

Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați
Facultatea de Automatică, Calculatoare,
Inginerie Electrică și Electronică

ing. Sorina Anca ȘIPOȘ

TEZĂ DE DOCTORAT

**Contribuții privind modelarea și conducerea
automată a procesului de fermentație alcoolică**

Conducător științific

Prof. univ. dr. ing. Emil CEANGĂ

681.5
560

Părinților mei cu mult drag

MULȚUMIRI

Domnului Profesor univ. dr. ing. Șerban Paul AGACHI îi mulțumesc pentru susținerea și încrederea acordate.

Domnului Profesor univ. dr. ing. Sergiu CARAMAN îi mulțumesc pentru sfaturile bune și implicarea în tema tezei de doctorat.

Domnului Profesor univ. dr. ing. Emil CEANGĂ îi mulțumesc pentru răbdarea și insistența de a mă canaliza în munca de cercetare spre rezultatele acestei teze de doctorat. Îi mulțumesc, de asemenea, că am avut deosebita onoare de a fi îndrumată și formată, în toți acești ani de doctoratură, de Domnia Sa în domeniul de știință : Automatica, domeniu care a devenit o pasiune și totodată o mare provocare.

Mamei mele, ing. Sora ȘIPOȘ îi mulțumesc pentru că sunt și pentru ceea ce sunt.

Tatălui meu, dr. ing. Victor ȘIPOȘ îi mulțumesc pentru dăruirea și deschiderea care le-a avut în formare mea ca inginer, pentru susținerea morală, până în ultimele clipe ale vieții sale, pe toată perioada de realizare a acestei teze de doctorat. Vei rămâne mereu în sufletul meu și îmi este și îmi va fi enorm de dor de tine, tatăl meu drag!

1 iunie 2011, Sibiu

Anca Șipoș



II 39.844

ROMÂNIA
MINISTERUL EDUCAȚIEI, CERCETĂRII, TINERETULUI ȘI SPORTULUI
UNIVERSITATEA DUNĂREA DE JOS DIN GALAȚI

Strada Domnească nr. 47, cod poștal 800008
Galați, România
E-mail: rectorat@ugal.ro



Tel: (+4) 0336-130.109; 0336-130.108; 336/130.104
Fax: (+4) 0236 - 461.333
www.ugal.ro

24.15.12 05.2011

Către

Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați vă face cunoscut că în data de 16.06.2011, ora 10⁰⁰, în sala 4405 a Facultății A.C.I.E.E., va avea loc susținerea publică a tezei de doctorat intitulată: "Contribuții privind modelarea și conducerea automată a procesului de fermentație alcoolică", elaborată de domnul/doamna SIPOȘ SORINA-ANCA, în vederea conferirii titlului științific de doctor în Domeniul de doctorat - Automatică.

Comisia de doctorat are următoarea componență :

Presedinte:

Prof.univ.dr.ing. Dorel AIORDĂCHIOAIE
Decan - Facultatea de Automatică, Calculatoare, Inginerie Electrică și Electronică
Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați

**Conducător
de doctorat:**

Prof.univ.dr.ing. Emil CEANGĂ
Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați

Referent 1:

Prof.univ.dr.ing. Paul-Serban AGACHI
Universitatea Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca

Referent 2:

Prof.univ.dr.ing. Nicolae PARASCHIV
Universitatea Petrol-Gaze din Ploiești

Referent 3:

Prof.univ.dr.ing. Sergiu CARAMAN
Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați

Cu această ocazie vă transmitem rezumatul tezei de doctorat și vă invităm să participați la susținerea publică. În cazul în care doriți să faceți eventuale aprecieri sau observații asupra conținutului lucrării, vă rugăm să le transmiteți în scris pe adresa Universității, str. Domnească nr. 47, 800008 - Galați, Fax - 0236 / 461353.

RECTOR,

Prof.dr.ing. Viorel MÎNZU

[Signature]

266.596



SECRETAR DOCTORAT,

Ing. Luiza AXINTE

[Signature]

Cuprins

1. Introducere	7
1.1. Motivația	7
1.2. Mod de abordare.....	8
2. Stadiul cunoașterii în domeniu	11
2.1. Introducere.....	11
2.2. Stadiul actual privind modelarea proceselor de fermentație	13
2.2.1. Modelarea proceselor biotehnologice	13
2.2.2. Modelarea cineticilor de reacție	15
2.2.2.1. <i>Cinetica creșterii microorganismelor</i>	15
2.2.2.2. <i>Tipuri de modele cinetice</i>	17
2.2.2.3. <i>Modele cinetice nestructurate</i>	19
2.2.2.4. <i>Modelarea unui bioreactor batch</i>	30
2.3. Stadiul actual privind estimarea stării și a parametrilor proceselor de fermentație	33
2.3.1. Estimarea deterministă a stării și a parametrilor proceselor de fermentație	33
2.3.1.1. <i>Introducere</i>	33
2.3.1.2. <i>Metode de estimare a stării în procesele de fermentație</i>	34
2.3.1.3. <i>Observer Luenberger extins pentru estimarea stării proceselor de fermentație</i>	35
2.3.1.4. <i>Estimarea parametrilor modelelor proceselor biotehnologice pe baza unui observer de stare</i>	36
2.3.2. Estimarea stohastică a stării și a parametrilor proceselor de fermentație	37
2.3.2.1. <i>Filtrul Kalman</i>	38
2.3.2.2. <i>Filtrul Kalman extins</i>	38
2.3.2.3. <i>Filtrul Kalman extins pentru estimarea stării proceselor de fermentație</i>	39
2.3.2.4. <i>Filtrul Kalman extins pentru estimarea stării și parametrilor proceselor neliniare</i>	40
2.3.2.5. <i>Filtrul Kalman extins pentru estimarea stării și parametrilor proceselor de fermentație</i>	40
2.4. Stadiul actual privind conducerea proceselor de fermentație alcoolică prin Sistem Expert	41
2.4.1. Structura unui sistem expert	41
2.4.2. Obiectivele și funcțiile SE	45
2.5. Concluzii	48
3. Contribuții privind modelarea procesului de fermentație alcoolică	51
3.1. Planificarea experimentelor și prelucrarea datelor	51
3.1.1. Obiectivele planificării experimentelor	51
3.1.2. Metoda planificării suprafeței de răspuns	52
3.1.2.1. <i>Tipuri de modele utilizate în planificarea experimentelor</i>	53
3.1.2.2. <i>Aplicarea metodei suprafeței de răspuns în cazul procesului de fermentație alcoolică a vinurilor albe</i>	54
3.2. Modelul procesului de fermentație alcoolică	61
3.2.1. Modelul matematic	62
3.3. Analiza sensibilității	71
3.3.1. Analiza sensibilității în raport cu starea inițială	71
3.3.2. Analiza sensibilității în raport cu parametrii	78
3.4. Concluzii	82
4. Contribuții privind estimarea stării procesului de fermentație alcoolică	85
4.1. Introducere	85
4.2. Reglarea automată a temperaturii fazei de creștere exponențială a biomasei	86

4.3. Analiza posibilităților de obținere indirectă a informațiilor din proces	94
4.4. Estimarea stării procesului de fermentație alcoolică	97
4.4.1. Definirea structurii sistemului în vederea estimării stării	97
4.4.2. Estimarea stării utilizând observare extinse	101
4.4.3. Estimarea stării utilizând filtre Kalman extinse	107
4.4.4. Estimarea stării în faza de declin	111
4.5. Concluzii	113
5. Contribuții privind conducerea avansată a procesului de fermentație alcoolică	115
5.1. Introducere	115
5.2. Obiectivele conducerii automate a procesului de fermentație	115
5.3. Realizarea bazei de cunoștințe a sistemului de conducere	116
5.3.1. Principalele surse de achiziție a cunoștințelor	116
5.3.2. Informații privind procesul de fermentație alcoolică la vinurile albe rezultate din analiza unor date experimentale reprezentative obținute pe bioreactorul EVO de 10L	118
5.4. Conducerea procesului de fermentație alcoolică	123
5.4.1. Conducerea procesului de fermentație la nivelul întâi	123
5.4.2. Conducerea procesului de fermentație la nivelul al doilea	125
5.5. Realizarea unei aplicații de conducere a procesului de fermentație alcoolică	131
5.6. Concluzii	136
6. Concluzii generale și contribuții	137
6.1. Concluzii generale	137
6.2. Contribuții	138
6.3. Diseminare	139
Bibliografia	141
Anexa 1. Programele realizate în mediul de programare MATLAB pentru capitolul 3	147
Anexa 2. Programele realizate în mediul de programare MATLAB pentru capitolul 4	153
Anexa 3. Programul realizat în mediul de control și achiziție de date NEPTUNE pentru capitolul 5	163

1. Introducere

1.2. Mod de abordare

Bazele științifice ale proceselor fermentative au fost puse la jumătatea secolului XIX, de către Luis Pasteur, care a demonstrat că fermentația nu este un fenomen fără viață, ci din contră, un proces biochimic realizat cu ajutorul celulelor microorganismelor [3]. Fermentația reprezintă procesul biologic de oxido-reducere producător de energie, în care substanțele organice sunt și donori și acceptori de electroni, ca de exemplu zaharurile care prin degradare produc energie înmagazinată în formă de ATP, format prin reacții de fosforilare.

Dintre procesele biotehnologice care au la bază procese de fermentație este și tehnologia vinului. Obținerea vinului este o combinație unică de artă și știință. Ea constă într-o înlănțuire firească de etape biotehnologice, care au drept scop transformarea substratului fermentescibil din must în alcool etilic și bioxid de carbon, sub acțiunea drojdiei de fermentație.

Gustul și aroma băuturilor fermentate sunt rezultatul unui complex, un echilibru fin a sute de compuși chimici diferiți, proveniți din materiile prime și din procesele biotehnologice de fabricație.

Biotehnologia de obținere a vinului are la bază fermentația alcoolică, proces care se desfășoară într-o succesiune de etape bine definite, acestea conducând la formarea mai multor

produși intermediari, prin acțiunea mai multor sisteme enzimactice specifice drojdiilor de fermentație, și în final la alcool etilic și bioxid de carbon, ca produși principali de metabolism.

Ținerea sub control a procesului de fermentație alcoolică este foarte dificil de realizat, dar, prin dezvoltarea unor modele analitice, în conformitate cu realitatea, și realizarea unei conduceri avansate a acestui bioproces, se poate demara acțiunea de satisfacere a cerințele actuale ale politicii globale privind calitatea, consistența și siguranța produselor destinate consumului uman.

Cercetarea științifică în cadrul acestei teze de doctorat a pornit de la studiul procesului de fermentație alcoolică la vinurile albe ca un proces biotehnologic, proces microbiologic. S-a realizat un studiu experimental în vederea cunoașterii mai amănunțite a procesului fermentativ, în regim dinamic și staționar, apoi s-au dezvoltat modele structural-funcționale, pe faze, ale procesului de fermentație și modele utilizând tehnici de inteligență artificială. Modelarea a pus în evidență necesitatea studiului și elaborării de estimatori de stare pentru mărimi importante ale procesului, dar care nu au putut fi măsurate on-line deoarece laboratorul în care s-a lucrat nu a avut echipamentul respectiv și, de altfel, în industrie aceste mărimi nu se măsoară continuu. Ele se determină în laborator la începutul procesului și la sfârșitul acestuia. Astfel, s-a realizat un estimator de stare pe bază de filtru Kalman extis pentru procesul de fermentație alcoolică.

În urma studiului documentar și experimental, datorită complexității procesului, a variabilității proprietăților inițiale ale materiilor prime și a rezultatelor obținute în fermentațiile efectuate, pentru conducerea avansată a acestuia s-a dezvoltat un sistem de conducere bazat pe cunoștințe.

Partea de informare și cercetare a fost demarată în cadrul perioadei de doctoratură la Universitatea „Babeș-Bolyai” din Cluj-Napoca, a continuat la Universitatea ”Dunărea de Jos” din Galați și în cadrul proiectului PN II – Capacități, nr.100CP/ din 14.09.2007, 2007-2009: Food Safety Control, prin dezvoltarea unui sistem integrat de modelare, simulare și conducere avansată a bioproceselor fermentative din industria alimentară, a cărui director a fost doctoranda.

Teza de doctorat este structurată în 5 capitole după cum urmează:

- introducere;
- stadiul cunoașterii în domeniu;
- contribuții privind modelarea;
- contribuții privind estimarea stării;
- contribuții privind conducerea.

2. Stadiul cunoașterii în domeniu

Stadiul actual al cunoașterii a fost axat pe trei direcții principale, având în vedere structura planului de cercetare din cadrul acestei teze de doctorat:

- modelarea proceselor de fermentație alcoolică;
- estimarea stării și a parametrilor proceselor de fermentație;
- conducerea proceselor de fermentație alcoolică printr-un sistem bazat pe cunoștințe.

3. Contribuții privind modelarea procesului de fermentație alcoolică

3.1.2.2. Aplicarea metodei suprafeței de răspuns în cazul procesului de fermentație alcoolică a vinurilor albe

Caracteristici de bază ale procesului de fermentației alcoolică a vinurilor albe

1. Pe suprafața strugurilor (dar și pe frunze și tulpină) se găsește o gamă variată și numeroasă de microorganisme. Odată cu prelucrarea acestora, microorganismele ajung în must unde, în funcție de temperatură, compoziția mediului, cantitatea de dioxid de sulf etc.

are loc o selecție, în must rămânând doar acele microorganisme care s-au adaptat mai bine și care s-au aflat la început într-un număr mai mare. Dintre toate microorganismele, drojdiile sunt agenții fermentativi cei mai importanți pentru vinificație.

Drojdiile care produc fermentația alcoolică fac parte din încregătura *Mycophyta*, clasa *Ascomycetes*, ordinul *Protoasceles*, familia *Saccharomycetaceae*, genul *Saccharomyces*, care cuprinde numeroase specii, din care peste 20 cu rol în vinificație. Cele mai însemnate sunt: *Saccharomyces cerevisiae Hansen* și *Saccharomyces oviformis Osterwalder*. *Saccharomyces cerevisiae Hansen* se găsește pe struguri într-o proporție mare; împreună cu *Klockera apiculata* formează circa 90% din totalul drojdiilor, având contribuția cea mai mare la fermentația alcoolică a mustului. *Saccharomyces oviformis Osterwalder* se deosebește de *Saccharomyces elipsoidus* prin capacitatea sa de a rezista la doze mari de alcool, fapt pentru care predomină în mediu spre sfârșitul fermentației alcoolice.

2. Ciclul de fermentare este reflectat cel mai bine de curba de fermentare. În figura 3.1 este prezentată sintetic derularea unei fermentații alcoolice, la temperatură constantă și însoțită de o degajare de CO_2 instantanee (viteza instantanee de degajare este proporțională cu viteza de fermentație) [33].

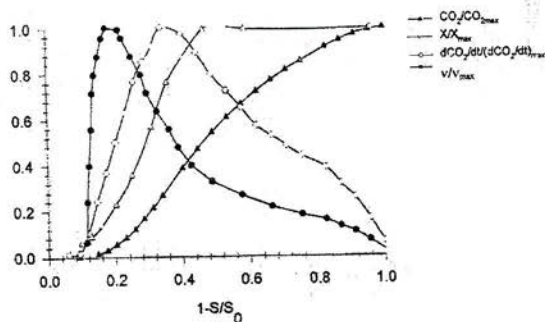


Fig. 3.1. Descrierea unui ciclu de fermentație alcoolică [33]

Evoluția mărimilor CO_2/CO_{2max} , X/X_{max} , $dCO_2/dt/(dCO_2/dt)_{max}$, v/v_{max} , în care: CO_2 este dioxidul de carbon degajat; X – biomasa totală; dCO_2/dt – viteza de degajare a dioxidului de carbon; $v = 1/X \cdot dCO_2/dt$ – viteza specifică de degajare a dioxidului de carbon; S – concentrația substratului, S_0 – concentrația inițială a substratului

Curba de fermentație poate fi împărțită în trei perioade:

➤ faza de latență care corespunde perioadei de saturare a mediului cu CO_2 (dizolvarea CO_2 în must). La sfârșitul acestei faze, biomasa este în jur de 107 celule/ml. Durata acestei faze este dependentă de temperatură, dar nu depășește în general 24 h.

➤ faza de fermentație tumultuoasă, fază care durează până la sfârșitul perioadei de creștere a biomasei. În timpul acestei faze se trece succesiv printr-un maxim al vitezei

specifice de degajare de CO_2 ($v_{max} = \frac{1}{X} \cdot \left(\frac{dC_{CO_2}}{dt} \right)_{max}$).

În această fază, viteza specifică maximă de creștere a CO_2 este atinsă foarte repede, timp în care se produce în jur de 5g/l de CO_2 , ceea ce corespunde unui consum de zahăr de 10 g/l.

