Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Química e Ingeniería Química
Escuela Profesional de Ingeniería Química

Desarrollo y validación de un modelo híbrido matemático-computacional para predecir el descenso del pH en la elaboración de kéfir de leche bajo un perfil térmico escalonado controlado

TESIS

Para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico

AUTOR

Fernando Junior ROQUE ZAVALETA

ASESOR

Dr. Eder Clidio VICUÑA GALINDO

Lima, Perú

2026



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Roque, F. (2026). *Desarrollo y validación de un modelo híbrido matemático-computacional para predecir el descenso del pH en la elaboración de kéfir de leche bajo un perfil térmico escalonado controlado*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Química e Ingeniería Química, Escuela Profesional de Ingeniería Química]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Fernando Junior Roque Zavaleta
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	72808552
URL de ORCID	https://orcid.org/0009-0005-8466-9004
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Eder Clidio Vicuña Galindo
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09069542
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-4980-0490
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	José Fernandes de Oliveira Ugarte
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	48755147
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	José Orlando Calvay Castillo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	45152683
Datos de investigación	
Línea de investigación	Desarrollo de modelos, simulación y optimización de procesos

Grupo de investigación	No aplica
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento
Ubicación geográfica de la investigación	Lugar: Ambiente experimental acondicionado País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Carabayllo Centro poblado: El Progreso Urbanización: Pueblo Joven, zona III Manzana y lote: Mz. 4W, Lote 9 Jirón: Juan Velasco Alvarado 262 Latitud: -11.870635 Longitud: -77.010887
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Febrero 2026 – Mayo 2026
URL de disciplinas OCDE	2.04.01 - Ingeniería Química https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.04.01 2.04.02 - Ingeniería de Procesos https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.04.02

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA
Central Telefónica: 619-7000

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los suscritos miembros del Jurado Calificador nombrados por el señor Presidente del Comité Ejecutivo del "VI Programa Ciclo Taller de Titulación Profesional por la Modalidad de Tesis y Trabajo de Suficiencia Profesional para la Facultad de Química e Ingeniería Química 2026-I", bajo la Presidencia del **Dr. José Fernandes De Oliveira Ugarte**; el **Dr. José Orlando Calvay Castillo (Miembro)** y el **Dr. Eder Clidio Vicuña Galindo (Asesor);** habiendo presentado para tal efecto **la TESIS,** titulado **"Desarrollo y validación de un modelo híbrido matemático-computacional para predecir el descenso del pH en la elaboración de kéfir de leche bajo un perfil térmico escalonado controlado",** después de **SUSTENTADA Y APROBADA** la tesis elaborada por el bachiller en Ingeniería Química: **ROQUE ZAVALETA, FERNANDO JUNIOR;** para optar el **TÍTULO PROFESIONAL** de **INGENIERO QUÍMICO,** acordaron calificarlo con la **NOTA** de:

Dieciocho 18
(LETRAS) (NÚMEROS)

Ciudad Universitaria, 20 de junio del 2026

Dr. JOSÉ FERNANDES DE OLIVEIRA UGARTE
Presidente

Dr. JOSÉ ORLANDO CALVAY CASTILLO
Miembro

Dr. EDER CLIDIO VICUÑA GALINDO
Asesor

Dr. EDER CLIDIO VICUÑA GALINDO
Director de la E.P. de Ingeniería Química

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA • UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS • Facultad de Química e Ingeniería Química

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE
SAN MARCOS
Universidad del Perú, Decana de América

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, **Eder Clidio Vicuña Galindo** en mi condición de asesor con el Dictamen N°000008-2026-EPIQ-FQIQ/UNMSM de la Tesis, cuyo título es **Desarrollo y validación de un modelo híbrido matemático-computacional para predecir el descenso del pH en la elaboración de kéfir de leche bajo un perfil térmico escalonado controlado,** presentado por el bachiller: **ROQUE ZAVALETA, FERNANDO JUNIOR**, para optar el título Profesional de Ingeniero Químico.

CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el 7% de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del título Profesional de Ingeniero Químico.

Lima, 3 de julio del 2026

Firma del Asesor _____

Nombres y Apellidos del asesor Eder Clidio Vicuña Galindo

DNI: 09069542

AGRADECIMIENTO

Gracias a Dios por su inmenso amor, misericordia y fidelidad durante cada día de mi vida.

