. Puertos seriales de conexión para el pHmetro, oxímetro y computador.

Proceso de control

La operación del BCB se realizó diluyendo manualmente la melaza en agua y adicionando buffer acetato ó fosfato, dependiendo del pH de experimentación (4 ó 6), luego se adicionó el inóculo de *Candida*. El sistema de producción se observa en la Figura 1, notándose que el BCB contó con un sensor de temperatura, resistencias para la manutención de la temperatura, electrodos de OD y de pH respectivamente.

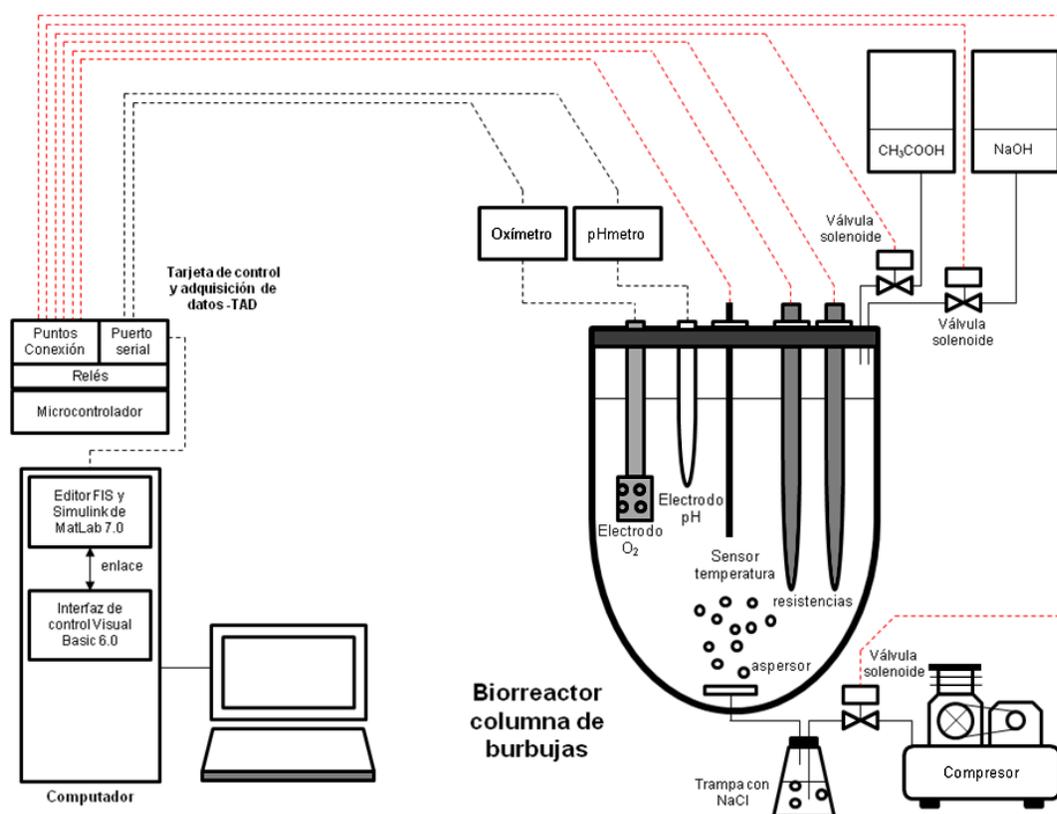


Figura 1. Sistema de producción de *Candida utilis* con control difuso de OD, pH y temperatura del BCB.

El proceso se inició con el calentamiento del cultivo hasta la temperatura deseada (26-30°C), paralelamente se mantuvieron los valores de pH de acuerdo a los valores requeridos (4 a 6), por activación de las válvulas se dosificó CH₃COOH ó NaOH. Asimismo la apertura de la válvula permitió el ingreso del aire del compresor hasta llegar a los niveles de OD requerido (4 ó 6 mg/L). Durante todo el proceso se mantuvo el control de acuerdo a los valores del *set point* a través de la conexión con la tarjeta TAD y el computador. Durante el proceso se estableció la comunicación con el microcontrolador en 100 ms, leyendo el estado de las variables temperatura, pH y OD. El control se realizó desde la interfaz Visual Basic, leyendo la temperatura, pH, OD; lo que permitió activar: las resistencias de acuerdo a la temperatura, las válvulas ácido/base de acuerdo al valor de pH y la válvula de aire de acuerdo a lo indicado por el oxímetro, conforme se observa en diagrama de flujo de la Figura 2. El enlace

entre MatLab y Visual Basic se consiguió utilizando los archivos DLLActive-X desarrollados por Jacinto (2005) conforme el diagrama de flujo de la Figura 3.