Valoarea sa este interesantă din cel puțin trei motive:

a. ea permite descoperirea musturilor care au carență de azot; există o relație între conținutul de azot asimilabil (azotul amoniacal + azotul din α amine) și viteza maximă de degajare de CO_2 ;

b. ea este răspunzătoare de o degajare mare de căldură, deci apare necesitatea răcirii procesului pentru menținerea constantă a temperaturii;

c. ea permite estimarea duratei de fermentare.

➤ în timpul celei de a treia faze (*faza staționară*), biomasa intră în autoliză și numărul de celule moarte crește, acestea decantându-se. O serie de fenomene sunt implicate în această scădere de activitate levuriană, principalul fiind *epuizarea mediului în nutrienți de azot asimilabil*. Azotul nu intervine numai în faza de creștere a biomasei, ci și în cinetica de transport al zaharurilor către drojii de-a lungul fermentației. Ori, această viteză de transport este adeseori etapa limitatoare a cineticii de fermentație. Pentru a menține nivelul de activitate constant a levurilor pe timpul fazei staționare, este necesar un adaos continuu de azot. La sfârșitul perioadei de fermentație, deoarece zaharurile reziduale sunt în concentrație mică, viteza fermentației scade. Această scădere poate fi fie bruscă, fie lentă (cazul fermentațiilor lungi). Cinetica finală este categoric dictată de numărul de celule încă vii.

3. Varietatea cineticilor de fermentație. Cinetica fermentației este influențată de:

- varietatea de musturi (adică, conținutul de zaharuri, de nutrienți de azot). De exemplu, musturile bogate în zahăr fermentează mai încet, în timp ce cele sărace mai rapid și mult mai zgomotos.

- tipul de maia de drojii selecționate folosite corelat cu datele meteorologice ale anului respectiv;

- temperatură. De exemplu, între 15°C și 25°C , în regim izoterm, viteza de fermentație este dublată atunci când temperatura procesului este cu 8°C mai mare decât cea obișnuită. De asemenea, nu numai nivelul temperaturii este important, cât și regimul termic (dacă sistemul este izoterm sau nu).

4. Oprirea fermentației. În principal, este influențată de carențele de azot asimilabil, de concentrația inițială de azot în must, de carențele de vitamine, de concentrația de tiamină, de oxigen și de efectul inhibitor al alcoolului etilic, acizilor grași, al toxinelor (de a căror concentrație sunt reponsabile, printre altele, drojiiile killer, deoarece acestea omoară anumite drojii, ducând la producerea toxinelor) și al pesticidelor.

Procesul de fermentație alcoolică a vinurilor albe a fost studiat în cadrul laboratorului de cercetare: „Modelarea, simularea și conducerea avansată a proceselor și bioproceselor tehnologice din industria alimentară”, Universitatea „Lucian Blaga” din Sibiu, Facultatea de Științe Agricole, Industrie Alimentară și Protecția Mediului. Laboratorul a fost dotat cu echipament prin proiectul PNCDI II, Capacități nr. 100CP/I 2007-2009, cu titlul: „Food Safety Control prin dezvoltarea unui sistem integrat de modelare, simulare și conducere avansată a bioproceselor fermentative din industria alimentară”.

Experimentele făcute au urmărit influența unor variabile asupra timpului de fermentație. Mărimile selectate a fi urmărite în acest studiu au fost: temperatura, T° ; concentrația de substrat, S și concentrația de biomasă, X . Mediul de fermentație a avut următoarea compoziție: a fost folosită drojdia de vin *Saccharomyces cerevisiae* YEPD însămănțată pe mediul de cultură a cărei compoziție a fost: $5 \text{ g l}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$, $2 \text{ g l}^{-1} \text{ (NH}_4\text{)}_2\text{SO}_4$, $0,4 \text{ g l}^{-1} \text{ (MgSO}_4\text{)} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ și mediul de fermentație format din extract de malț. Conținutul în zahăr al soluției de extract de malț a fost suplimentat cu zaharoză, după caz.

Astfel, modelul matematic este dat de ecuația:

$$t = 144.9825 + 4.757^{\circ} + 13.3294X - 0.0387T^{\circ}S - 0.6452X^2 \quad (3.5)$$

Se pot observa următoarele:

1. Termenul liber are o valoare mare, ceea ce indică influența și a altor factori

asupra procesului de fermentație, cum ar fi conținutul de nutrienți al mustului de struguri, conținutul de vitamine etc.

2. Influența temperaturii asupra procesului este pusă în evidență de valoarea destul de mare a coeficientului a_1 , ceea ce corespunde realității.

3. Valoarea coeficientului mărimii X demonstrează faptul că tipul de maia de drojzii selecționate folosit este foarte important în desfășurarea fermentației (influențează viteza fermentației, durata acesteia și implicit conținutul de alcool și debitul de formare a dioxidului de carbon).

4. Acțiunea combinată a temperaturii cu substratul (conținutul de zaharuri fermentescibile) este slabă dar în sens negativ. Aceasta confirmă mai mult faptul că un conținut prea mare de substrat duce la o fermentație mai înceată (acesta inhibând dezvoltarea drojdiilor). De asemenea, un conținut prea mic de zahăr în must face ca procesul de fermentație să aibă o durată prea mică ducând la un vin slab alcoolizat, nearomat, cu o viteză mare de degajare de bioxid de carbon, pe o durată scurtă de timp.

Calcularea și vizualizarea suprafeței de răspuns s-a realizat prin folosirea comenzii:

rstool(F,y,MODEL)

unde argumentele de apelare F , y și $MODEL$ sunt cele calculate mai sus.

Fereastra suprafeței de răspuns este prezentată în figura 3.2.

Fereastra suprafeței de răspuns prezintă, pentru fiecare factor: x_1 -temperatura, T^0 ; x_2 -concentrația de substrat, S și x_3 -concentrația de biomasă, X , un grafic al variației prezise a răspunsului funcție de factorul respectiv:

- prima fereastră, din stânga spre dreapta, reprezintă timpul de fermentație prezis (y_1 cu o anumită precizie, curba verde) atunci când variază valoarea temperaturii de fermentație (pe abscisă). Curbele roșii reprezintă variația prezisă a celor doi factori: concentrația de substrat și concentrația de biomasă.

- fereastra din mijloc reprezintă timpul de fermentație prezis (y_1) atunci când variază valoarea concentrației inițiale de substrat;

- fereastra din dreapta reprezintă timpul de fermentație prezis (y_1) atunci când variază valoarea concentrației inițiale de biomasă.

Pentru extinderea rezultatelor obținute prin aplicarea metodei suprafeței de răspuns, s-a decis dezvoltarea unui model matematic analitic, nestructurat, care să cuprindă:

- un model cinetic capabil să descrie consumul de substrat, formarea de alcool etilic, evoluția biomasei și formarea de dioxid de carbon;

- un model energetic care să cuprindă influența temperaturii și a regimului termic asupra procesului de fermentație.

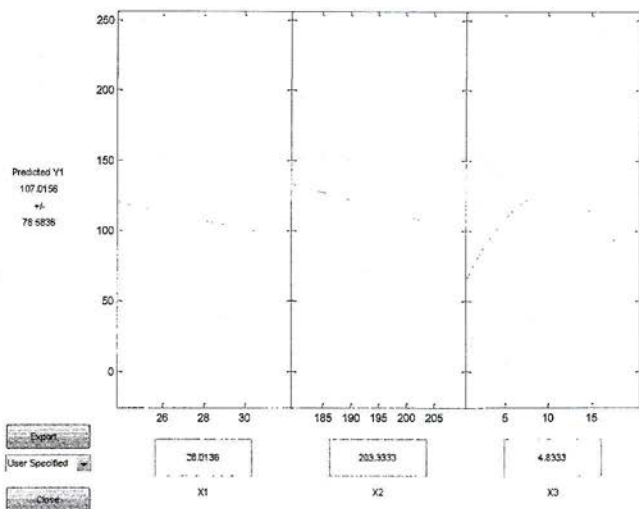


Fig. 3.2. Fereastra *rstoool* a modelului calculat

3.2. Modelul procesului de fermentație alcoolică

S-a realizat un model matematic nestructurat al procesului de fermentație alcoolică după cum urmează [34,35]:

Drojdia și mediul de cultură

A fost folosită drojdia de vin *Saccharomyces cerevisiae* YEPD însemăntată pe mediul de cultură a cărei compoziție a fost: 5 g l⁻¹ KH₂PO₄, 2 g l⁻¹ (NH₄)₂SO₄, 0.4 g l⁻¹ (MgSO₄).7H₂O, 1 g l⁻¹ extract de drojdie, 50 g l⁻¹ glucoză și must de Mauzac (sterilizat prin pasteurizare flash). Conținutul în zahăr a mustului de struguri a fost suplimentat cu zaharoză până la 180 g l⁻¹ și a fost adăugat 40 ml h l⁻¹ de tiaminol. Conținutul de SO₂ a fost adus la 50 mg l⁻¹ iar pH-ul a fost ajustat la 3.8 H₃PO₄. Mediul de fermentare împreună cu bioreactorul au fost autoclavate timp de 20 minute la 120 °C.

Condițiile de fermentare și echipamentul folosit

S-a folosit un bioreactor New-Brunswick dotat cu agitator, senzori de pH și temperatură.

Mărimile de operare au fost:

Temperatura	28 °C
Viteza de agitare	150 rpm
pH	3.8
Concentrația în glucoză	210 g l ⁻¹

Fermentația a fost anaerobă, oxigenul necesar creșterii biomasei fiind cel dizolvat în must.

Măsurarea mărimilor urmărite

Concentrația de biomasă a fost calculată pe baza a trei mărimi diferite: densitate optică, substanță uscată și număr total de celule (numărate prin metoda camerei Thoma). Conținutul de glucoză a fost măsurat prin metoda DNS iar alcoolul etilic prin HPLC.

Pe baza datelor experimentale obținute a fost alcătuit următorul model matematic:

3.2.1. Modelul matematic

A fost folosit principiul de modelare distinctă a fiecărei faze de evoluție a curbei de biomasă în timp, aferentă celulelor vii, viabile. Curba $X_v(t)$ a fost împărțită pe faze, în conformitate cu aspectele fenomenologice ale dezvoltării microorganismelor (figura 3.3), astfel:

- faza latentă, notată cu 1;
- faza exponențială, notată cu 2;
- faza de declin, notată cu 3.

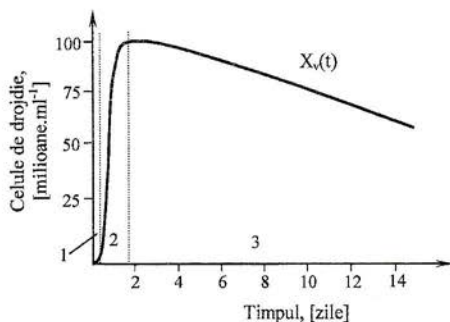


Fig. 3.3. Evoluția biomasei viabile X_v .

Faza latentă Această fază este caracterizată de o viteză minimă de lucru a drojdiei (consumul de zahăr este ≈ 0) și de o viteză de multiplicare a drojdiei zero. Această fază este de adaptare a drojdiei cu mediul de reacție. Ecuația propusă este:

$$t_{lat} = \frac{a}{T^0} + b \quad (3.6)$$

unde t_{lat} este durata fazei de latență, [h];

a și b – sunt coeficienți calculați pe baza datelor experimentale prin metoda polinomială,

valorile calculate sunt: $a=558002$ și $b=-1833.2$;

T^0 – temperatura, [$^{\circ}$ C].

Modelul cinetic al substratului, alcoolului, biomasei și dioxidului de carbon, incluzând fazele 2 și 3, este:

- biomasa:

- faza exponențială (model Aiba):

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{max} \cdot \left(\frac{S}{K_S + S} \right) \cdot e^{-K_p \cdot P} \cdot X \quad (3.7)$$

unde viteza specifică maximă de creștere a biomasei (μ_{max}) reprezintă rezultatul dintre viteza de creștere directă, determinată de temperatură, și efectul denaturării biomasei datorită căldurii reacției exoterme. Expresia este dată mai jos și conține doi termeni Arrhenius:

$$\mu_{max} = A_1 \cdot e^{-\frac{E_{a1}}{RT^0}} - A_2 \cdot e^{-\frac{E_{a2}}{RT^0}} \quad (3.8)$$

- faza de declin: $\frac{dX}{dt} = f \cdot X \cdot k$ (3.9)

unde k este o constantă cinetică care variază cu temperatura conform relației lui Arrhenius:

$$k = A \cdot e^{-\frac{E_a}{R \cdot T^0}} \quad (3.10)$$

- alcoolul:

- faza exponențială (model Aiba):

$$\frac{dP}{dt} = q_{p \max} \cdot \left(\frac{S}{K_{SP} + S} \right) \cdot e^{-K_{pp} \cdot P} \cdot X \quad (3.11)$$

- faza de declin (model Bovée și Strehaiano):

$$P = P_0 + \eta \cdot (S_0 - S) \quad (3.12)$$

- substratul:

- faza exponențială (model Aiba):

$$\frac{dS}{dt} = - \left(\frac{1}{Y_{XS}} \cdot \frac{dX}{dt} \right) - \left(\frac{1}{Y_{FS}} \cdot \frac{dP}{dt} \right) \quad (3.13)$$

- faza de declin (model Bovée și Strehaiano):

$$\frac{dS}{dt} = -k \cdot S^\alpha \cdot P^\beta \quad (3.14)$$

- dioxidul de carbon :

$$\frac{dC_{CO_2}}{dt} = g \cdot C_{CO_2} \cdot k \cdot \frac{S}{K_{SP} + S} \cdot \ln \left(k \cdot \frac{S}{K_{SP} + S} \cdot t \right) \quad (3.15)$$

Modelul energetic

Legile de conservare a energiei pentru masa de reacție și agentul termic sunt date de ecuațiile (3.16) și respectiv (3.17):

$$5.54 \frac{\Delta H_r \cdot dS}{\rho \cdot c_p \cdot dt} - \frac{K_T \cdot A_T}{V \cdot \rho \cdot c_p} (T^0 - T_{ag}^0) = \frac{dT^0}{dt} \quad (3.16)$$

$$\frac{F_{ag}}{V_{ag}} (T_{ag}^0 - T_{ag}^0) + \frac{K_T \cdot A_T}{V_{ag} \cdot \rho_{ag} \cdot c_{p_{ag}}} (T^0 - T_{ag}^0) = \frac{dT_{ag}^0}{dt} \quad (3.17)$$

Rezultate și discuții

Pentru faza de latență s-a obținut o ecuație liniară care descrie dependența duratei fazei de temperatură. Ecuația este valabilă pentru un intervalul de timp de 0-100 h, durată confirmată și de literatura de specialitate [40]. Figura 3.4 prezintă curba de tendință calculată prin metoda regresiei polinomiale.

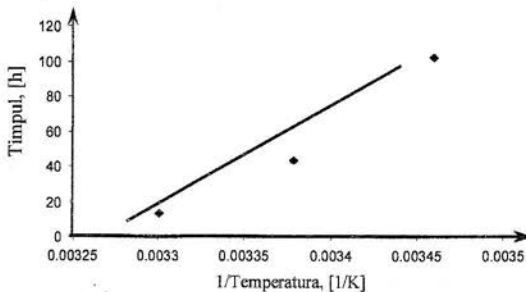


Fig. 3.4. Curba de tendință, a fazei de latență, calculată pe baza datelor experimentale

Ecuția fazei latente completează modelul Aiba pentru faza exponențială și Bovée-Strehaiano pentru faza de declin. Modelul Aiba include efectele inhibitoare ale produsului de reacție și, în faza exponențială, valoarea maximă a vitezei specifice de multiplicare a biomasei corespunde cu cea reală. Modelul Bovée-Strehaiano este rezultatul analizei macroscopice a procesului de fermentație alcoolică, considerând acesta ca o simplă conversie a zaharurilor în alcool, cu o productivitate constantă în alcool pe timpul reacției biochimice. Acest model descrie bine faza de declin.

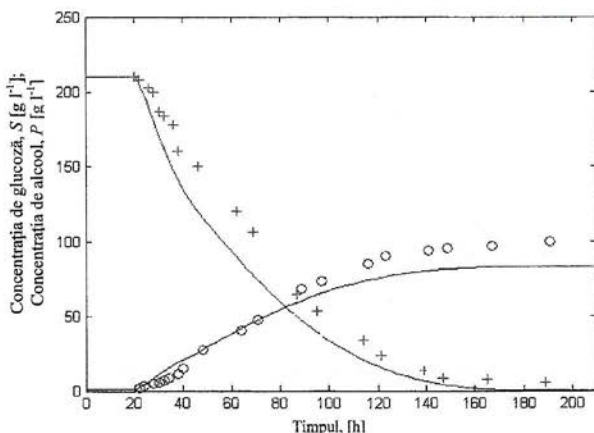


Fig. 3.5. Evoluția glucozei și alcoolului în timpul fermentației
Confruntarea rezultatelor simulării pe baza modelului (linie) cu datele experimentale: glucoza (+) și alcoolul (o).