A mis padres Fernando y Milagros, por su apoyo incondicional durante esta etapa y en la vida.

A Yoselin, mi compañera en la vida, por su constante ánimo.

Al Dr. Eder Vicuña, quien gracias a su acompañamiento permitió el desarrollo de este proyecto de tesis.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN……....1
1.1. Introducción……..1
1.2. Planteamiento del problema……1
1.2.1. Pregunta general……...3
1.2.2. Preguntas específicas……3
1.3. Objetivos de la investigación……..4
1.3.1. Objetivo general……...4
1.3.2. Objetivos específicos……..4
1.4. Justificación de la investigación……..4
1.4.1. Justificación teórica……..4
1.4.2. Justificación práctica……5
1.5. Limitaciones de la investigación……..6
II. REVISIÓN DE LITERATURA……..7
2.1. Antecedentes del estudio……..7
2.1.1. Antecedentes internacionales……..7
2.1.2. Antecedentes nacionales……20
2.2. Bases teóricas……..23
2.2.1. Kéfir de leche……23
2.2.2. Fermentación láctica……..23
2.2.3. Modelo de Gompertz aplicado al descenso de pH……24
2.2.4. Modelo de Arrhenius y energía de activación aparente……25
2.2.5. Integración numérica mediante Runge-Kutta de cuarto orden……..26
2.2.6. Redes neuronales artificiales……27
III. HIPÓTESIS……28
3.1. Hipótesis general……..28
3.2. Hipótesis específicas……..28
IV. MATERIALES Y MÉTODOS……..29
4.1. Área de estudio……..29
4.2. Metodología……29
4.3. Diseño de la investigación……..30
4.4. Población y muestra……..33
4.4.1. Población……..33
4.4.2. Muestra……34
4.5. Insumos, materiales, equipos e instrumentos utilizados……35
4.5.1. Cultivo……..35
4.5.2. Sustrato……35
4.5.3. Equipos y materiales……35
4.5.4. Reactivos……36
4.5.5. Sistema de instrumentación ……36
4.5.6. Software……38
4.6. Preparación experimental……..38

4.6.1. Activación inicial del cultivo de granos de kéfir……..38
4.6.2. Acondicionamiento instrumental para el registro de datos……..……39
4.6.3. Calibración del sensor de pH…….……...41
4.6.4. Conservación de granos posterior a la experiencia…….…43
4.7. Procedimiento experimental…….……..43
4.7.1. Inoculación de granos……..…….44
4.7.2. Registro de datos para la obtención de parámetros cinéticos.....45
4.7.3. Registro de datos bajo un perfil térmico escalonado controlado……..……46
4.8. Modelamiento matemático y computacional…….……46
4.8.1. Preprocesamiento de datos……..…….50
4.8.2. Modelamiento matemático diferencial……...……..51
4.8.3. Modelamiento híbrido matemático–computacional…….……55
4.8.4. Validación externa ciega de modelos……..…….60
V. RESULTADOS……..…….62
5.1. Registro de datos durante las corridas experimentales…….……..…62
5.2. Ajuste del modelo de Gompertz…….…….…..64
5.3. Evaluación de la relación térmica de Arrhenius…….…..…….68
5.4. Determinación del pH teórico para cada temperatura……...……70
5.5. Entrenamiento de la red y evaluación interna de modelos……70
5.6. Validación externa ciega y comparación de modelos……..…….79
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS…….…87
VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES……...……92
7.1. Conclusiones…….92
7.2. Recomendaciones……..…....94
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS…….……...95
IX. ANEXO…….……..102
Anexo A. Matriz de consistencia……..……102
Anexo B. Figuras del proceso experimental……..…103
Anexo C. Carpeta digital con datos, códigos y modelo entrenado……..…122

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Etapas experimentales secuenciales del diseño propuesto…….……...……..32

Tabla 2. Estructura de la matriz de datos experimentales registrados…….……..41

Tabla 3. pH inicial, pH final y duración experimental de las corridas isotérmicas a diferentes temperaturas objetivo……..…….62

Tabla 4. Parámetros cinéticos y métricas de ajuste del modelo de Gompertz modificado para las corridas isotérmicas evaluadas……...…….65

Tabla 5. Parámetros obtenidos de la ecuación de Arrhenius……...……69

Tabla 6. pH final teórico y métricas de desempeño del modelo Gompertz-Arrhenius para las temperaturas isotérmicas evaluadas……..……70