Implementación del control

La implementación de control por lógica difusa del BCB, se realizó a través del diseño (software Eagle 4.14) y construcción de la TAD, la cual integra un microcontrolador programado con editor Microcode Studio Plus 3.0 (lenguaje Picbasic). La programación de la interfaz de control se realizó en Visual Basic 6.0, enlazado a Matlab 7.0 mediante la programación en Simulink, a través del editor FIS. Se utilizó la inferencia Mamdani, con funciones de membresía de entrada y salida trapezoidal y triangular. Para la elaboración de las reglas se utilizó un conector tipo *and* y para la desdifusificación se aplicó el método del centroide.

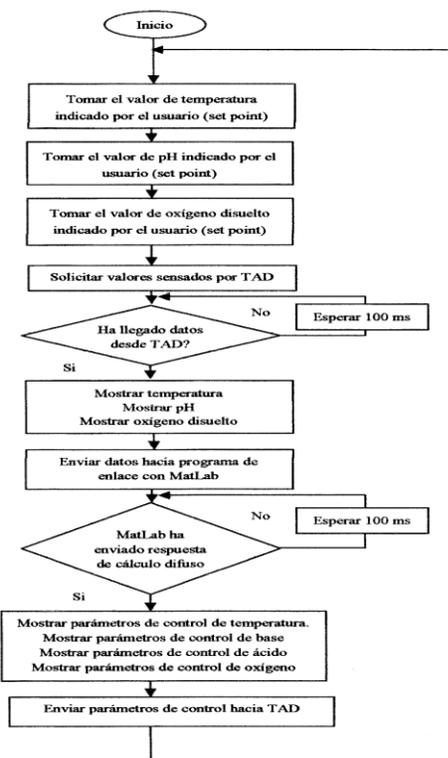


Figura 2. Diagrama de flujo para el programa de control difuso.

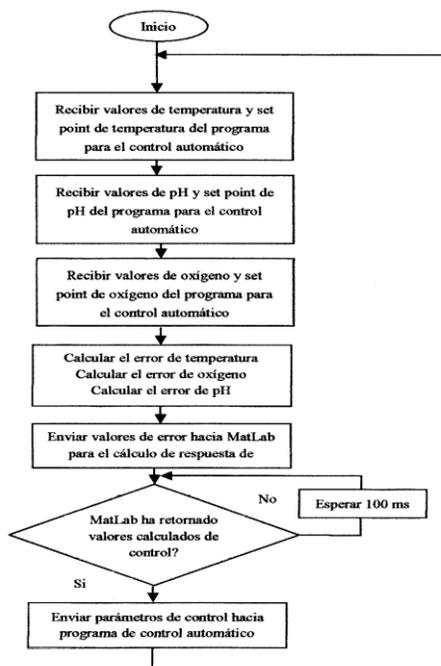


Figura 3. Diagrama de flujo para el enlace de MatLab 7.0 con Visual Basic 6.0.

La producción de biomasa en el BCB fue evaluada en relación al control difuso del

OD (4 y 6 ppm), pH (4 y 6) y temperatura (26 y 30°C). El diseño en MatLab del control difuso de las variables se realizó de la siguiente forma.

Oxígeno disuelto:

Denominación de entrada: ErrorOxi, es el error entre el valor deseado (*set point*) y el valor sensado del OD. Se estableció un universo del discurso de -20 a +20 ppm con 4 conjuntos difusos: cero (*trapmf* -20, -20, 0, -0.2), positivo bajo (*trimf* 0, 0.2, 0.4), positivo medio (*trimf* 0.2, 0.4, 0.6), positivo alto (*trapmf* 0.6, 1.2, 20, 20).

Denominación de salida: PorOxi, es el porcentaje del tiempo que permanece abierta la válvula solenoide, de la tubería proveniente del compresor, lo que incrementa la concentración de OD hasta llegar al valor deseado (*set point*). Se estableció un universo del discurso de 0 a 100, siendo 0 para la válvula completamente cerrada y 100 abierta completamente; así como 4 conjuntos difusos: detenido (*trimf* 0, 0, 5), O₂ bajo (*trimf* 0, 5, 10), O₂ medio (*trimf* 5, 15, 25) y O₂ alto (*trapmf* 10, 90, 100, 100). Se estableció 4 reglas entre la entrada y la salida:

1. If (Error Oxi is Cero) then (PorOxi is Detenido).
2. If (Error Oxi is Positivo Bajo) then (PorOxi is Oxígeno Bajo).
3. If (Error Oxi is Positivo Alto) then (PorOxi is Oxígeno Alto).
4. If (Error Oxi is Positivo Medio) then (PorOxi is Oxígeno Medio).