Valorile concentrațiilor calculate pe baza modelului ale substratului și produsului versus timp au fost comparate cu datele experimentale (figura 3.5). Diferența maximă între rezultatele experimentale și simulare este mai mică de 10%.

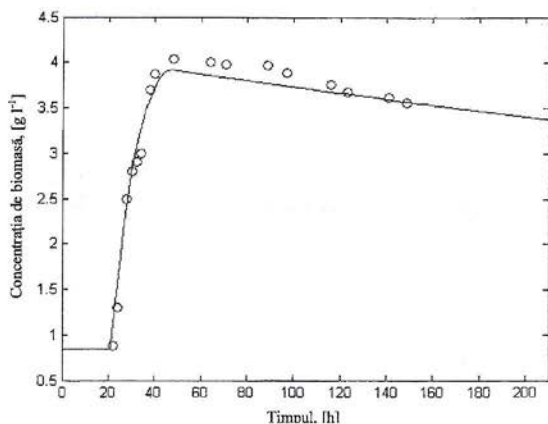


Fig. 3.6. Compararea rezultatelor simulării modelului pentru biomasă (linie) cu datele experimentale (o)

Modelul cinetic a fost completat cu ecuația care descrie evoluția biomasei în timpul procesului de fermentație. Ecuația are în structura ei un termen al vitezei specifice de creștere a biomasei, de tip Monod, și un termen logaritmice. Simularea evoluției biomasei a fost făcută pe baza unei funcții S structurată pe trei faze: latentă, exponențială și de declin. Valorile calculate pe baza modelului au fost comparate cu datele experimentale (figura 3.6) și diferența maximă între ele este de mai puțin de 15%.

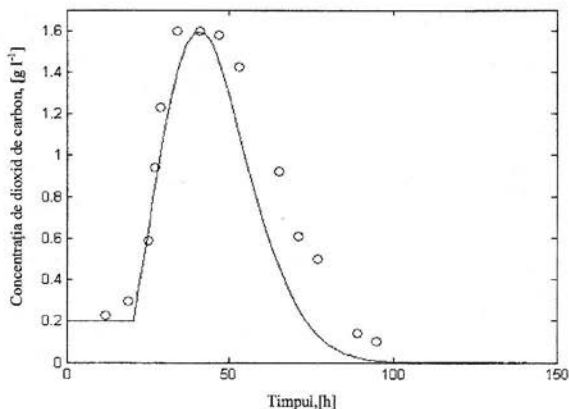


Fig. 3.7. Compararea rezultatelor simulării modelului pentru dioxid de carbon (linie) cu datele experimentale (o)

Deoarece cantitatea de CO₂ degajată în timpul procesului de fermentație este o variabilă de calitate a modului de dezvoltare și procesare a biomasei, s-a realizat o ecuație care descrie dinamica de formare a CO₂. Ecuația are în structura ei un termen al vitezei specifice de creștere a biomasei, de tip Monod, și un termen logaritmice. Simularea degajării de CO₂ a fost făcută pe baza unei funcții S structurată pe trei faze: latentă, exponențială și de

declin. Valorile calculate pe baza modelului au fost comparate cu datele experimentale (figura 3.7) și diferența maximă între ele este de mai puțin de 15%.

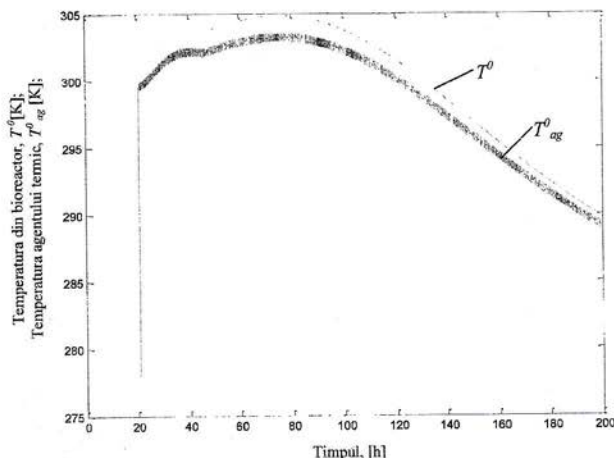


Fig. 3.8. Simularea pe baza modelului energetic a evoluțiilor temperaturii din bioreactor și a temperaturii agentului termic în timpul procesului de fermentație

A fost luat în considerare și efectul variației temperaturii procesului asupra diferitelor mărimi. Astfel, a fost dezvoltat un model matematic în care rata modificării temperaturii mediului de fermentație (dT^0/dt) este rezultatul legii de conservare a energiei pentru masa de reacție și agentul termic. Rezultatele simulării sunt prezentate în figura 3.8.

3.3. Analiza sensibilității

Scopul principal al analizei de sensibilitate este să ofere metode pentru determinarea, pe baza modelelor matematice, a influențelor variațiilor mici ale mărimilor unui sistem asupra comportării și performanțelor lui în timp, permițând astfel ierarhizarea mărimilor după gradul lor de influență asupra dinamicii sistemului [41].

În acest scop, pe baza modelului matematic realizat și descris în paragraful 3.2 (model nestructurat și alcătuit pe fazele de evoluție a curbei de biomasă în timp), s-a studiat comportarea dinamică a procesului de fermentație folosind analiza sensibilității directe (ASD). A fost realizată analiza sensibilității stării procesului de fermentație alcoolică în raport cu starea inițială și analiza sensibilității procesului în raport cu parametrii cu abateri invariabile în timp.

3.3.1. Analiza sensibilității în raport cu starea inițială

Variabilele de stare ale procesului de fermentație alcoolică sunt concentrația de substrat (S), concentrația de biomasă (X) și temperatura din bioreactor (T^0). Astfel, vectorul variabilelor de stare este:

$$x = \begin{pmatrix} X \\ S \\ T^0 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{pmatrix} \quad (3.22)$$

S-au mai considerat variabile de stare ale procesului, dar față de care nu s-a realizat ASD, următoarele mărimi: concentrația produsului de metabolism, P , notată cu x_4 și temperatura agentului de răcire, T_{og}^0 , notată cu x_5 .

Variabila de comandă este debitul de agent termic: $u=F_{og}$ iar ca parametrii se iau: factorii preexponențiali din ecuația lui Arrhenius (A și A_1), raportul dintre energia de activare și constanta universală a gazelor ($\frac{E_a}{R}$ și $\frac{E_{a1}}{R}$), acestea având valori care au fost determinate în laborator cu o anumită precizie, și aria de transfer termic (A_T) ca element de proiectare. Vectorul parametrilor este:

- pentru faza de creștere exponențială:

$$p = \begin{pmatrix} A_1 \\ \frac{E_{a1}}{R} \\ A_T \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} p_1 \\ p_2 \\ p_3 \end{pmatrix} \quad (3.23)$$

- pentru faza de declin:

$$p = \begin{pmatrix} A \\ \frac{E_a}{R} \\ A_T \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} p_1 \\ p_2 \\ p_3 \end{pmatrix} \quad (3.24)$$

Introducând notațiile de mai sus în modelul matematic al procesului de fermentație se obține forma corespunzătoare a ecuației vectoriale standard și care este prezentată în tabelul 3.4.

Tabelul 3.4. Ecuațiile standard ale modelului

Faza	Ecuațiile
Modelul cinetic	
Faza latentă	$t = \frac{a}{x_3} + b$
Faza exponențială	- biomasă: $\mu_{\max} = p_1 \cdot e^{-\frac{p_2}{T^0}} - A_2 \cdot e^{-\frac{E_{a2}}{R \cdot T^0}}$ $\frac{dx_1}{dt} = \mu_{\max} \cdot \left(\frac{x_2}{K_S + x_2} \right) \cdot e^{-K_P \cdot x_4} \cdot x_1$ - alcool: $\frac{dx_4}{dt} = q_{p\max} \cdot \left(\frac{x_2}{K_{SP} + x_2} \right) \cdot e^{-K_{PP} \cdot x_4} \cdot x_1$ - substrat: $\frac{dx_2}{dt} = - \left(\frac{1}{Y_{XS}} \cdot \frac{dx_1}{dt} \right) - \left(\frac{1}{Y_{PS}} \cdot \frac{dx_4}{dt} \right)$
Faza de declin	- biomasă: $\frac{dx_1}{dt} = f \cdot x_1 \cdot p_1 \cdot e^{-\frac{p_2}{x_3}}$ - alcool: $\frac{dx_4}{dt} = -\eta \cdot \frac{dx_2}{dt}$ - substrat: $\frac{dx_2}{dt} = -p_1 \cdot e^{-\frac{p_2}{x_3}} \cdot x_2^\alpha \cdot x_4^\beta$

Modelul energetic	
Toate fazele	- masa de reacție (fermentație): $\frac{dx_3}{dt} = 5.54 \cdot \frac{\Delta H_r \cdot dx_2}{\rho \cdot c_p \cdot dt} - \frac{K_T \cdot p_3}{V \cdot \rho \cdot c_p} \cdot (x_3 - x_s)$
	- agentul termic: $\frac{dx_s}{dt} = \frac{u}{V_{og}} \cdot (T_{og}^0 - x_s) + \frac{K_T \cdot p_3}{V_{og} \cdot \rho_{og} \cdot c_{pog}} \cdot (x_3 - x_s)$

Modelul matematic din tabelul 3.4 este însoțit de condiția inițială:

$$x_0 = \begin{pmatrix} x_{1,0} \\ x_{2,0} \\ x_{3,0} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} X_0 \\ S_0 \\ T_i^0 \end{pmatrix} \quad (3.25)$$

Conform algoritmului metodei ADS, pe baza ecuațiilor din tabelul 3.4 ale modelului neliniar, s-a construit matricea jacobiană, prezentată în tabelul 3.5. Apoi, în mediul de simulare MATLAB s-a realizat simultan integrarea numerică a modelului matematic al procesului și a ecuațiilor de sensibilitate (programele sunt prezentate în Anexa 1). S-au trasat graficele funcțiilor de sensibilitate. Acestea sunt prezentate în figurile 3.9-3.11.

Tabelul 3.5. Ecuațiile matricei jacobiene f_x pentru analiza sensibilității stării procesului în raport cu starea inițială

Faza	Ecuațiile
Modelul cinetic	
Faza exponențială	$f_{x_1,1} = \mu_{\max} \cdot \left(\frac{x_2}{K_S + x_2} \right) \cdot e^{-K_P \cdot x_4}$
	$f_{x_1,2} = \mu_{\max} \cdot \left[\frac{K_S}{(K_S + x_2)^2} \right] \cdot e^{-K_P \cdot x_4} \cdot x_1$
	$f_{x_1,3} = \left(p_1 \cdot p_2 \cdot e^{-x_3} - A_2 \cdot \frac{E_{a1}}{R} \cdot e^{-\frac{E_{a1}}{R \cdot x_5}} \right) \cdot x_1 \cdot \frac{1}{x_3^2} \cdot \frac{x_2}{K_S + x_2} \cdot e^{-K_P \cdot x_4}$
	$f_{x_2,1} = -\frac{1}{Y_{XS}} \cdot \mu_{\max} \cdot \left(\frac{x_2}{K_S + x_2} \right) \cdot e^{-K_P \cdot x_4} - \frac{1}{Y_{PS}} \cdot q_{p\max} \cdot \left(\frac{x_2}{K_{PS} + x_2} \right) \cdot e^{-K_{PP} \cdot x_4}$
	$f_{x_2,2} = -\frac{1}{Y_{XS}} \cdot \mu_{\max} \cdot \left[\frac{K_S}{(K_S + x_2)^2} \right] \cdot e^{-K_P \cdot x_4} \cdot x_1 - \frac{1}{Y_{PS}} \cdot q_{p\max} \cdot \left[\frac{K_{PS}}{(K_{PS} + x_2)^2} \right] \cdot e^{-K_{PP} \cdot x_4} \cdot x_1$
	$f_{x_2,3} = 0$
	$f_{x_3,1} = 5.54 \cdot \frac{\Delta H_r}{\rho \cdot c_p} \cdot f_{x_2,1}$
	$f_{x_3,2} = 5.54 \cdot \frac{\Delta H_r}{\rho \cdot c_p} \cdot f_{x_2,2}$
$f_{x_3,3} = -\frac{K_T \cdot p_3}{V \cdot \rho \cdot c_p}$	

Faza de declin	$f_{x_{1,1}} = f \cdot p_1 \cdot e^{-p_2 x_1}$
	$f_{x_{1,2}} = 0$
	$f_{x_{1,3}} = f \cdot x_1 \cdot p_1 \cdot \frac{p_2}{x_3^2} \cdot e^{-p_2 x_1}$
	$f_{x_{2,1}} = 0$
	$f_{x_{2,2}} = -k \cdot \alpha \cdot x_2^{\alpha-1} \cdot x_4^\beta$
	$f_{x_{2,3}} = -p_1 \cdot \frac{p_2}{x_3^2} \cdot e^{-p_2 x_1} \cdot x_2^\alpha \cdot x_4^\beta$
	$f_{x_{3,1}} = 0$
	$f_{x_{3,2}} = 5.54 \cdot \frac{\Delta H_r}{\rho \cdot c_p} \cdot f_{x_{2,2}}$
	$f_{x_{3,3}} = 5.54 \cdot \frac{\Delta H_r}{\rho \cdot c_p} \cdot f_{x_{2,3}} - \frac{K_r \cdot p_3}{V \cdot \rho \cdot c_p}$

Pe marginea graficelor funcțiilor de sensibilitate în raport cu starea inițială se pot face următoarele observații:

1. Formarea de biomasă, consumul de substrat și temperatura de fermentație prezintă *aceeași sensibilitate* față de variațiile concentrației inițiale de biomasă (figura 3.9). Influența concentrației inițiale de biomasă asupra mărimilor amintite prezintă o creștere semnificativă de-a lungul întregii faze exponențiale, după care scade în timp, pe măsură ce procesul trece prin faza de declin. Ca urmare, concentrația inițială de biomasă poate influența puternic faza de creștere exponențială, și deci, durata de desfășurare a fermentației, cu toate consecințele care apar (pentru o fermentație de durată scurtă, tumultuoasă sau o fermentație lungă, lentă).

2. Influența concentrației inițiale a substratului asupra evoluției celor trei mărimi studiate (substrat, biomasă și temperatură), conform graficului din figura 3.10, se face remarcată în faza exponențială, de creștere a biomasei. O concentrație inițială prea mare poate inhiba creșterea de biomasă sau, fiind în concentrație prea mică, biomasa nu are ce consuma, deci nu se va dezvolta și nu va produce alcool și dioxid de carbon, ducând și la oprirea fermentației.

3. Influența temperaturii inițiale supra procesului de fermentație (consum de substrat și producere de biomasă) este evidențiată prin curba de sensibilitate din figura 3.11. Valorile inițiale ale temperaturii, cât și cele din timpul procesului de fermentație, influențează mai ales prima jumătate a fazei exponențiale, faza cea mai importantă din punct de vedere biochimic și microbiologic, după care scade în timp. Ca urmare, începerea procesului de fermentație la temperatura de conducere a procesului influențează perioada de fermentație, în care viitorul vin va căpăta, atât cât se dorește, și aromă și alcool.