Tabla 7. Parámetros considerados en el entrenamiento de la red neuronal de tipo MLP…...71

Tabla 8. Métricas de las temperaturas de los modelos en el entrenamiento……..72

Tabla 9. Datos utilizados en la validación externa ciega…….80

Tabla 10. Métricas de modelos híbrido y teórico en la validación externa……...…….80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación de una red neuronal biológica y una artificial……..……..27

Figura 2. Diagrama de flujo del proceso experimental…….……33

Figura 3. Curvas de descenso de pH durante la fermentación bajo condiciones isotérmicas de 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C……..63

Figura 4. Perfiles térmicos reales registrados durante la fermentación bajo condiciones isotérmicas de 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C……..……64

Figura 5. Curvas representativas del descenso de pH durante la fermentación bajo condiciones isotérmicas de 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C…….……..66

Figura 6. Perfiles térmicos reales registrados durante las corridas isotérmicas de fermentación a 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C……..67

Figura 7. Comparación global del descenso de pH durante la fermentación isotérmica a 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C……..…….68

Figura 8. Linealización de Arrhenius para la estimación de la energía de activación aparente asociada a la velocidad máxima……..……..69

Figura 9. Comparación de las métricas de desempeño del modelo Gompertz-Arrhenius y del modelo híbrido Gompertz-MLP durante el entrenamiento en condiciones isotérmicas de 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C……...……72

Figura 10. Comparación del pH experimental tratado frente al modelo Gompertz-Arrhenius y al modelo híbrido Gompertz-MLP durante las corridas isotérmicas a 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C…….……..73

Figura 11. Variación de los residuos del modelo Gompertz-Arrhenius y del modelo híbrido Gompertz-MLP durante las corridas isotérmicas evaluadas. La línea naranja corresponde al residual del modelo matemático base, mientras que la línea verde representa el residual obtenido después de aplicar la corrección mediante MLP…….……74

Figura 12. Distribución de residuos mediante diagrama de cajas del modelo Gompertz-Arrhenius y del modelo híbrido Gompertz-MLP durante el ajuste interno de las corridas isotérmicas a 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C…….……75

Figura 13. Histogramas de residuos del modelo Gompertz-Arrhenius y del modelo híbrido Gompertz-MLP para las cuatro temperaturas isotérmicas evaluadas. La distribución naranja corresponde al modelo matemático base, mientras que la verde representa los residuos luego de aplicar la corrección residual mediante MLP……...…76

Figura 14. Comparación entre el pH experimental tratado y el pH predicho por los modelos Gompertz-Arrhenius y Gompertz-MLP en las corridas isotérmicas de entrenamiento……77

Figura 15. Distribución global de los residuos mediante diagrama de caja del modelo Gompertz-Arrhenius y el modelo híbrido Gompertz-MLP. La línea discontinua representa el residual ideal igual a cero, es decir, la condición en la que el pH predicho coincide con el pH experimental tratado……..……..77

Figura 16. Histograma global de residuos para el modelo Gompertz-Arrhenius y el modelo híbrido Gompertz-MLP, considerando n = 3744 datos en ambos casos. La línea discontinua vertical representa el residual ideal igual a cero, donde el pH predicho coincide con el pH experimental tratado…….……78

Figura 17. Comparación global del desempeño del modelo Gompertz-Arrhenius y del modelo híbrido Gompertz-MLP durante la etapa de entrenamiento…….…….79

Figura 18. Perfil térmico real registrado durante la corrida de validación externa bajo condiciones escalonadas controladas……81

Figura 19. Gráfica del modelo teórico Gompertz-Arrhenius y el modelo híbrido Gompertz-MLP comparado con el descenso de pH experimental bajo un perfil térmico escalonado real……82

Figura 20. Comparación entre el pH experimental externo y el pH predicho por el modelo Gompertz-Arrhenius y el modelo híbrido Gompertz-MLP durante la validación externa ciega…….…….82

Figura 21. Evolución temporal de los residuos durante la validación externa bajo el perfil térmico escalonado……..…….83

Figura 22. Distribución de residuos en la validación externa ciega para el modelo Gompertz-Arrhenius y el modelo híbrido Gompertz-MLP……..……..84