En la Figura 4 se observa las vistas del editor para el control del OD y en la Figura 5 se observa las vistas de la programación en Simulink, interfaz en Visual Basic y enlace con Matlab.

pH ácido:

Denominación de entrada: ErrorAci, es el error entre el valor deseado (*set point*) y el valor sensado del pH. Se estableció un universo del discurso de -14 a +14 con 3 conjuntos difusos: negativo alto (*trapmf* -14, -14, -2, -1), negativo bajo (*trimf* -2, -1, 0), cero (*trapmf* -1, 0, 14, 14).

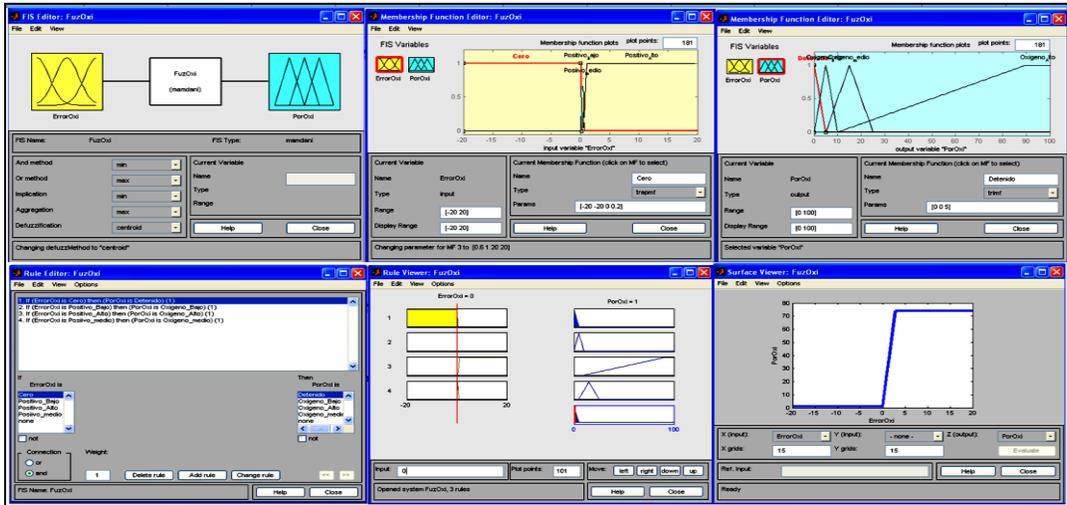


Figura 4. Vistas de la programación en MatLab del control difuso del oxígeno disuelto.

Denominación de salida: PorAci, es el porcentaje de tiempo que permanece abierta la válvula para el ingreso del CH_3COOH . Se estableció un universo del discurso de 0 a 100, así como 3 conjuntos difusos: detenido (*trimf* 0, 0, 10), ácido bajo (*trimpf* 0, 10, 50), ácido alto (*trapmf* 10, 50, 100, 100). Se estableció 3 reglas entre la entrada y la salida:

1. If (ErrorAci is Cero) then (PorAci is Detenido).
2. If (ErrorAci is Negativo Bajo) then (PorAci is Acido Bajo).
3. If (ErrorAci is Negativo Alto) then (PorAci is Acido Alto).

pH básico:

Denominación de entrada: ErrorBas, es el error entre el valor deseado (*set point*) y el valor sentido del pH. Se estableció un

universo del discurso de -14 a +14 con 3 conjuntos difusos: cero (*trapmf* -14, -14 0, 1), positivo bajo (*trimpf* 0, 1, 2), positivo alto (*trapmf* 1, 2, 14, 14).

Denominación de salida: PorBas, es el porcentaje de tiempo que permanece abierta la válvula para el ingreso del NaOH. Se estableció un universo del discurso de 0 a 100, así como 3 conjuntos difusos: detenido (*trimpf* 0, 0, 10), base bajo (*trimpf* 0, 10, 50), base alto (*trapmf* 10, 50, 100, 100). Se estableció 3 reglas entre la entrada y la salida:

1. If (ErrorBas is Cero) then (PorBas is Detenido).
2. If (ErrorBas is Negativo Bajo) then (PorBas is Base Bajo).
3. If (ErrorBas is Negativo Alto) then (PorBas is Base Alto).