266.596



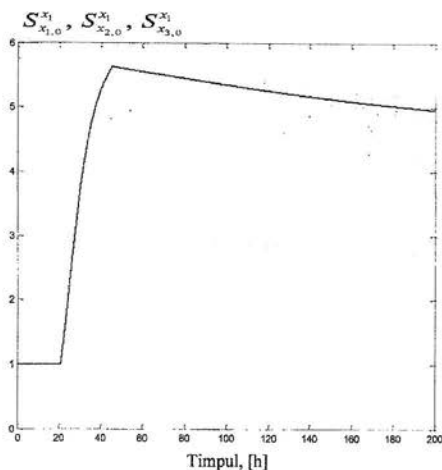


Fig. 3.9. Graficele funcțiilor de sensibilitate a biomasei față de: variația concentrației inițiale a bimasei, $S_{x_{1,0}}^{x_1} \left[\frac{g \cdot l^{-1} \text{biomasă}}{(g \cdot l^{-1} \text{biomasă})_0} \right]$, variația substratului inițial, $S_{x_{2,0}}^{x_1} \left[\frac{g \cdot l^{-1} \text{biomasă}}{(g \cdot l^{-1} \text{substrat})_0} \right]$ și variația temperaturii inițiale a procesului, $S_{x_{3,0}}^{x_1} \left[\frac{g \cdot l^{-1} \text{biomasă}}{(K)_0} \right]$

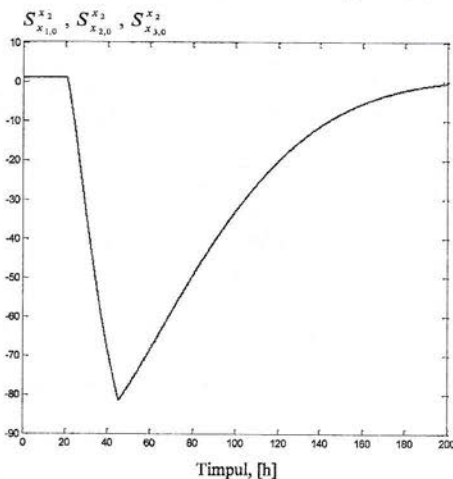


Fig. 3.10. Graficele funcțiilor de sensibilitate a substratului față de: variația concentrației inițiale a biomasei, $S_{x_{1,0}}^{x_2} \left[\frac{g \cdot l^{-1} \text{substrat}}{(g \cdot l^{-1} \text{biomasă})_0} \right]$, variația concentrației inițiale a substratului, $S_{x_{2,0}}^{x_2} \left[\frac{g \cdot l^{-1} \text{substrat}}{(g \cdot l^{-1} \text{substrat})_0} \right]$, și variația temperaturii inițiale a procesului, $S_{x_{3,0}}^{x_2} \left[\frac{g \cdot l^{-1} \text{substrat}}{(K)_0} \right]$

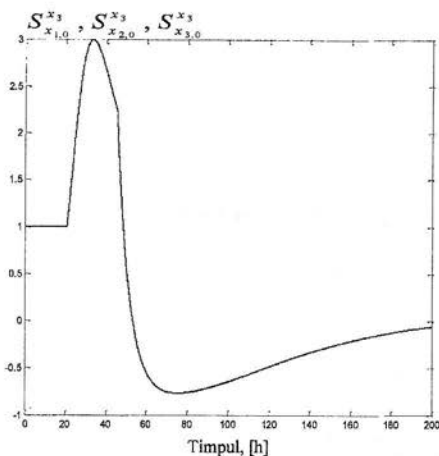


Fig. 3.11. Graficele funcțiilor de sensibilitate a temperaturii inițiale a procesului față de: variația concentrației inițiale a bimasei, $S_{x_{1,0}}^{x_3} \left[\frac{K}{(g \cdot l^{-1} \text{biomasă})_0} \right]$, variația concentrației inițiale a substratului, $S_{x_{2,0}}^{x_3} \left[\frac{K}{(g \cdot l^{-1} \text{substrat})_0} \right]$ și variația temperaturii inițiale a procesului, $S_{x_{3,0}}^{x_3} \left[\frac{K}{(K)_0} \right]$

3.3.2. Analiza sensibilității în raport cu parametri

În acest caz, elementele matricii jacobiene sunt date în tabelul 3.6.

Tabelul 3.6. Ecuațiile matricii jacobiene f_x pentru analiza sensibilității stării procesului în raport cu parametrii cu abateri invariabile în timp

Faza	Ecuațiile
<i>Modelul cinetic</i>	
Faza exponențială	$f_{x_{1,1}} = e^{-\beta_2} \cdot \frac{x_2}{K_S + x_2} \cdot e^{-K_p \cdot x_4} \cdot x_1$
	$f_{x_{1,2}} = -p_1 \cdot \frac{x_1}{x_3} \cdot e^{-\beta_2} \cdot \frac{x_2}{K_S + x_2} \cdot e^{-K_p \cdot x_4}$
	$f_{x_{1,3}} = 0$
	$f_{x_{2,1}} = 0$
	$f_{x_{2,2}} = 0_1$
	$f_{x_{2,3}} = 0$
	$f_{x_{3,1}} = 0$
	$f_{x_{3,2}} = 0$
	$f_{x_{3,3}} = -\frac{K_T}{V \cdot \rho \cdot c_p} \cdot (x_3 - x_5)$

Faza de declin	$f_{x_1,1} = f \cdot x_1 \cdot e^{-p_2 x_1}$
	$f_{x_1,2} = -f \cdot x_1 \cdot \frac{p_1}{x_3} \cdot e^{-p_2 x_1}$
	$f_{x_1,3} = 0$
	$f_{x_2,1} = -e^{-p_2 x_1} \cdot x_2^\alpha \cdot x_4^\beta$
	$f_{x_2,2} = -\frac{p_1}{x_3} \cdot e^{-p_2 x_1} \cdot x_2^\alpha \cdot x_4^\beta$
	$f_{x_2,3} = 0$
	$f_{x_3,1} = 5.54 \cdot \frac{\Delta H_r}{\rho \cdot c_p} \cdot f_{x_2,1}$
	$f_{x_3,2} = 5.54 \cdot \frac{\Delta H_r}{\rho \cdot c_p} \cdot f_{x_2,2}$
	$f_{x_3,3} = -\frac{K_T}{V \cdot \rho \cdot c_p} \cdot (x_3 - x_5)$

Graficele funcțiilor de sensibilitate sunt prezentate în figurile 3.12-3.14.

Observațiile privind studierea graficelor de sensibilitate în raport cu parametrii, figurile 3.12-3.15, sunt următoarele:

1. Cei doi parametri cinetici (coeficientul preexponențial și energia de activare), datorită măsurărilor experimentale care nu întotdeauna sunt foarte precise, procesul fiind complex, pot influența viteza de fermentație și durata acestuia. Astfel, din graficele prezentate în figurile 3.12 și 3.13, se observă această influență mai ales în faza exponențială unde se evidențiază un maxim (negativ) după care această influență se stinge progresiv spre sfârșitul fazei de declin.

2. Temperatura la care are loc procesul de fermentație este foarte importantă și, mai ales, menținerea ei la o anumită valoare. Acest fapt este scos în evidență și de sensibilitatea care apare față de parametrul p_2 (aria de transfer termic), valoarea acestuia având un rol mai important în timpul fazei exponențiale, atunci când fluxul de degajarea a căldurii de reacție este cel mai mare (figura 3.14). Această sensibilitate se stinge în timp scurt, venind asimptotic la zero în a doua jumătate a fazei exponențiale.

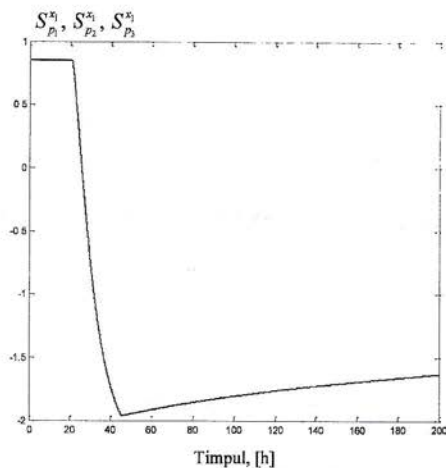


Fig. 3.12. Graficele funcțiilor de sensibilitate parametrică asupra biomasei:

$$S_{p_1}^{x_1} \left[g \cdot l^{-1} \text{biomasă} \right], S_{p_2}^{x_1} \left[\frac{g \cdot l^{-1} \text{biomasă}}{K} \right], S_{p_3}^{x_1} \left[\frac{g \cdot l^{-1} \text{biomasă}}{m^2} \right]$$

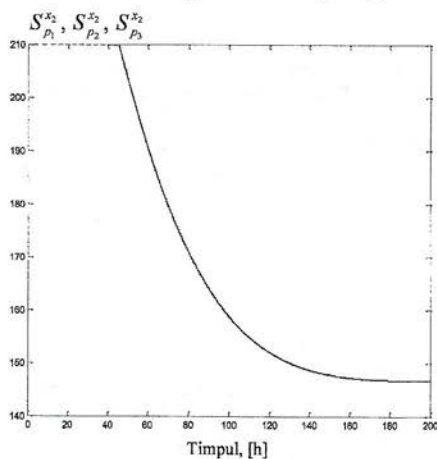


Fig. 3.13. Graficele funcțiilor de sensibilitate parametrică asupra substratului:

$$S_{p_1}^{x_2} \left[g \cdot l^{-1} \text{substrat} \right], S_{p_2}^{x_2} \left[\frac{g \cdot l^{-1} \text{substrat}}{K} \right], S_{p_3}^{x_2} \left[\frac{g \cdot l^{-1} \text{substrat}}{m^2} \right]$$

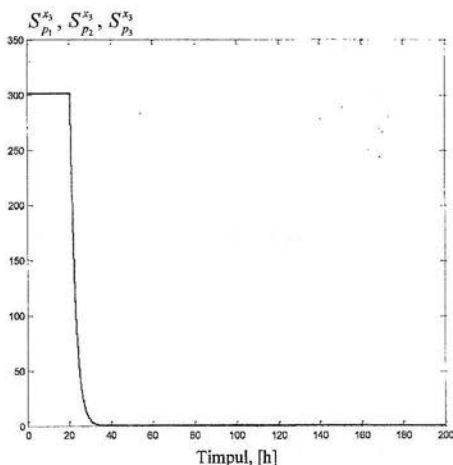


Fig. 3.14. Graficele funcțiilor de sensibilitate parametrică asupra temperaturii procesului:

$$S_{\rho_1}^{S_1} [K], S_{\rho_2}^{S_1} \left[\frac{K}{K} \right], S_{\rho_3}^{S_1} \left[\frac{K}{m^2} \right]$$

4. Contribuții privind estimarea stării procesului de fermentație alcoolică și reglarea temperaturii mediului de cultură

4.1. Introducere

În vederea stabilirii soluției de conducere automată a procesului de fermentație alcoolică este necesară rezolvarea următoarelor două probleme:

- găsirea unei soluții performante de reglare automată a temperaturii procesului de fermentație alcoolică deoarece, în special în faza de creștere a biomasei, valoarea temperaturii reprezintă un factor important în stabilirea calității produsului finit;
- obținerea de informații cât mai amănunțite privind dinamica variabilelor de proces (în special despre cele care influențează puternic desfășurarea procesului de fermentație, așa cum s-a demonstrat la analiza sensibilității directe), fie prin măsurări directe, fie prin procedee de estimare.

4.2. Reglarea automată a temperaturii fazei de creștere exponențială a biomasei

Abordarea soluției de reglare a temperaturii va avea la bază următoarele aspecte:

1. influența neliniarităților foarte puternice existente în sistem, îndeosebi datorită limitărilor de tip saturație pe fluxul agentului de răcire, F_{ag} ;
2. efectul variațiilor existente în dezvoltarea fazei de creștere exponențială a biomasei, ca urmare a modificării valorilor inițiale ale variabilelor de stare. Evident, valorarea vitezei specifice de dezvoltare a biomasei (mai mare sau mai mică) este observabilă, în principal, prin cantitatea de căldură degajată de proces. Astfel, acest fenomen va influența dinamica cineticii procesului de fermentație.

Modelul matematic al procesului condus este format din ecuațiile aferente bilanțului termic, (3.14) și (3.15), care sunt cuplate cu celelalte ecuații ale procesului (ecuațiile (3.6), (3.9) și (3.11) din faza exponențială). Structura și modelul procesului condus la reglarea temperaturii sunt prezentate în figura 4.1.

Prima soluție de conducere adoptată utilizează o lege de reglare PI, în care parametrii sunt ajustați astfel încât să se evite intrarea în saturație a elementului de execuție care ajustează debitul de intrare a agentului de răcire. S-a prevăzut o limitare severă a variației

componentei integrale. Limitările privind debitul de agent de răcire s-au făcut la 0 și 0.02 m³/h.

În urma simulării făcute pe baza programului scris în mediul de simulare MATLAB (anexa 2, programul reg_temp.m) s-a obținut funcționarea buclei de reglare a temperaturii în faza de creștere exponențială, atunci când se impune o valoare constantă referinței, T^0_p . S-a notat cu T^0 temperatura mediului de cultură și cu T^0_{ag} temperatura agentului termic.

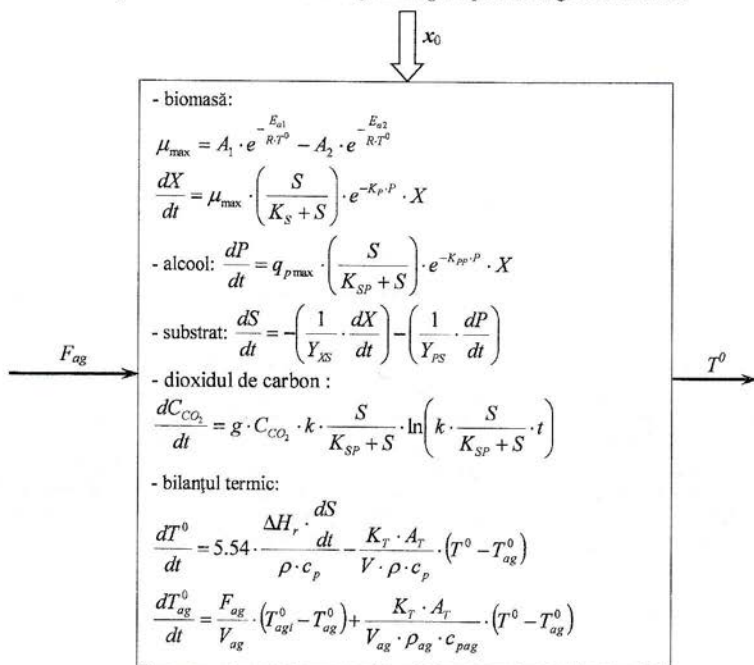


Fig. 4.1. Structura și modelul procesului condus

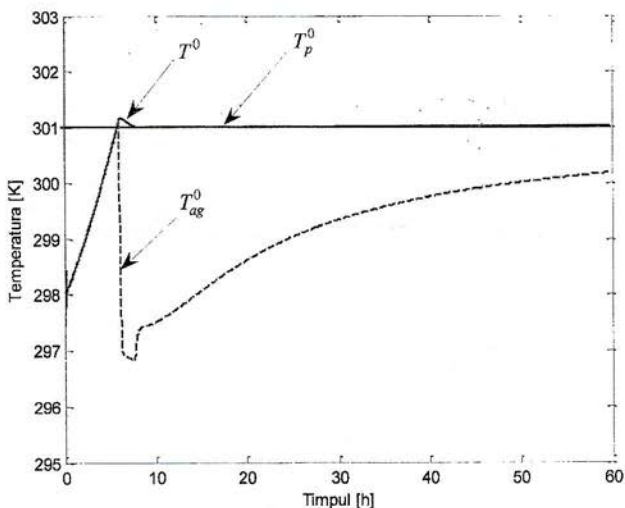


Fig. 4.2. Evoluțiile temperaturii procesului de fermentație (T^0), a referinței de temperatură (T_p^0) și a temperaturii agentului termic (T_{ag}^0)

Figurile 4.3 și 4.4 prezintă evoluțiile erorii de reglare și a debitului agentului termic, iar în figura 4.5 este dată variația variabilei de stare aferente componentei integrale (aceasta a fost limitată la domeniul $[-0.1, 0.1]$). Se poate observa că temperatura este adusă la valoarea prescrisă, cu performanțe bune. În perioada inițială, valoarea temperaturii mediului de fermentație este sub cea prescrisă, astfel încât debitul agentului de răcire se menține la zero iar apoi, pe măsura formării biomasei însoțită de o degajare corespunzătoare de căldură, debitul agentului de răcire crește. Pentru a nu exista suprareglare excesivă, la ieșirea din această perioadă inițială, se face o limitare severă a componentei integrale.