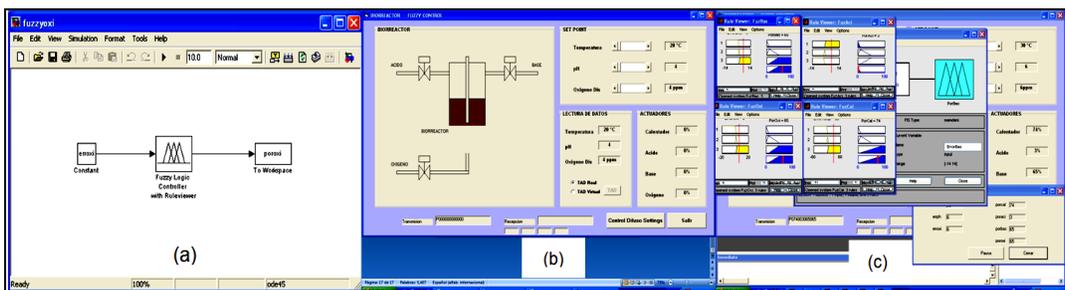


Figura 5. (a) Bloque simulink, (b) Interfaz de control Visual Basic (c) Enlace del Visual Basic con MatLab para el control difuso.

Temperatura:

Denominación de entrada: ErrorTemp, es el error entre el valor deseado (*set point*) y el valor sensado de la temperatura. Se estableció un universo del discurso de -60 a +60°C con 3 conjuntos difusos: cero (*trapmf* -60, -60, 0, 3), positivo bajo (*trimpf* 0, 3, 6), positivo alto (*trapmf* 3, 6, 60, 60).

Denominación de salida: PorCal, es el porcentaje del tiempo que permanecen encendidas las resistencias. Se estableció un universo del discurso de 0 a 100, siendo 0 para las resistencias apagadas y 100 para las resistencias encendidas; así como 3 conjuntos difusos: apagado (*trimpf* 0, 0, 10), calentador bajo (*trimpf* 0, 10, 50), calentador alto (*trapmf* 10, 90, 100, 100). Se estableció 3 reglas entre la entrada y la salida:

1. If (ErrorTemp is Cero) then (PorCal is Apagado).
2. If (ErrorTemp is Positivo Bajo) then (PorCal is Calentador Bajo).
3. If (ErrorTemp is Positivo Alto) then (PorCal is Calentador Alto).

Determinación de la biomasa y cinética de crecimiento

Se realizó mediante recuento celular (células/mL), peso seco (g/L) y aplicación del modelo matemático de Gompertz [$YA = a * \exp(-\exp(b-c*TA))$; $YA = \log(N/N_0)$, $TA = \text{tiempo (h)}$] (Nakashima *et al.*, 2000), obteniéndose los parámetros cinéticos de: crecimiento máximo (a), fase de adaptación (λ) y velocidad específica de crecimiento (μ_{\max}).

Diseño experimental y análisis estadístico

Se realizó un ANOVA utilizándose un Diseño Factorial 2^3 con 8 tratamientos y 3 repeticiones (24 unidades experimentales), comparados con la prueba de Tukey a un nivel de significancia de $p < 0.05$.

3. Resultados y discusión

Desempeño del control difuso comparado con el control proporcional

En la Tabla 1 se observa el desempeño del control, notándose que para las variables el

promedio en control difuso es más cercano al *set point*, que el control proporcional. Asimismo la desviación estándar en el control difuso es menor, lo que significa un control más estable (Yong *et al.*, 2006; Traore *et al.*, 2005). En la Figura 6 se observa las fluctuaciones tanto para el OD el pH y la temperatura.

En el OD se observa claramente las no linealidades en el control de esta variable; Chang y Min (2009) lo atribuyen a las condiciones variantes en el medio, retrasos, el sensor de ruido y la dinámica lenta del sensor; en este caso el electrodo del oxímetro. Así mismo, la concentración de oxígeno disuelto cambia aproximadamente 10 veces más rápido que la masa celular y la concentración del sustrato, por lo que es la más importante variable fisiológica para el control y la optimización de fermentaciones (Gomes y Menawat, 2000). En tanto Coelho *et al.*, (2012) compararon a través de simulaciones el desempeño de tres tipos de controladores para el control del oxígeno disuelto en el tratamiento de aguas residuales en un reactor de lodo activado, estos fueron; el difuso adaptativo, el difuso básico y el proporcional integral; encontrando que el difuso adaptativo es mejor, ya que presenta una desviación máxima del *set point* de 0.0204, en comparación con 0.0473 y 0.2486 para el difuso básico y el proporcional integral respectivamente. A su vez Galluzo *et al.* (2001) encontraron valores de 0.1 a 0.2 mg/L para la desviación estándar.