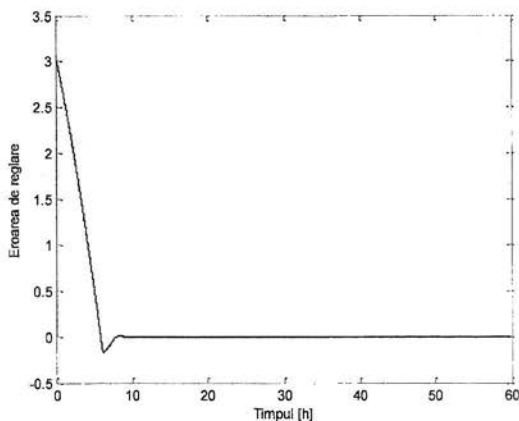


Fig. 4.3. Evoluția erorii de reglare

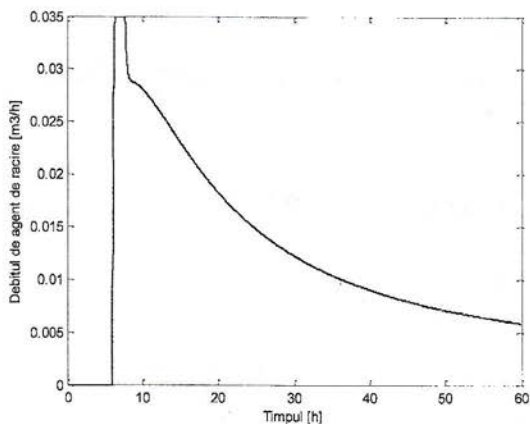


Fig. 4.4. Evoluția debitului agentului de răcire

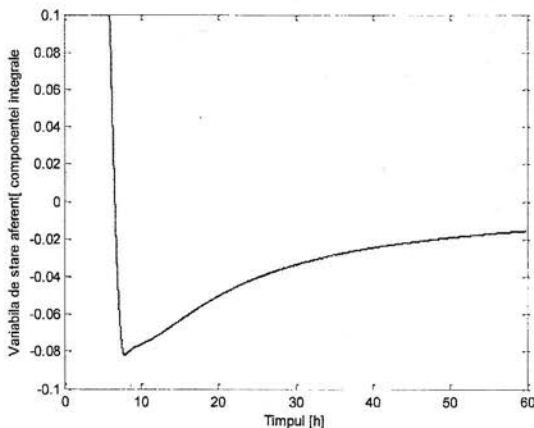
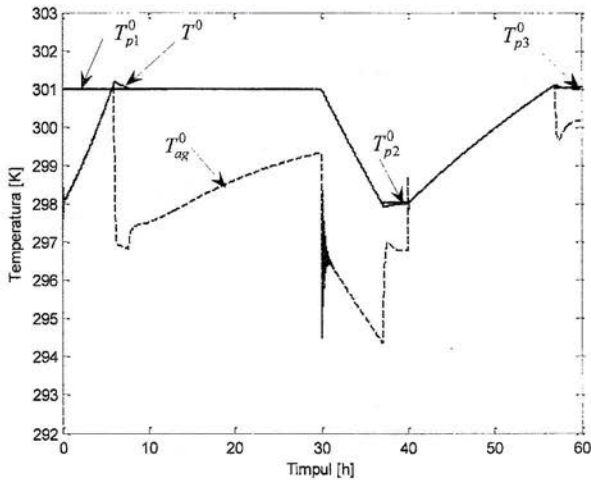


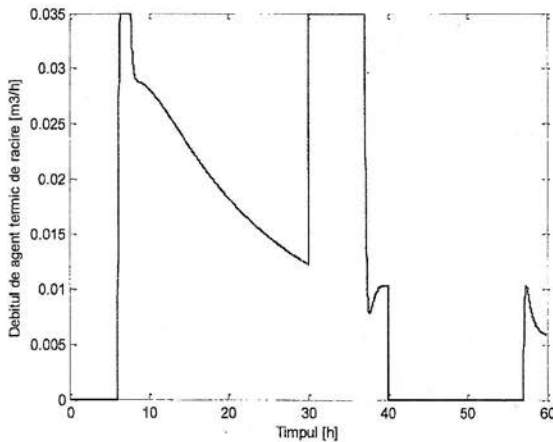
Fig. 4.5. Evoluția variabilei de stare aferente componentei integrale

În vederea studiului în detaliu a proprietăților buclei de reglare, s-a aplicat la $t = 30$ ore o treaptă în sensul scăderii referinței, iar la $t = 40$ ore o altă treaptă în sensul creșterii referinței. Rezultatele obținute sunt prezentate în figurile 4.6 a și b. Se constată o **funcționare asimetrică a sistemului**, la inversarea sensului de variație a temperaturii prescrise. Dacă se impune o reducere a valorii temperaturii prescrise, regimul dinamic este determinat de acțiunea agentului de răcire, însă viteza de variație a temperaturii nu este suficient de mare datorită faptului că debitul de răcire este limitat. Valoarea limită superioară a debitului agentului de răcire determină viteza de variație a temperaturii în sensul scăderii. Dacă însă crește valoarea referinței, regulatorul aduce la zero debitul agentului de răcire și creșterea de temperatură, **mai lentă**, are loc pe seama cantității de căldură degajată de reacția exotermă.

Deci, viteza de variație a temperaturii în sensul creșterii este determinată de dinamica procesului biotehnologic.



a.



b.

Fig. 4.6. Evoluțiile temperaturii procesului de fermentație și a temperaturii agentului termic (a) și evoluția debitului agentului de răcire (b)

În speranța de a obține rezultate mai bune se studiază și o a doua soluție de reglare a temperaturii. Aceasta constă în utilizarea logicii fuzzy și are ca scop asigurarea unor bune proprietăți de robustețe, general recunoscute [42], ale comenzii fuzzy, la modificarea

proprietăților dinamice ale procesului condus și în condițiile unor neliniarități de tip saturație la elementul de execuție. Schema Simulink a sistemului de reglare automată este dată în figura 4.7.

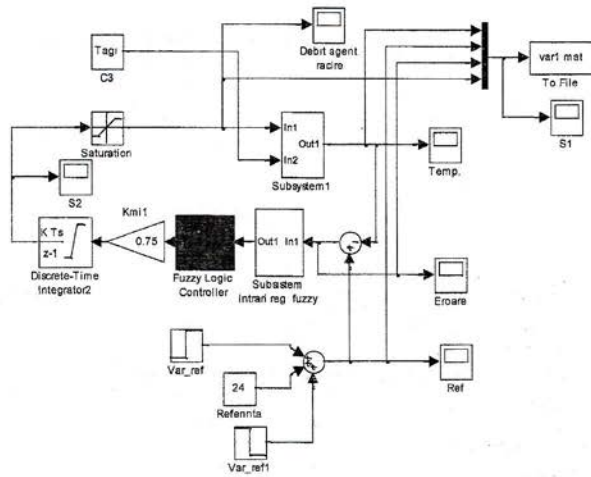
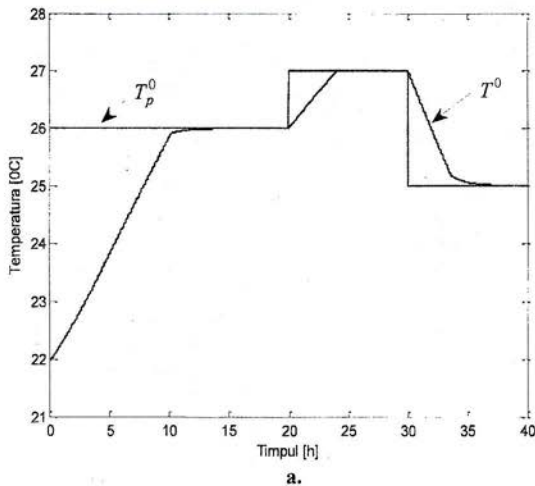
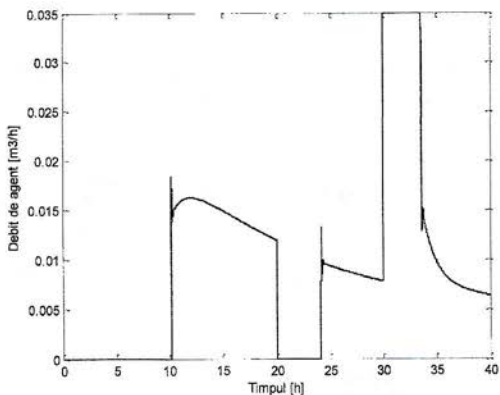


Fig. 4.7. Schema Simulink a sistemului de reglare a temperaturii cu regulator fuzzy





b.

Fig. 4.10. Evoluțiile referinței și a temperaturii mediului de reacți (a) și evoluția debitului agentului de răcire (b)

Rezultatele obținute cu regulatorul fuzzy, prezentate în figura 4.10 a și b, sunt similare celor obținute cu regulatorul PI și confirmă constatările prezentate la soluția anterioară, privitor la asimetria funcționării sistemului la sensul de variație impus referinței. De această constatare va trebui să se țină cont atunci când se va impune un profil de temperatură în faza exponențială.

4.3. Analiza posibilităților de obținere indirectă a informațiilor din proces

Modelarea neuronală a procesului de fermentație alcoolică, utilizând datele din prezenta lucrare, a fost abordată în lucrarea [43].

În cadrul prezentei lucrări s-a utilizat schema din figura 4.12, pentru instruirea modelului neuronal. S-a ținut cont de faptul că procesul este de tip *batch*, deci nu are măriri de intrare și procesul evoluează sub acțiunea valorilor inițiale ale variabilelor de stare.

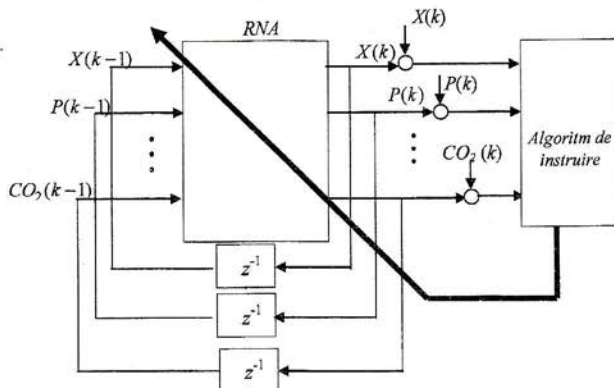


Fig. 4.12. Principiul de instruire a rețelei neuronale pentru identificarea procesului de tip batch

Ca date de instruire se pot utiliza valorile variabilelor de stare, cunoscute prin determinări de laborator efectuate în cursul procesului, așa cum au fost prezentate grafic în capitolul 3. În aplicația numerică realizată s-au utilizat datele rezultate prin simularea numerică a procesului (s-a presupus că aceste date ar fi obținute prin determinări de laborator).

Datele obținute în regimul de instruire, ilustrate parțial în figura 4.13 (cu albastru sunt datele „din proces”, cu roșu – răspunsul rețelei neuronale), creează impresia unor rezultate pozitive, care însă nu sunt confirmate în regimul de „examen” (decât în cazuri particulare). Chiar și în cazul rezultatelor din [43], rezultatele pozitive raportate în regimul de validare s-au obținut pe un regim dinamic pornind dintr-o stare inițială. Nu s-au utilizat mai multe procese distincte, fiecare pornind dintr-o stare inițială diferită, acest lucru fiind foarte dificil de realizat. În aceste condiții, nu se poate garanta că modelul neuronal reprezintă o soluție viabilă pentru conducerea procesului de tip batch. Argumentul de fond este că un asemenea model este de tip „black box”. El necesită date care ar reprezenta o mulțime de traiectorii de stare, pornind din stări inițiale diferite, care acoperă statistic distribuția stărilor inițiale uzuale din tehnologia analizată.

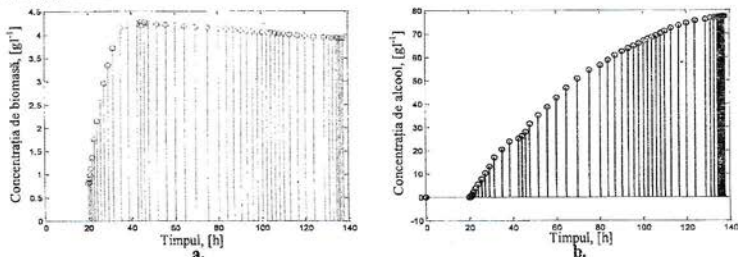


Fig. 4.13. Rezultatele în regim de instruire pentru biomasă (a) și produs de reacție (b)

4.4. Estimarea stării procesului de fermentație alcoolică

4.4.1. Definirea structurii sistemului în vederea estimării stării

Estimarea stării proceselor de fermentație alcoolică la vinurile albe este o problemă dificilă deoarece sistemul este cu structură variabilă (modelul matematic este heterogen, descris pe faze). Astfel, nu este justificat să se pună problema creării unui estimator global, pentru toate faze (latentă, de creștere exponențială și de declin). În definitiv, obiectivul urmărit este de a concepe un sistem de conducere care utilizează modelele pentru toate cele trei faze, iar la nivelul acestui sistem de conducere, pe baza mărimilor măsurate și estimate, se stabilește comutarea de la o fază la alta. Valorile inițiale ale variabilelor de stare într-o fază sunt valorile finale din faza anterioară. În consecință, este rațional ca estimarea să fie tratată distinct pentru fazele de creștere exponențială și de declin, fazele importante ale fermentației.

În aceste condiții, s-a decuplat ecuația substratului, considerând-o ca ecuație de ieșire, iar modelul de stare al subsistemului microbiologic s-a considerat de forma:

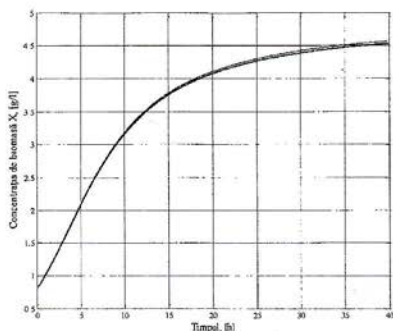
$$\frac{dx_1}{dt} = f_1(x_1, x_2, S, T^0) = \mu_{\max}(T^0) \cdot \left(\frac{S}{K_S + S} \right) \cdot e^{-K_P \cdot x_2} \cdot x_1 \quad (4.1)$$

$$\frac{dx_2}{dt} = f_2(x_1, x_2, S) = q_{P\max} \cdot \left(\frac{S}{K_{SP} + S} \right) \cdot e^{-K_{PP} \cdot x_2} \cdot x_1 \quad (4.2)$$

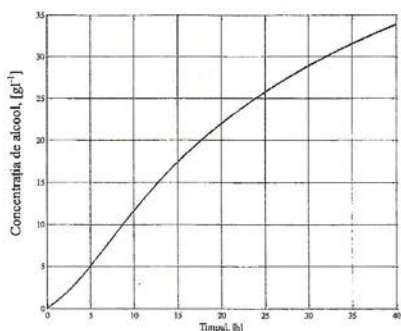
unde S se deduce din ecuația de ieșire:

$$S_i = S_{i-1} + h \cdot \left(- \left(\frac{f_1(x_1, x_2, S, T^0)}{Y_{XS}} \right) - \left(\frac{f_2(x_1, x_2, S)}{Y_{PS}} \right) \right) \quad (4.3)$$

i fiind indicele pasului de integrare cu metoda Euler iar h este pasul de integrare. În plus, s-a constatat că, în faza de creștere exponențială, expresiile $\frac{S}{K_s + S}$ și $\frac{S}{K_{sp} + S}$ sunt foarte apropiate de valoarea 1 (așa cum s-a arătat în capitolul 2, subparagraful 2.2.2.3 referitor la semnificația constantei K_s și privind afinitatea microorganismelor față de substrat), astfel încât ele pot fi înlocuite cu unitatea. Verificările prin simulare numerică au arătat că eliminarea acestor factori în faza de creștere exponențială nu are efecte majore asupra rezultatelor. În cele ce urmează s-a considerat că modelul procesului în faza de creștere exponențială include factorii mai sus amintiți.



a.



b.

Fig. 4.15. Evoluțiile mărimilor X (a) și P (b) considerate ca variabile de stare ale sistemului de ordinul 3, respectiv, rezultate din modelul (4.1), (4.2) (variațiile sunt practic suprapuse)

Pentru validarea acestei abordări, s-au determinat evoluțiile dinamice ale mărimilor X și S , considerate ca variabile de stare ale sistemului de ordinul 3, respectiv, rezultate din

modelul (4.1), (4.2) și (4.3) (figura 4.15). Mărimile respective practic coincid (diferențele depind de pasul de integrare h).

Privind alegerea variabilei ca mărime de ieșire în problema estimării stării, sunt două alternative:

a) se poate considera că mărimea de ieșire este produsul de reacție P (concentrația de alcool etilic);

b) se alege concentrația de CO_2 degajat ca mărime de ieșire.

În modelul propus ecuația concentrației de CO_2 degajat:

$$\frac{dC_{\text{CO}_2}}{dt} = g \cdot C_{\text{CO}_2} \cdot k \cdot \frac{S}{K_{sp} + S} \cdot \ln \left(k \cdot \frac{S}{K_{sp} + S} \cdot t \right) \quad (4.4)$$

definește sistemul ca fiind variant și modelul trebuie extins cu încă două variabile de stare:

$$\begin{aligned} \dot{v}_1 &= 0 \\ \dot{v}_2 &= v_1 \end{aligned} \quad (4.5)$$

unde v_1 se inițializează la valoarea 1. În acest caz, variabila de stare v_2 devine timpul t , care intră în ecuația (4.4). Creșterea ordinului sistemului neliniar nu este de dorit, deoarece complică în mod semnificativ algoritmul de estimare. Ca urmare, informația de la analizorul de concentrație de CO_2 degajat va fi utilizată în conducerea procesului (fiind esențială), însă pentru sinteza estimatoarelor extinse va fi folosită concentrația produsului de reacție P ca mărime de ieșire.

4.4.2. Estimarea stării utilizând observare extinse

Observerele extinse sunt estimatoare de stare pentru sisteme neliniare.