El pH mostró un comportamiento estable por el uso del buffer acetato a pH 4; Menzl *et al.* (1995) destacan que el uso de soluciones amortiguadoras de gran capacidad evitan los sobreimpulsos; estos investigadores determinaron que el controlador difuso comparado con un PID común, fue capaz de ajustar el valor del pH más rápido logrando mantener una variación de 0.1 - 0.2 unidades que es mayor a 0.05 reportado por Babusca *et al.* (2002). En tanto Rocha y Escorcía (2010) concluyen que un controlador difuso del

pH mejora la dinámica del sistema gracias a la experticia del ingeniero de planta con relación a la acción del controlador PID, que por más que se reajusten los parámetros que intervienen en el esquema de sintonización del controlador, no se puede eliminar el comportamiento oscilatorio que introduce este a la dinámica del proceso; pero si se logra obtener una velocidad de respuesta rápida y desviación de la variable de interés menor con respecto a la consigna que la acción del controlador difuso. Sin embargo, no es suficiente el comportamiento que presenta el proceso ante los cambios que se producen en la consigna sobre la variable manipulada; debe complementarse con el comportamiento del proceso en presencia de perturbaciones que en el proceso de interés intervienen el flujo de la solución acida y amortiguadora. Ante esta perspectiva el controlador difuso presenta una ventaja, ya que este correlaciona el error presente con el cambio de error en el tiempo, mientras que el controlador PID al no definir la variación del error lleva al sistema a un estado críticamente oscilatorio que representa el límite de estabilidad.

En la temperatura se observa que tanto el control difuso como el control proporcional, no evidencian presencia de sobreimpulsos y esto debido a que los actuadores utilizados fueron dos resistencias de 100W, cuya potencia evita

sobremetida la presencia de estos y el tiempo de levante es una respuesta normal al inicio del proceso. Ferreyra y Fuentes (2000) encontraron que el control difuso presenta tiempos de respuesta menores que el control PID, esto es quizás la ventaja más importante de este control ya que ocasiona que la temperatura se establezca más rápido que con el control PID; ambos controles presentan valores muy pequeños de error en estado estable, sin embargo el control difuso tiene un error más pequeño en la mayoría de los casos. Por su parte, Moreno *et al.* (2006) reportaron que las diferencias entre un controlador PID difuso y un convencional, se aprecian en los sobreimpulsos presentes en las respuestas ante el cambio de la referencia y en el tiempo de levantamiento.

En la investigación encontraron que ambos llegan al estado estacionario en tiempos similares tal como lo reportado en esta investigación.

Producción de biomasa de *Candida utilis*

En la Tabla 2 se observa que el T8 con valores de *set point* más elevados de 6 ppm de OD, pH 6.0 y temperatura de 30°C, permitió obtener mayor biomasa (7.65 ± 0.02 g/L), con un mayor $a = 1.51 \pm 0.2$, menor $\lambda = 0.27 \pm 0.01$ h y mayor $\mu_{\max} = 0.7 \pm 0.01$ h⁻¹; cuyos valores fueron obtenidos del desarrollo del modelo matemático de Gompertz (Figura 7).

Tabla 1

Estadísticos de evaluación del desempeño del control difuso en comparación con el control proporcional del OD, pH y temperatura.

Variable a controlar	Tipo de control	Estadísticos de evaluación de desempeño				
		Set Point	Medida Promedio	Desviación estándar	Desviación máxima del Set point	Tiempo de levante (min)
OD (ppm)	Control difuso	6	5.9043	0.2282	0.0957	---
	Control proporcional	6	5.5038	0.2781	0.4962	---
pH	Control difuso	4	4.0801	0.0011	0.0801	---
	Control proporcional	4	4.0809	0.0030	0.0809	---
Temperatura (°C)	Control difuso	30	29.5705	1.1441	0.4295	27
	Control proporcional	30	29.3903	1.7251	0.6097	25