Se consideră că procesul biotehnologic este descris de următoarele ecuațiile de stare:

$$\begin{aligned} \frac{dX}{dt} &= f_1(x_1, x_2, T^0) = \mu_{\max}(T^0) \cdot e^{-K_p \cdot P} \cdot X \\ \frac{dP}{dt} &= f_2(x_1, x_2) = q_{p\max} \cdot e^{-K_{pp} \cdot P} \cdot X \end{aligned} \quad (4.18)$$

unde x_1 este concentrația de biomasă, x_2 este concentrația produsului de fermentație, iar μ_{\max} este viteza specifică maximă de creștere a biomasei și depinde de temperatură T^0 (temperatura T^0 este mărime de intrare):

$$\mu_{\max}(T^0) = A_1 \cdot e^{-\frac{E_{a1}}{R \cdot T^0}} - A_2 \cdot e^{-\frac{E_{a2}}{R \cdot T^0}} \quad (4.19)$$

Considerând vectorul de stare:

$$x = \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \end{bmatrix} \quad (4.20)$$

ecuația de ieșire este:

$$y = x_2 = Cx \quad (4.21)$$

ca urmare:

$$C = [0 \quad 1] \quad (4.22)$$

Ecuația observării extinse este:

$$\dot{\tilde{x}}(t) = f(\tilde{x}(t), u(t)) + K_e(\tilde{x})[y(t) - C\tilde{x}] \quad (4.27)$$

sau, ținând cont de forma concretă a ecuațiilor de stare,

$$\dot{\tilde{X}} = \mu_{\max}(T^0) \cdot e^{-K_p \cdot \tilde{P}} \cdot \tilde{X} + K_{e1} \cdot (\tilde{X}, \tilde{P}) \cdot (P - \tilde{P}) \quad (4.28)$$

$$\dot{\tilde{S}} = q_{p\max} \cdot e^{-K_{pp} \cdot \tilde{P}} \cdot \tilde{X} + K_{e2} \cdot (\tilde{X}, \tilde{P}) \cdot (P - \tilde{P}) \quad (4.29)$$

Deducerea vectorului amplificării observării extinse:

$$K_e(\bar{x}) = \begin{bmatrix} K_{e1}(\bar{x}, \bar{P}) \\ K_{e2}(\bar{x}, \bar{P}) \end{bmatrix} \quad (4.30)$$

implică alocarea unor poli dorțiți în ecuația erorii (4.11).

Polinomul caracteristic al matricei $A(\bar{x}) - K_e(\bar{x})C$ este:

$$\Delta(s) = \det(sI - (A(\bar{x}) - K_e(\bar{x})C)) = s^2 + (K_{e2}(\bar{x}) - a_{22}(\bar{x}) - a_{11}(\bar{x}, T^0))s + a_{11}(\bar{x}, T^0) \cdot a_{22}(\bar{x}) - a_{11}(\bar{x}, T^0) \cdot K_{e2}(\bar{x}) - a_{21}(\bar{x}) \cdot a_{12}(\bar{x}, T^0) + a_{21}(\bar{x}) \cdot K_{e1}(\bar{x}) \quad (4.31)$$

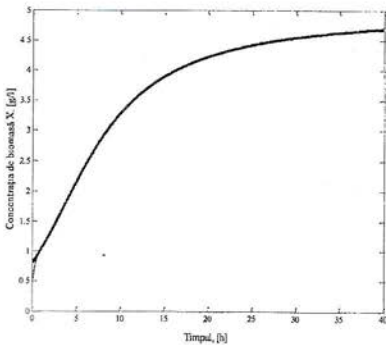
Impunând poli p_1 și p_2 , polinomul caracteristic are forma:

$$\Delta(s) = s^2 + (-p_1 - p_2)s + p_1 p_2 \quad (4.32)$$

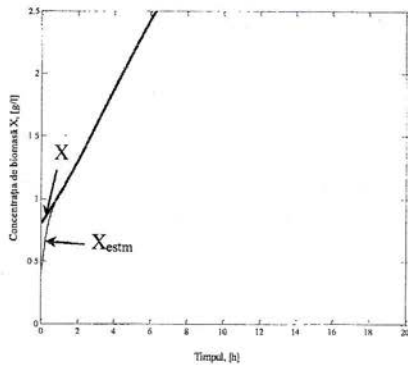
Din identificarea coeficienților polinoamelor (4.31) și (4.32) se obțin expresiile componentelor vectorului amplificării observerului extins:

$$\begin{aligned} K_{e2}(\bar{x}) &= -p_1 - p_2 + a_{22}(\bar{x}) + a_{11}(\bar{x}, T^0) \\ K_{e1}(\bar{x}) &= \frac{p_1 p_2 - a_{11}(\bar{x}, T^0) \cdot a_{22}(\bar{x}) + a_{11}(\bar{x}, T^0) \cdot K_{e2}(\bar{x}) + a_{21}(\bar{x}) \cdot a_{12}(\bar{x}, T^0)}{a_{21}(\bar{x})} \end{aligned} \quad (4.33)$$

Impunând poli $p = [-5 \ -8]$, se obține o foarte bună dinamică de anulare a erorii de estimare a concentrației de biomasă (figura 4.16). De asemenea, eroarea de estimare a concentrației de substrat este neglijabilă (figura 4.17).



a.



b.

Fig. 4.16. Estimarea concentrației biomasei (a), zoom (b)

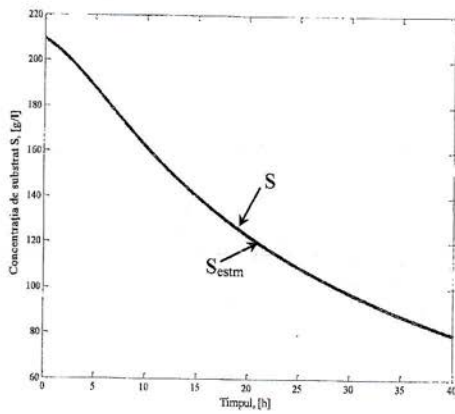


Fig. 4.17. Evoluția substratului real și estimat

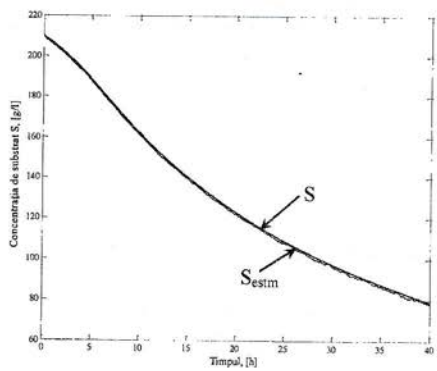
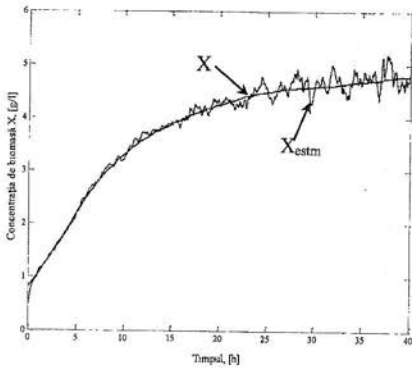


Fig. 4.18. Estimarea biomasei și substratului în condiții de zgomot $p=[-5 -8]$

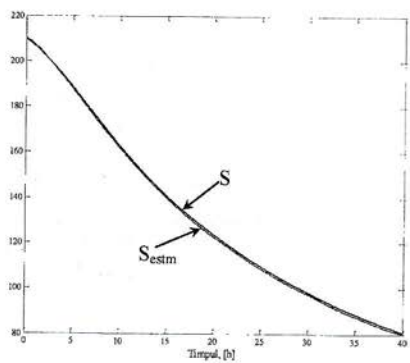
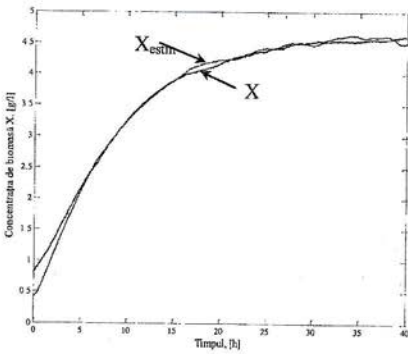


Fig. 4.19. Estimarea biomasei și substratului în condiții de zgomot $p=[-1 -0.5]$

În aplicații, alocarea se realizează în funcție de nivelul zgomotului din sistem. Figura 4.18 prezintă evoluțiile estimărilor concentrațiilor de biomasă și substrat, în condițiile unui zgomot aplicat ambelor variabile de stare ($0.1 * \text{randn}$).

Se constată efectul relativ important asupra estimării concentrației de celule microbiene, însă o influență redusă asupra concentrației de substrat estimat. Pentru reducerea influenței zgomotului se pot alocă poli mai apropiați de origine. Pentru $p = [-1 \ -0.5]$, rezultatele sunt prezentate în figura 4.19. Se observă că dinamica de anulare a erorii este mai lentă, însă efectul zgomotului este mai redus. De asemenea, eroarea de estimare a concentrației de consum a substratului la valori mari ale timpului crește într-o oarecare măsură, rămânând însă la o valoare neglijabilă.

4.4.3. Estimarea stării utilizând filtre Kalman extinse

Pentru estimarea stării procesului de fermentație în faza exponențială, pe baza filtrului Kalman extins prezentat, s-a utilizat funcția MATLAB *kalmn*, care se apelează la fiecare pas al algoritmului de estimare.

A doua variantă a filtrului Kalman extins, utilizată pentru estimarea procesului de fermentație alcoolică, are în vedere un indicator de tipul integralei pătratului normei erorii:

$$I = \int_0^t \|x - \tilde{x}\|^2 dt = \int_0^t \|e(\tau)\|^2 d\tau \quad (4.43)$$

criteriul de performanță fiind de tipul mediei statistice a acestui indicator.

În acest caz, amplificarea erorii în filtrul Kalman extins are expresia:

$$K_e(t) = P(t)C^T R^{-1} \quad (4.44)$$

unde $P(t)$ este matricea simetrică obținută prin integrarea ecuației diferențiale matriciale Riccati:

$$\dot{P}(t) = P(t)A^T + AP(t) - P(t)C^T R^{-1} CP(t) + Q \quad (4.45)$$

Pentru procesul examinat, modelul sistemului este:

$$\frac{dx_1}{dt} = f_1(x_1, x_2, T^0) + w_1 = \mu_{\max}(T^0) \cdot \left(\frac{S}{K_S + S} \right) \cdot e^{-K_p x_1} \cdot x_1 + w_1 \quad (4.46)$$

$$\frac{dx_2}{dt} = f_2(x_1, x_2) + w_2 = q_{p\max} \cdot \left(\frac{S}{K_{SP} + S} \right) \cdot e^{-K_{pp} x_2} \cdot x_1 + w_2$$

$$y = Cx + v = [0 \ 1]x + v \quad (4.47)$$

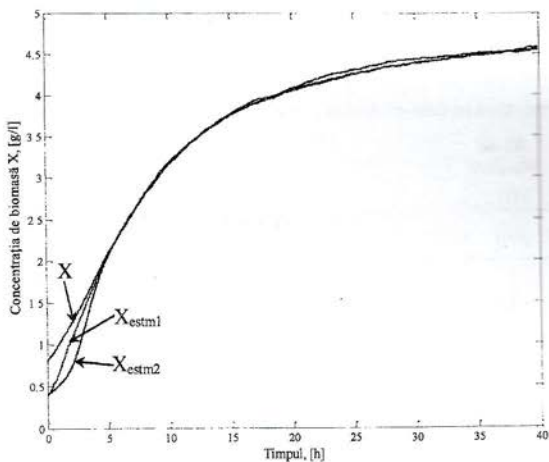
unde $\mu_{\max}(T^0)$ are expresia (4.19).

Matricea $A(\tilde{x})$ a sistemului liniarizat poate fi pusă sub formele (4.23) sau (4.24). Matricea simetrică $P(t)$ din ecuația Riccati se consideră de forma:

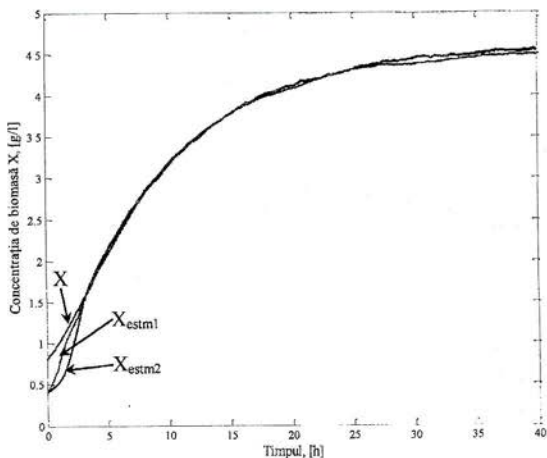
$$P = \begin{bmatrix} P_{11} & P_{12} \\ P_{21} & P_{22} \end{bmatrix} \quad (4.48)$$

iar ecuația matriceală diferențială Riccati se scrie pe componente astfel:

$$\begin{aligned} \dot{P}_{11} &= 2a_{11}P_{11} + 2a_{12}P_{12} + Q_{11} - RP_{12}^2 \\ \dot{P}_{12} &= a_{11}P_{12} + a_{12}P_{22} + a_{21}P_{11} + a_{22}P_{12} - RP_{12}P_{22} \\ \dot{P}_{22} &= 2a_{21}P_{12} + 2a_{22}P_{12} + Q_{22} - RP_{22}^2 \end{aligned} \quad (4.49)$$



a.



b.

Fig. 4.19. Rezultatele estimării biomasei prin cele două versiuni de filtru Kalman extins (X_{estim1} , respectiv X_{estim2}), pentru $\sigma_{w1,2} = 0.1$, $\sigma_v = 0.1$ (a) și pentru $\sigma_{w1,2} = 0.3$, $\sigma_v = 0.1$ (b)

Rezultatele obținute sunt ilustrate în figurile 4.19 a și b. În figura 4.19 a, parametrii zgomotului au fost: $\sigma_{w1,2} = 0.1$, $\sigma_v = 0.1$. Dacă se mărește de 3 ori nivelul zgomotului de sistem, rezultatele sunt încă foarte bune (figura 4.19 b). Este evident faptul că, în comparație cu observorul extins, rezultatele sunt mai bune, în condițiile existenței unui nivel ridicat al zgomotului.

4.4.4. Estimarea stării în faza de declin

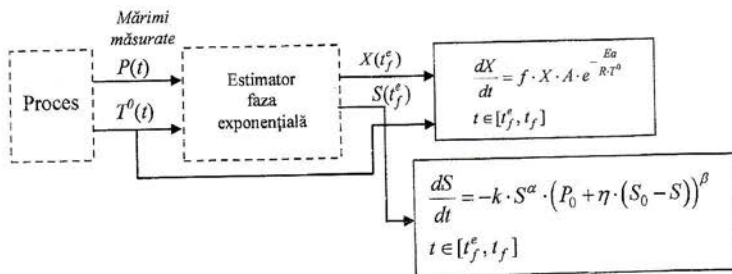


Fig. 4.20. Structura blocului de estimare în faza de declin

În general, proiectarea unui estimator de stare, fie sub forma unui observer clasic, fie sub forma unui filtru Kalman, pornește de la ecuația procesului (adică, se utilizează modelul procesului pentru estimarea stării). Deoarece nu se cunoaște *integral* starea inițială a procesului, pentru a se inițializa starea observerului, modelul estimatorului conține – pe lângă modelul procesului – și termenul $K_e(y - Cx)$. Inițial, acest termen are o pondere importantă, apoi, pe măsură ce x tinde spre \hat{x} , ponderea lui se reduce, până se anulează, astfel încât modelul estimatorului devine practic identic cu modelul procesului. Având în vedere cele prezentate, se constată că, în faza de declin, modelul sistemului are stările inițiale cunoscute, egale cu valorile mărimilor de stare din faza anterioară (de creștere exponențială). În consecință, estimarea variabilelor în faza de declin se poate realiza conform schemei din figura 4.20. După ce s-a constatat epuizarea fazei de creștere exponențială, la momentul t_f^e , se transferă estimările $X(t_f^e)$ și $S(t_f^e)$ ca inițializări ale ecuațiilor de stare pentru concentrațiile de biomasă și substrat. Acestea se integrează, cunoscând și valoarea măsurată a temperaturii, $T^0(t)$. Inițializările ecuațiilor fiind corecte, estimările se obțin prin integrarea ecuațiilor de stare.

5. Contribuții privind conducerea avansată a procesului de fermentație alcoolică

5.2. Obiectivele conducerii automate a procesului de fermentație

Rezultatele și concluziile descrise și precizate în capitolul 4 au conturat următoarelor obiective ale conducerii automate:

- găsirea soluției de determinare a fazei în care se află fermentația în orice moment a procesului;
- conducerea procesului astfel încât, în funcție de durata fiecărei faze de fermentație, să se poată lua decizii privind îmbunătățirea calității vinului obținut în urma fermentației (un vin mai mult sau mai puțin alcoolic, mai sec, mai dulce etc.) și totodată să se poată determina momentul de sfârșit al acestui proces;
- diagnoza procesului de fermentație.