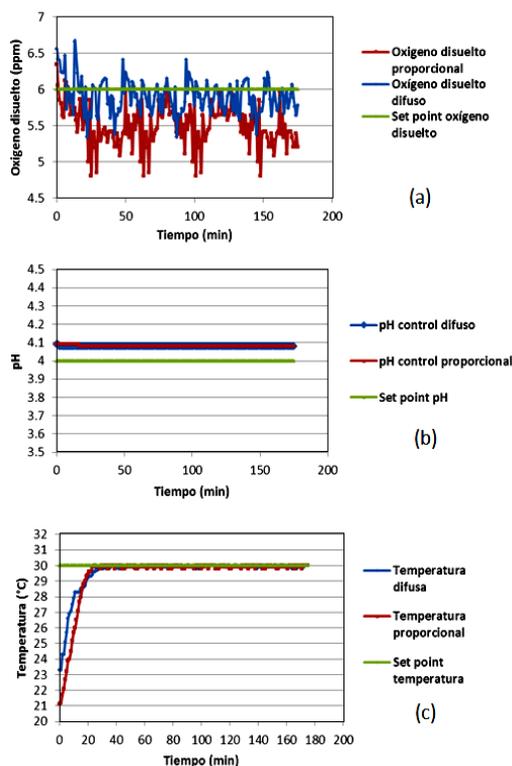


Figura 6. Comparación del desempeño del control difuso y el proporcional para el OD (a), pH (b) y temperatura (c).

Al respecto en la prueba de Tukey se determinó que en el peso seco el T8 no presentó diferencias significativas al T4, al igual que para la fase de adaptación que además no se diferencia al T7; en el crecimiento máximo es similar al T7, no siendo así para la velocidad específica de crecimiento en la que no tiene comparación. Del ANOVA se determinó que tanto el OD, pH y la temperatura presentan efecto significativo. En el peso seco solo el pH presentó efecto positivo significativo ($p < 0.05$). En tanto en el crecimiento máximo OD, pH y temperatura presentan efecto positivo; en la fase de adaptación el OD y la temperatura presentan efecto positivo mientras que el pH presenta un marcado efecto negativo y en la velocidad específica de crecimiento tanto OD, pH y temperatura nuevamente presentan efecto positivo.

Rosma y Ooi (2006) sostienen que el aumento del flujo de aireación hasta 2 L/min, permite el incremento de la biomasa, el sobreabastecimiento de oxígeno puede inhibir el crecimiento de *Candida utilis*. Situación que concuerda con Wang *et al.* (2010) quienes encontraron diferencias significativas en la producción de biomasa al trabajar en rangos de 30 a 50% de saturación de OD y que por encima de 50% no se evidencia diferencia significativa. Yao *et al.* (2001), refieren que la inhibición de alto nivel de oxígeno podría ocurrir durante la fase de crecimiento muy temprano y el efecto depresivo de la baja disponibilidad de oxígeno se limitaba al resto del proceso, lo que sugiere que las etapas de fermentación requiere diferentes concentraciones de oxígeno disuelto; una buena disponibilidad de OD estimula la captación de glucosa y de los fosfatos; en tanto la reducida disponibilidad puede dar lugar a la excreción de ácido láctico y ácido acético metabolitos que limitan la producción de biomasa.

Uribe (2007), estableció que el pH adecuado para el crecimiento de *Candida guilliermondi* es de 6, y que el pH intracelular entre estas levaduras varía entre 5.8 a 6.8 razón adicional que explicaría, los mejores resultados a un pH de 6 para *Candida utilis*, el cual fue logrado a través del control difuso. Sin embargo algunas levaduras presentan posibilidad de desarrollarse a pH de 4.5 a 6.5. Esta habilidad para crecer en amplio rango, se debe a que en la membrana plasmática se intercambian iones a través de uniportadores catiónicos, simportadores catión/sustrato o antiportadores M^+/H^+ . Este mecanismo de entrada y de salida de iones a través de las membranas, mantiene los movimientos de potasio y protones, permitiendo que el pH intracelular se mantenga regulado, debido al reingreso de protones mediante un intercambio catión/protón y la salida de sodio o potasio (Ramírez y Peña, 2000).

Tabla 2

Valores de a , λ , μ_{\max} y peso seco de *Candida utilis*. Letras distintas corresponden a tratamientos con diferencias significativas comparados con Tukey a un nivel de significancia del 5%.