Informațiile de timp real, pe baza cărora se realizează conducerea, provin atât de la tractoarele fizice din proces, cât și de la estimatorul de stare.

5.3.2. Informații privind procesul de fermentație alcoolică la vinurile albe rezultate din analiza unor date experimentale reprezentative obținute pe bioreactorul EVO de 10L

Au fost reținute pentru analiză un număr de 10 seturi de date experimentale "reprezentative", efectuate o parte la INP Toulouse, Franța, în laboratorul de oenologie de la ENSIACET, și o altă parte pe bioreactorul EVO de 10L din laboratorul de cercetare: Modelarea, simularea și conducerea avansată a proceselor și bioprocесelor tehnologice din industria alimentară, Universitatea "Lucian Blaga" din Sibiu. Din analiza mărimilor fizice, chimice și microbiologice ale procesului, a condițiilor inițiale, cât și a condițiilor de comandă, rezultă următoarele constatări:

1. Datele experimentale analizate exprimă patru situații de comandă distincte:

- situația în care s-a lucrat pe substrat: must de malț și drojdie de vin: *Saccharomyces oviformis* și *Saccharomyces elipsoidus*, cu reglarea temperaturii și vitezei de amestecare, iar concentrațiile de glucoză, drojdie, alcoolul etilic, CO₂ eliminat și oxigenul dizolvat și eliminat, pH-ul au variat liber, conform procesului de fermentație;

- situația în care s-a lucrat pe substrat: must de malț îmbogățit cu vitamina B1 (tiamină) și drojdie de vin: *Saccharomyces oviformis* și *Saccharomyces elipsoidus*, cu reglarea temperaturii și vitezei de amestecare, iar concentrațiile de glucoză, drojdie, alcoolul etilic, CO₂ eliminat și oxigenul dizolvat și eliminat, pH-ul au variat liber, conform procesului de fermentație;

- situația în care s-a lucrat pe substrat: must de struguri albi (altoi: reisling, ceasla și perle de zale) și drojdie de vin: *Saccharomyces oviformis* și *Saccharomyces elipsoidus*, cu reglarea temperaturii și vitezei de amestecare, iar concentrațiile de glucoză, drojdie, alcoolul etilic, CO₂ eliminat și oxigenul dizolvat și eliminat, pH-ul au variat liber, conform procesului de fermentație;

- situația în care s-a lucrat pe substrat: must de struguri albi (altoi: reisling, ceasla și perle de zale) îmbogățit cu vitamina B1 (tiamină) și drojdie de vin: *Saccharomyces oviformis* și *Saccharomyces elipsoidus*, cu reglarea temperaturii și vitezei de amestecare, iar concentrațiile de glucoză, drojdie, alcoolul etilic, CO₂ eliminat și oxigenul dizolvat și eliminat, pH-ul au variat liber, conform procesului de fermentație.

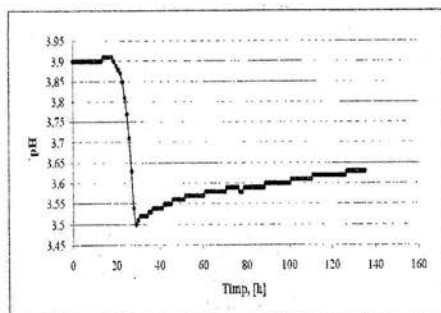
2. În aceleași condiții de comandă s-au obținut evoluții asemănătoare ale procesului și deci ale mărimilor urmărite.

3. Există în datele experimentale indicii privind corelații ale variabilelor din proces, care prezintă interes în problema conducerii automate. Dintre acestea, pot fi menționate:

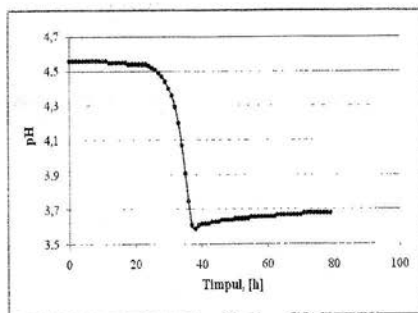
- variația temperaturii și a regimului termic influențează calitatea procesului de fermentație (concentrația de alcool etilic, aromele, concentrația produșilor secundari) precum și durata de fermentație [18];

- cantitatea de CO₂ degajată în timpul fiecărei faze a procesului (și în special în faza tumultuoasă, de formare a biomasei) dă informații utile despre modul de evoluție a mărimilor importante în proces (consumul de substrat, dezvoltarea de biomasă, carențele în azot și vitamine din substrat, formarea de alcool etilic).

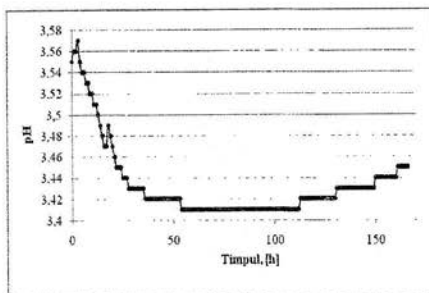
În figurile 5.3-5.5 sunt prezentate evoluțiile: pH-ului, absorbției optice (concentrația de biomasă totală) și concentrația de CO₂ degajat pentru cele patru tipuri de fermentații (a, b, c și d).



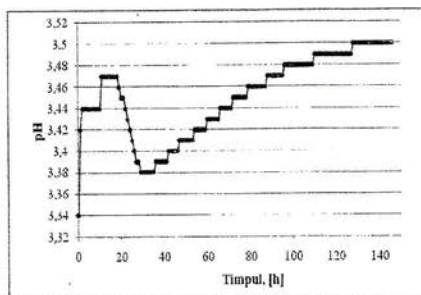
a)



b)



c)



d)

Fig. 5.3. Evoluția pH-ului în cele patru tipuri de fermentații

Studiul figurilor 5.3 – 5.5 conduce la următoarele concluzii:

- variația fiecărei mărimi studiate (pH, densitatea optică și concentrația de CO_2 degajat), în toate cazurile de fermentație realizate, oferă posibilitatea de a determina sfârșitul, respectiv începutul, celor trei faze ale unui proces de fermentație;
- timpii de sfârșit, respectiv de început, ai fazelor procesului de fermentație sunt detectabili pe baza unor reguli care vizează cele trei mărimi urmărite, pentru fiecare tip de fermentație, deci implicit și durata fiecărei faze;
- prin monitorizarea a cel puțin câte două din mărimile urmărite se va putea dezvolta soluția de conducere a procesului de fermentație.

5.4. Conducerea procesului de fermentație alcoolică

Conducerea automată a procesului de fermentație alcoolică la vinurile albe a fost concepută sub forma unui sistem pe trei niveluri principale. Nivelul zero reprezintă buclele de reglare automată a: temperaturii, presiunii, concentrației de CO_2 și O_2 degajate, pH-ului, pO_2 -ului, nivelului și turației, bucle deținute de bioreactor. La nivelul întâi de conducere se dorește detectarea celor trei faze ale procesului de fermentație, în funcție de durata acestor faze, durată determinată de caracteristicile mediului de fermentație (concentrația inițială de substrat, conținutul acestuia de azot asimilabil și de vitamine, concentrația inițială de biomasă

și tipul acesteia). Principalele mărimi determinante în acest nivel sunt concentrația de CO_2 degajat, pH-ul și densitatea optică care dă informații despre concentrația de biomasa totală pe parcursul procesului. Nivelul al doilea va realiza continuizarea procesului ca un tot unitar, prin supervizare în secvență (succesiunea de operații ale unei șarje de fermentație). De asemenea, nivelul doi realizează conducerea procesului, pentru asigurarea parametrilor calitativi ai produsului, precum și diagnoza procesului.

5.4.1. Conducerea procesului de fermentație la nivelul întâi

Conducerea pe acest nivel trebuie să asigure detectarea fazei în care se găsește procesul de fermentație și implicit durata fiecărei faze. Astfel, folosind cunoștințele obținute în cele patru tipuri de fermentație, nivelul întâi va avea în componența sa o bază de reguli care folosește informațiile date de traductorii de pH, de CO_2 degajat și de densitate optică, precum și de estimatorul extins (concentrația de substrat).

În funcție de dotările bioreactorului, s-au dezvoltat două variante de reguli pentru determinarea celor trei faze ale procesului de fermentație după cum urmează :

a) cazul în care se dispune de pH, concentrația de CO_2 degajat și concentrația de substrat dată de filtrul Kalman extins

Regula 1:

DACĂ ((CO_2 =const.) **ȘI** ($CO_2 \leq 0.5$)) **ȘI** ((pH =const.) **SAU** (pH descreește)) **ȘI** (concentrația de substrat=const.) **ȘI** (ultima fază=faza_de_latență)

ATUNCI (noua fază=faza_de_latență)

DESCRIERE: identifică faza de latență în dezvoltarea biomasei

Regula 2:

DACĂ ((CO_2 crește) **SAU** (CO_2 =const.)) **ȘI** (pH descreește) **ȘI** (concentrația de substrat descreește) **ȘI** ((ultima fază=faza_de_latență) **SAU** (ultima fază=faza_exponențială))

ATUNCI (noua fază=faza_exponențială)

DESCRIERE: identifică faza exponențială în dezvoltarea biomasei

b) cazul în care se dispune de pH, concentrația de CO_2 degajat, concentrația de biomasă și concentrația de substrat dată de filtrul Kalman extins

Regula 4:

DACĂ ((CO_2 =const.) **ȘI** ($CO_2 \leq 0.5$)) **ȘI** ((pH =const.) **SAU** (pH descreește)) **ȘI** ((ABS=const.) **ȘI** (ABS ≤ 0.9 AU)) **ȘI** (concentrația de substrat=const.) **ȘI** (ultima fază=faza_de_latență)

ATUNCI (noua fază=faza_de_latență)

DESCRIERE: identifică faza de latență în dezvoltarea biomasei

Regula 5:

DACĂ ((CO_2 crește) **SAU** (CO_2 =const.)) **ȘI** (pH descreește) **ȘI** (((ABS crește) **SAU** (ABS=const.)) **ȘI** (ABS > 1 AU)) **ȘI** (concentrația de substrat descreește) **ȘI** ((ultima fază=faza_de_latență) **SAU** (ultima fază=faza_exponențială))

ATUNCI (noua fază=faza_exponențială)

DESCRIERE: identifică faza exponențială în dezvoltarea biomasei

5.4.2. Conducerea procesului de fermentație la nivelul al doilea

Conducerea procesului la acest nivel se poate realiza tot sub forma unei baze de reguli, cu ajutorul căreia operatorul tehnolog este asistat, în vederea supravegherii și conducerii procesului de fermentație alcoolică.

Principalele funcții ale nivelului de conducere al doilea sunt:

1. Reguli de comandă, care se împart în două subgrupe:

1A. Secvențierea operațiilor unei șarje de fermentație alcoolică. Această

funcție cuprinde toate operațiile legate de inițierea unei șarje de fermentație: alimentarea bioreactorului cu substrat, sterilizarea in situ, inocularea cu biomasă, procesul de fermentație propriu-zisă, golirea bioreactorului, spălarea acestuia. Printr-o secvențiere corectă, în concordanță cu realitatea, a acestor operații se va realiza eficientizarea șarjei respective de fermentație, eliminând astfel timpii morți, inerenți atunci când secvențierea este lăsată numai în seama operatorului tehnolog.

1B. Reguli privind realizarea obiectivelor de calitate, și anume: încadrarea etapelor de fermentație în anumite intervale de timp. Aceste intervale de timp depind de natura drojdiei, de temperatura de fermentație și de proprietățile mediului de fermentație. Nivelul al doilea va interveni în fiecare fază a procesului, atunci când apar situații de depășire sau reducere a timpului normal al fiecărei faze. În faza de latență poate apare situația de creștere a duratei acestei faze, fie datorită temperaturii prea mici de fermentație, fie datorită carențelor mediului de fermentație: concentrația de substrat prea mare pentru tipul de drojdie respectivă, concentrația prea mare de biomasă. În faza de creștere exponențială pot apare două situații: fermentație prea tumultuoasă (dată fie de temperatura prea mare, fie de caracteristicile mediului de fermentație) sau fermentație prea lentă (dată fie de temperatura prea mică, fie de carențele mediului de fermentație: prea mică concentrația de vitamine (în special tiamina) sau a azotului asimilabil).

2. Reguli de diagnoză, care și ele se împart în două categorii:

2A. Reguli de monitorizare a stării procesului, adică de diagnoză a stării procesului. Aici intervin reguli de detectare a cauzelor de depășire a duratelor fazelor procesului de fermentație precum și monitorizarea funcționării corecte a echipamentelor bioreactorului (în special a traductoarelor) prin asigurarea funcțiunii de conducere (recunoașterea fazei după o regulă nouă, mai „sumară”), cu un nivel de încredere mai redus (cu semnalarea acestui fapt).

2B. Intervenția nivelului doi de conducere în situații de avarie. Se are în vedere semnalarea din vreme a posibilităților apariției unei situații de avarie (de exemplu nerealizarea în condiții normale a sterilizării bioreactorului, nealimentarea la timp cu substrat și apoi cu biomasă, nefuncționarea normală a buclei de reglare a temperaturii). Toate aceste situații ar duce la compromiterea șarjei.

În privința comenzilor de secvențiere a operațiilor, se definește procesul ca un **automat finit cu un număr de stări**, de tipul:

Starea 0 – bioreactor inactiv (însă funcțional)

Starea 1 – bioreactor în regim de încărcare

Starea 2 - bioreactor în regim de sterilizare

Starea 3 - bioreactor în regim de răcire

Starea 4 – bioreactor în fermentație

Trecerea dintr-o stare în alta se face fie printr-o acțiune de comandă a operatorului și/sau sub acțiunea unui semnal de la un traductor.

Reguli de comandă – de secvențiere a operațiilor unei șarje

Regula 7:

DACĂ (starea procesului este 0) **ȘI** (timp proces = 0) **ȘI** (comandă operator=„încărcare”)

ATUNCI (starea procesului este 1)

DESCRIERE: bioreactorul este comandat în regim de încărcare

Regula 11:

DACĂ (starea procesului este 1) **ȘI** (semnal de răcire completă=1) **ȘI** (comandă operator = „execută inocularea”)

ATUNCI (starea procesului este 4)

DESCRIERE: bioreactorul este comandat în regim de fermentație

5.5. Realizarea unei aplicații de conducere a procesului de fermentație alcoolică

Folosind software-ul de supervizare, control și achiziție de date NEPTUNE a bioreactorului de 10L s-a realizat o aplicație de conducere a procesului. În această aplicație software au fost folosite o parte din regulile de la nivelul doi (reguli de comandă – de secvențiere a operațiilor unei șarje și cele de la nivelul întâi.

În figura 5.6 este prezentată macheta de interfațare cu operatorul tehnolog, machetă care cuprinde butoane de declanșare sau stopare a conducerii automate a diferitelor variabile precum și vizualizare sub formă de grafice on-line a mărimilor monitorizate și reglate ale bioreactorului și procesului care are loc în acesta. Aici se introduc valorile prescise și se activează buclele de reglare ale bioreactorului. De asemenea, din bara de meniu sau bara de instrumente se deschide secvența dorită de conducere a procesului, salvată sub formă de fișier (figura 5.7).

Figurile 5.8 prezintă lista întrebărilor formate în program și care sunt de fapt reguli de comandă.

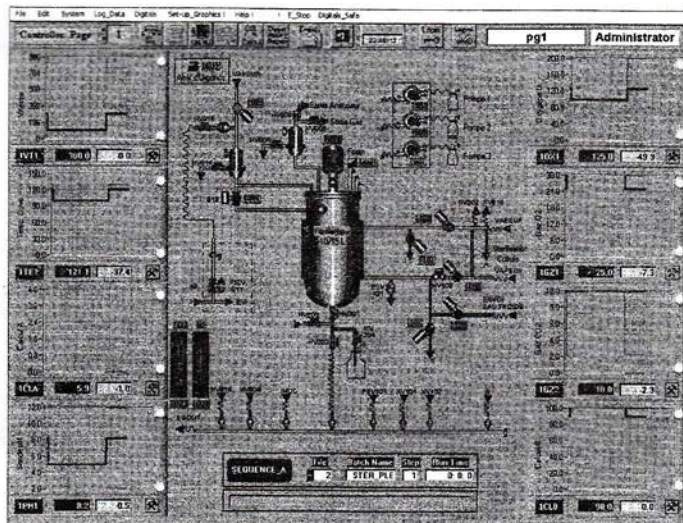


Fig. 5.6. Macheta de interfațare cu operatorul

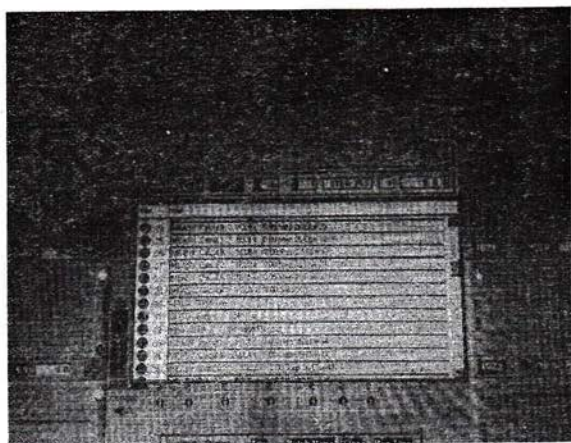


Fig. 5.7. Fereastra de declanșare a secvenței de conducere a procesului și fereastra script-ului

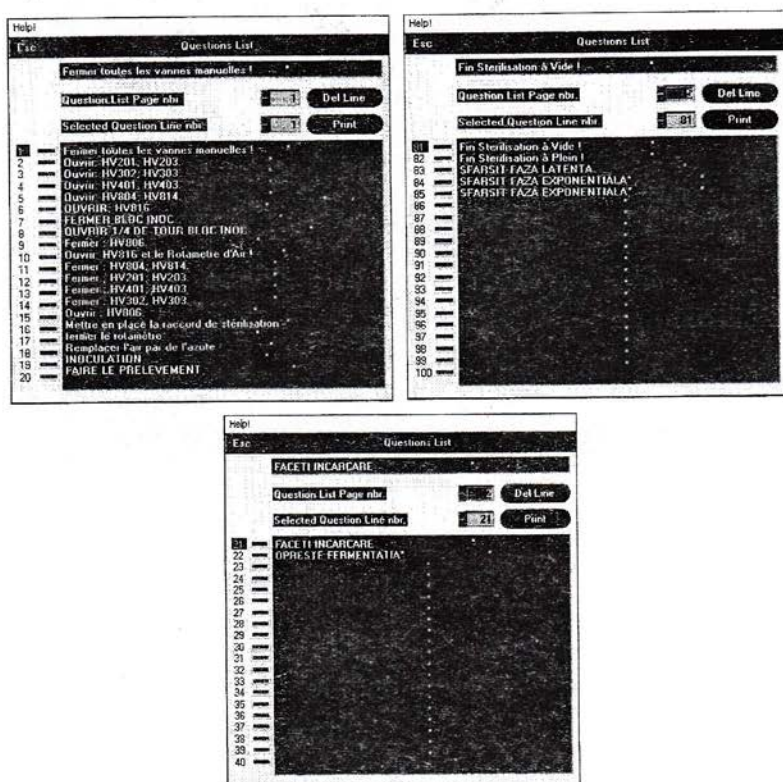


Fig. 5.8. Ferestrele cu listele de întrebări formate pentru regulile de comandă și cu mesajele transmise operatorului pentru cele trei faze ale procesului

6. Concluzii generale și contribuții

6.1. Concluzii generale

Documentarea și cercetarea științifică în cadrul acestei teze de doctorat privind procesul de fermentație alcoolică a vinificației în alb s-au realizat folosind, pe de o parte, o bază materială bună din cadrul Institutului Național Politehnic din Toulouse, în prima fază, și apoi din cadrul laboratorului dezvoltat pe un proiect PNCDI II în Universitatea „Lucian Blaga” din Sibiu.

Procesul de fermentație alcoolică este un proces biotehnologic deosebit de complex, astfel încât etapele parcurse în activitatea de cercetare, în ordine cronologică, au fost:

- realizarea unui studiu experimental în vederea cunoașterii mai amănunțite a procesului fermentativ, în regim dinamic și staționar. Pe baza datelor experimentale obținute în cadrul bazei materiale menționate, s-a dedus un model nelinier de regim staționar al procesului de fermentație alcoolică. Acest model oferă dependența timpului de fermentație în funcție de temperatură, concentrația inițială de substrat și concentrația inițială de biomasă. De asemenea, el permite punerea în evidență a mărimilor care influențează viteza de fermentație și durata procesului, prin aplicarea metodei suprafeței de răspuns.

- dezvoltarea unui model structural-funcțional, pe faze, a procesului de fermentație alcoolică. Acest model este de tipul unui sistem dinamic cu structură variabilă, descriind evoluția principalelor mărimi de stare ale procesului (substrat, biomasă, produs de reacție, temperatură și CO₂ degajat) pe trei faze de desfășurare: faza latentă, faza exponențială de creștere și faza de declin. O atenție deosebită a fost acordată obținerii valorilor numerice din model, fie pe baza datelor din literatura de specialitate, fie prin confruntarea datelor din modelul analitic cu datele experimentale. Validarea globală a modelului dinamic propus cu datele experimentale a relevat o eroare dinamică maximă, pe toate variabilele de stare, de sub 15%. Au fost analizate și sensibilității sistemului, atât în raport cu condițiile inițiale ale procesului batch, cât și în raport cu parametrii din model.

- studierea și obținerea, pe baza modelului dezvoltat, a unei soluții de estimare a variabilelor procesului folosind observere extinse și filtre Kalman extinse. În acest scop, s-a delimitat modelul matematic cu structură variabilă al procesului batch de fermentație alcoolică, astfel încât estimarea variabilelor de stare să fie realizată pe faze. S-au obținut soluții de estimare a variabilelor procesului în faza exponențială, utilizând un observor extins, precum și două soluții de estimare a acestui proces prin filtre Kalman extinse. De asemenea, s-a realizat estimarea stării în faza de declin.

- realizarea conducerii avansate a acestui proces prin dezvoltarea unui sistem de conducere bazat pe cunoștințe. Utilizând baza experimentală performantă dezvoltată în cadrul tezei, a fost conceput un sistem de conducere a bioprocesului pe trei niveluri ierarhice, în care nivelurile superioare utilizează conducerea bazată pe cunoștințe.

6.2. Contribuții

Contribuțiile originale ale acestei teze de doctorat pot fi rezumate astfel:

- Obținerea, pe baza datelor experimentale, a unui model nelinier de regim staționar al procesului de fermentație alcoolică. Acest model oferă dependența timpului de fermentație în funcție de temperatură, concentrația inițială de substrat și concentrația inițială de biomasă.

- Realizarea unui model dinamic al procesului de fermentație alcoolică. Acesta este un sistem care reflectă evoluția principalelor mărimi de stare ale procesului (substrat, biomasă, produs de reacție, temperatură și CO₂ degajat) pe trei faze de desfășurare: faza latentă, faza exponențială de creștere și faza de declin.

- Evaluarea sensibilității sistemului, prin analiza soluțiilor ecuațiilor de

sensibilitate, atât în raport cu condițiile inițiale ale procesului batch, cât și în raport cu parametrii din model.

➤ Stabilirea a două soluții de configurare a legii de reglare neliniare pentru bucla temperaturii mediului de reacție, utilizând fie o structură de reglare de tip PI, fie un regulator fuzzy.

➤ Structurarea modelului matematic heterogen al procesului batch de fermentație alcoolică, astfel încât estimarea variabilelor de stare să fie realizată pe faze.

➤ Obținerea unei soluții de estimare a variabilelor procesului în faza exponențială, utilizând un observer extins, precum și două soluții de estimare a acestui proces prin filtre Kalman extinse.

➤ Obținerea estimării stării în faza de declin.

➤ Realizarea conducerii automate folosind trei niveluri:

- nivelul zero reprezintă buclele de reglare automată ale bioreactorului;

- nivelul întâi de conducere reprezintă un sistem de reguli care folosește

informațiile date de traductorii de pH, de CO₂ degajat și de densitate optică, precum și de estimatorul extins (concentrația de substrat) în vederea detectării celor trei faze ale procesului de fermentație și a duratei acestora.

- nivelul al doilea a fost format ca un automat finit cu un anumit număr de stări.

Acesta asistă operatorul tehnolog în vederea supravegherii, conducerii și asigurării parametrilor calitativi ai produsului procesului de fermentație alcoolică.

➤ Implementarea conducerii automate sub forma unei aplicații software de supervizare, control și achiziție de date NEPTUNE a bioreactorului a demonstrat posibilitatea conducerii automate în practica industrială a tehnologiei de obținere a vinurilor.

Teza prin contribuțiile ei dezvoltă posibilități de a continua:

- îmbunătățirea modelului dinamic realizat în ceea ce privește ecuația de variație a concentrației de CO₂ degajat, ecuație deosebit de importantă privind informațiile pe care le furnizează despre modul de desfășurare a procesului de fermentație alcoolică;

- finalizarea conducerii automate a procesului prin dezvoltarea unui sistem expert;

- implementarea conducerii automate în procesul tehnologic industrial al vinificației în alb.

6.3. Diseminare

Articole citate ISI

1. Anca Sipos, S.P. Agachi, X. M. Meyer and P. Strehaiano; Batch fermentation process: modeling and direct sensitivity analysis; Acta Alimentaria; 39 (2); (2010); 222-233.

2. V. M. Cristea, A. L. Imre, Anca Sipos, Dorina Bratfalean and S. P. Agachi; Artificial neural networks used for the simulation of the batch fermentation bioreactors; Studia Univ. Babeș-Bolyai, Seria Chemia; Tom I; (2009); 87-94.

3. Anca Sipos, X. M. Meyer and P. Strehaiano; Mathematical description of a batch fermentation process; Revista de Chimie; 58 (8); (2007); 838-843.

4. Anca Sipos, X. M. Meyer and P. Strehaiano; Development of a non-linear, dynamic mathematical model for the alcoholic fermentation; Acta Alimentaria; 36(4); (2007); 429-438.

Articole indexate ISI Proceedings

1. Anca Sipos and I. D. Mironescu; Collaborative learning environment for bioprocess control; 5th Balkan Region Conference on Engineering and Business Education & 2nd International Conference on Engineering and Business Education Sibiu, Romania, 15 - 17 October, 2009.

Bibliografie selectivă

- [2] Caraman S., Ceangă E., Frangu L. și Mencinicopschi G.; Modelarea și conducerea proceselor biotehnologice; Editura Didactică și Pedagogică; București; 2002.
- [3] Șipoș A., Pasat G.D., Vasile Mircea Cristea V.M., Mudura E., Imre L.I. și Brățfălean D.; Modelarea, simularea și conducerea avansată a bioprocесelor fermentative; Editura Universității "Lucian Blaga" din Sibiu; Vol. I; Sibiu; 2010.
- [4] Vogel H.C., Tadarо C.L.; Fermentation and Biochemical Engineering Handbook – Principles; Process Design and Equipment (2nd Edition); William Andrew Publishing/Noyes; 1997.
- [5] Valentinotti S., Srinivasan B., Holmberg U., Bonvin D., Cannizzaro C., Rhiel M., von Stockar U.; Optimal operation of fed-batch fermentation via adaptive control of overflow metabolit; Control Engineering Practice; 11; (2003); 665-674.
- [16] Ferreira L.S., De Souza M.B.Jr., Trierweiler J.O., Broxtermann O., Folly R.O.M., Hitzmann B.; Aspects concerning the use of biosensors for process control: experimental and simulation investigations; Computers and Chemical Engineering; 27; (2003); 1165-1173.
- [17] Ferreira L.S., De Souza M.B.Jr., Folly R.O.M.; Development of an alcohol fermentation control system based on biosensor measurements interpreted by neural networks; Sensors and Actuators B; 75; (2001); 166-171.
- [18] Torija Ma. J., Rozes N., Poblet M., Guillamon J.M., Mas A.; Effects of fermentation temperature on the strain population of *Saccharomyces cerevisiae*; International Journal of Food Microbiology; 80; (2003); 47-53.
- [19] El-Mansi E.M.T.; Microbiology of industrial fermentation; in El-Mansi, Mansi și Bryce Charlie; Fermentation microbiology and biotechnology; Taylor & Francis; 1999.
- [20] Barbu M., Caraman S. și Ceangă E.; State and Parameter Estimators for the Biosynthesis Processes; 6th International Conference on Technical Informations; CONTI'2004; Timișoara; Romania; 49; (2004); 139-144.
- [21] Caraman S.; "Contribuții la realizarea unui sistem expert pentru conducerea bioreactoarelor cu funcționare discontinuă"; Teza de doctorat; Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați; octombrie; 1997.
- [22] Sipoș A., Agachi P.S., Meyer X.M. and Strehaiano P.; Batch fermentation process: modeling and direct sensitivity analysis; Acta Alimentaria; 39 (2); (2010); 222-233.
- [23] Donati G., Paludetto R.; Batch and semibatch catalytic reactors (from theory to practice); Catalysis Today; 52; (1999); 183-195.
- [24] Smets I. Y. M., Versyck K. J. E. and Van Impe J. F. M.; Optimal control theory: a generic tool for identification and control of (bio-)chemical reactors; Annual Reviews in Control; 26; (2002); 57-73.
- [33] Flanzy C.; (Enologie – fondements scientifiques et techniques; Technique&Documentation; Paris; 1998.
- [34] Sipoș A., Meyer X. M. and Strehaiano P.; Development of a non-linear, dynamic mathematical model for the alcoholic fermentation; Acta Alimentaria; 36 (4); (2007); 429-438.
- [35] Sipoș A., Meyer X. M. and Strehaiano P.; Mathematical description of a batch fermentation process; Revista de Chimie; 58 (8); (2007); 838-843.
- [36] Krothapally M., Palanki S.; ISA Transactions; 38; (1999); 383-396.
- [37] Lei F., Rotboli M., Jorgensen S.B.; J. of Biotechnology; 88; (2001); 205-221.
- [38] Bovée J.P., Strehaiano P., GOMA G. and Sevely Y.; Alcoholic fermentation: modelling based on sole substrate and product measurement; Biotechnol. Bioeng.; 26; (1984); 328-334.
- [39] Costa A.C., Atala D.I.P., Maugeri F. and Maciel R.; Factorial design and simulation for the optimization and determination of control structures for an extractive alcoholic fermentation; Process Biochem.; 37; (2001); 125-137.

- [40] Blouin J. and Peynaud E.; *Connaissance et travail du vin*; Dunod; Paris; 87-91; 2001.
- [41] Ungureanu S.; *Sensibilitatea sistemelor dinamice (cu aplicații în industria și ingineria chimică)*; Editura Tehnică; București; capitolul III; 1988.
- [42] Barbu M.; *Conducerea automată a proceselor biotehnologice*; Editura Galati University Press; Galați; 2009.
- [43] V. M. Cristea, A. L. Imre, **Anca Sipos**, Dorina Bratfalean and S. P. Agachi; *Artificial neural networks used for the simulation of the batch fermentation bioreactors*; *Studia Univ. Babeș-Bolyai, Seria Chemia*; Tom I; (2009); 87-94.
- [44] Dumitrescu D., Costin H.; *Rețele neuronale: teorie și aplicații*; Editura Teora; București; 2000.
- [45] Haykin S.; *Neural Networks. A Comprehensive Foundation*; Prentice Hall; 1999.
- [48] Linko P. et al.; *Neural network programming in bioprocess variable estimation and state prediction*; *Journal of Biotechnology*; 21; (1991); 253-270.
- [49] Frangu L., Caraman S., Ceanga E.; *Model Based Predictive Control using Neural Network for Bioreactor Process Control*; *Control Engineering and Applied Informatics*; 3 (1); (2001); 29-38.
- [50] Bastin G., Dochain D.; *On-line Estimation and Adaptive Control of Bioreactors*; Elseviers; 1990.
- [51] Bastin G., Dochain D.; *On-line Estimation of Microbial Specific Growth Rates*; *Automatica*; 22 (6); (1986); 705-709.
- [52] Caraman S., Barbu M.; *Modelarea și conducerea proceselor biotehnologice*; Vol.1; *Modelarea și estimarea stării și parametrilor proceselor biotehnologice*; Editura Fundației Universitatea "Dunărea de Jos din Galați"; 2005.
- [53] Petre E.; *Sisteme automate neliniare. Aplicații în biotehnologie*; Editura Universitaria; Craiova; 2002.
- [54] Selișteanu D.; *Modelarea și conducerea bioreactoarelor*; Editura Universitaria; Craiova; 2001.
- [55] **Sipos A.** and Mironescu I. D.; *Collaborative learning environment for bioprocess control*; 5th Balkan Region Conference on Engineering and Business Education & 2nd International Conference on Engineering and Business Education Sibiu, Romania, 15 - 17 October, 2009.
- [56] Gauthier J.P., Hammouri H., Othman A.; *A Simple Observer for Nonlinear Systems. Applications to Bioreactors*; *IEEE Trans. On Automatic Control*; 37 (6); (1992); 875-880.
- [57] Balaji S., Lakshminarayanan, S., Krantz, William B.; *Scaling and sensitivity analysis of a reverse flowreactor*; *Chemical Engineering Science*; 63; (2008); 342-355.



266, 596.