Tratamientos OD (ppm)/pH/Temperatura (°C)	a (log N/N ₀)	λ (h)	μ_{\max} (h ⁻¹)	Peso seco (g/L)
T1:4/4/26	1.14±0.07 ^a	1.17±0.14 ^a	0.30±0.02 ^a	3.01±0.07 ^a
T2:4/4/30	1.21±0.06 ^a	1.37±0.12 ^a	0.41±0.02 ^b	3.11±0.03 ^a
T3:4/6/26	0.99±0.01 ^b	1.09±0.03 ^a	0.30±0.00 ^a	7.38±0.07 ^b
T4:4/6/30	1.23±0.02 ^a	0.39±0.01 ^b	0.44±0.01 ^{b,c}	7.56±0.02 ^c
T5:6/4/26	1.15±0.08 ^a	1.73±0.06 ^c	0.45±0.03 ^{b,c}	3.25±0.02 ^d
T6:6/4/30	1.07±0.01 ^{a,b}	3.32±0.24 ^d	0.42±0.04 ^{b,c}	3.45±0.03 ^e
T7:6/6/26	1.42±0.02 ^c	0.29±0.04 ^b	0.60±0.01 ^d	7.33±0.05 ^b
T8:6/6/30	1.51±0.02 ^c	0.27±0.01 ^b	0.70±0.01 ^e	7.65±0.02 ^c

Uribe (2007) reporta que para levaduras el crecimiento óptimo se presenta en el rango de 25 a 37°C, siendo 30°C la temperatura en la cual se ha encontrado mayor crecimiento, entre las cuales se encuentran las familias de *Candida*, por este motivo se estableció en el control un *set point* a 30°C valor que fue mantenido durante el control difuso. El principal efecto de las altas temperaturas sobre las células es la desintegración de la membrana y la integridad de su pared. Sin embargo se sabe que los microorganismos incluyendo las levaduras, regulan la composición lipídica de la membrana en respuesta a la temperatura a la que están expuestas, con el fin de obtener una fluidez óptima en el interior y el exterior de la célula para un funcionamiento celular normal.

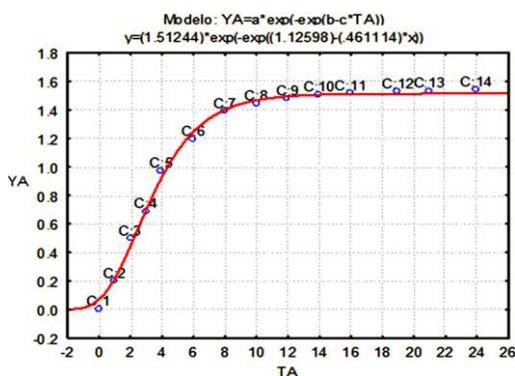


Figura 7. Cinética de crecimiento de *Candida utilis* (T8).

4. Conclusiones

El control difuso del OD, pH y temperatura presentó un mejor desempeño comparado con el control proporcional, siendo el pH el que muestra mayor efecto significativo en la producción de biomasa de *Candida utilis*. La combinación de 6 ppm de OD, pH de 6 y 30°C, permite obtener la mayor producción de biomasa *Candida utilis* (7.65±0.02 g de masa seca/L) con mayores valores de $a=1.51±0.2$, $\mu_{\max}=0.7±0.01$ h⁻¹ y menor $\lambda=0.27±0.01$ h.

Referencias bibliográficas

- Alcalá, J. 2007. Sistemas Basados en Reglas Difusas. Módulo III del curso Controladores Lógicos. Departamento de Informática. Universidad de Jaen, España. (Diapositivas). Disponible en: http://wwwdi.ujaen.es/asignaturas/cl/teoria/transparencias/tema5_cl.pdf
- Bekatorou, A.; Psarianos, C.; Koutinas, A. 2006. Production of foods grade yeast. Food. Technol. Biotechnol. 44 (3) 407- 415.
- Babuska, R.; Oosterhoff, J.; Oudshoorn, A.; Bruijn, P. 2002. Fuzzy self-tuning PI control of pH in fermentation. Engineering Applications of Artificial Intelligence 15:3-15
- CEPAL – UNICEF. 2006. Desnutrición Infantil en América Latina y el Caribe. Desafíos. Boletín de la infancia y adolescencia sobre el avance de los objetivos de desarrollo del Milenio. Número 2. Accesado 3.Julio.2011. Disponible en: http://www.eclac.org/dds/noticias/desafios/8/23948/Desafios_Nro2_esp.pdf
- Chang, K.; Min, H. 2009. Industrial experience of process identification and set-point decision algorithm in a full-scale treatment plant. Journal of Environmental Management 90: 2823–2830.
- Coelho, C.; Matos, R.; Cardoso, J. 2012. Dissolved oxygen control of the activated sludge wastewater treatment process using stable adaptive fuzzy control. Computers and Chemical Engineering (37)152– 162.

- Cotero, J. 2003. Control de procesos. Control clásico, moderno e inteligente. México. Consultado. 11.Mayo.2010. Disponible en <http://www.mde.iteso.mx/titulacion/estudio%20de%20caso/ejemplos/marco%20teorico%20en%20progreso.pdf>.
- Exebio, J. 2003. Diagnóstico de la oferta y demanda del mercado de la Unión Europea, Asiático y Estadounidense de proteína unicelular. Tesis Ingeniero Agroindustrial. Universidad Nacional de Trujillo.
- Ferreira, A.; Fuentes, R. 2000. Estudio Comparativo entre Control PID y Difuso. XV SOMI Congreso y Instrumentación, CON-4, Guadalajara, Jal. México.
- Galluzzo, M.; Ducato, R.; Bartolozzi, V.; Picciotto, A. 2001. Expert control of DO in the aerobic reactor of an activated sludge process. *Computers and Chemical Engineering* 25: 619–625.
- Giraldo, V.; López, P. 2008. Producción de proteína unicelular a partir de desechos agroindustriales. *Revista VirtualPro* Noviembre. Colombia.
- Gomes, J.; Menawat, A. 2000. Precise control of dissolved oxygen in bioreactors-a model-based geometric algorithm. *Chemical Engineering Science* 55: 67-68.
- Jacinto, J. 2005. Visual Basic 6.0 para ingenieros. Universidad Nacional de Piura. Perú
- Menzl, S.; Stuhler, M.; Benz, R. 1995. A self adaptive computer-based pH Measurement and fuzzy-control system. *War. Res.* 30(4): 981-99.
- Moreno, R.; Aros, P.; Ribet, J. 2006. Diseño de un controlador pid difuso aplicado en un horno rotatorio para producir carbón activado. Memoria INGELECTRA 2006, Congreso estudiantil de ingeniería eléctrica y electrónica. Universidad Austral de Chile.
- Nakashima, S.; André, C.; Franco, B. 2000. Revisão: Aspectos básicos da microbiologia preditiva. *Brazilian Journal of Food Technology* 3: 41-51.
- Puig, I. 2008. Concepto avanzados en seguridad: lógica difusa. RADWARE antivirus. Consultado 11.Mayo.2011. Disponible en: <http://www.cesca.es/promocio/congressos7radware/LogicaDifusaTecnica.pdf>.
- Ramírez, J.; Peña, A. 2000. Intercambiadores catión/protón en levaduras. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 42: 181-187.
- Rocha, C.; Escorcia, J. 2010. Neutralización de los niveles de pH por medio de Lógica difusa. Eighth LACCEI Latin American and Caribbean Conference for Engineering and Technology (LACCEI'2010) "Innovation and Development for the Americas", June 1-4, 2010. Arequipa, Perú.
- Rosma, A.; Ooi, K. 2006. Production of *Candida utilis* Biomass and Intracellular Protein Content: Effect of Agitation Speed and Aeration Rate. *Malaysian Journal of Microbiology* 2(2): 15-18.
- Traore, A.; Grieu, S.; Puig, S.; Corominas, L.; Thiery, F.; Polit, M.; Colprim, J. 2005. Fuzzy control of dissolved oxygen in a sequencing batch reactor pilot plant. *Chemical Engineering Journal* 11113-19.
- Uribe, L. 2007. Caracterización fisiológica de levaduras aisladas de la filofera de mora. Trabajo de grado para obtener el título de Microbióloga Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Yao, H.; Tian, Y.; Tade, M.; Ang, H. 2001. Variations and modelling of oxygen demand in amino acid production. *Chemical Engineering and Processing* 40: 401-409.
- Yong, M.; Yong-Zhen, P.; Xiao-lian, W.; Shu-ying, W. 2006. Intelligent control aeration and external carbon addition for improving nitrogen removal. *Environmental Modelling & Software* 21: 821-828.
- Wang, Y. H.; Fang, X. L.; Li, Y. P.; Zhang, X. 2010. Effects of constant and shifting dissolved oxygen concentration on the growth and antibiotic activity of *Xenorhabdus nematophila*. *Bioresource Technology* 101(19): 7529-7536.