Figura 23. Histograma de residuos en la validación externa de modelos……...……85

Figura 24. Comparación global del desempeño del modelo Gompertz-Arrhenius y del modelo híbrido Gompertz-MLP durante la validación externa ciega……85

Figura 25. Comparación del coeficiente de determinación global R^2 entre el modelo Gompertz-Arrhenius y el modelo híbrido Gompertz-MLP en las etapas de entrenamiento y validación externa……...……..86

Figura 26. Activación inicial de los granos en un medio lácteo……..……103

Figura 27. Granos de kéfir en el medio lácteo……...…….103

Figura 28. Inoculación previa a la experiencia a diferentes concentraciones……..…..104

Figura 29. Evaluación del pH con tiras de color a diferentes concentraciones en el tiempo……...……..……..…..104

Figura 30. Materiales e insumos utilizados en la etapa de inoculación.……..……105

Figura 31. Materiales de vidrio utilizados en la experiencia…….……..105

Figura 32. Soluciones y materiales utilizados en la calibración del sensor de pH……..….106

Figura 33. Baño maría, sensores de temperatura, sensores de pH y laptop utilizada……..106

Figura 34. Equipos, materiales e insumos en el área de trabajo……...……...107

Figura 35. Código para la lectura de voltaje en Arduino para la calibración de sensores de pH con las soluciones buffer de pH 4 y 7……....…107

Figura 36. Calibración de los sensores de pH con los buffers de pH 7 y pH 4 previo a la experiencia…….……108

Figura 37. Proceso de filtrado de los granos previo a la etapa de inoculación……..…...108

Figura 38. Proceso de pesado de los granos previo a la etapa de inoculación.……109

Figura 39. Acondicionamiento de los granos en los recipientes esterilizados previo a la etapa de inoculación…….109

Figura 40. Comparación de la temperatura registrada por el baño maría con la del sensor local de temperatura.……...110

Figura 41. Código para la lectura de temperatura y pH con los sensores en Arduino.…….110

Figura 42. Código en Python para el almacenamiento de datos leídos por Arduino.……..111

Figura 43. Monitoreo y seguimiento constante durante la fermentación y registro de datos por los sensores de pH y temperatura.…….112

Figura 44. Visualización de los datos registrados en tiempo real en una pantalla LCD…..112

Figura 45. Matraces inoculados durante el proceso de fermentación en el baño maría…..112

Figura 46. Aspecto del sistema en el matraz durante la fermentación……..…..113

Figura 47. Aspecto del sistema por sobrefermentación……..113

Figura 48. Aspecto del ensuciamiento del electrodo posterior a la fermentación……..114

Figura 49. Comparación del registro de pH de los sensores en tiempo real y el sensor de pH local. Comparación del registro de temperaturas de los sensores en tiempo real y el sensor de temperatura local.……...……114

Figura 50. Evaluación de la lectura de pH del sustrato lácteo con el sensor local……....115

Figura 51. Comparación del registro de pH de los sensores calibrados en tiempo real y el sensor de pH local.…….115

Figura 52. Comparación de valores de pH y temperatura de los sensores locales y sensores en tiempo real posterior a la etapa de fermentación en una solución de pH 7…….…..116

Figura 53. Valores registrados en la pantalla LCD de los sensores de pH y temperatura de la solución de pH 7……..116

Figura 54. Filtrado y pesado consecutivo entre fermentaciones.……...…….117

Figura 55. Librerías utilizadas en el código de entrenamiento en Python.……..……117

Figura 56. Diseño de la red MLP en Python en la etapa de entrenamiento…….....…118

Figura 57. Construcción de la red MLP en Python en la etapa de entrenamiento.……..…119

Figura 58. Entrenamiento de la red MLP en Python …….….119

Figura 59. Control térmico en el baño maría en el descenso de temperatura durante el registro de datos para la validación externa.……120

Figura 60. Librerías utilizadas en el código de validación externa ciega en Python.……..120

Figura 61. Diseño del código para la validación externa ciega en Python.…….……121

Figura 62. Aplicación de la red entrenada sobre los datos de ingreso y salida del pH híbrido y residuos del modelo híbrido y matemático.…….……..121

RESUMEN

La velocidad de descenso del pH durante la elaboración de kéfir de leche es sensible a los cambios de temperatura. En este contexto, la presente investigación tuvo como objetivo desarrollar y validar un modelo híbrido matemático-computacional para predecir el descenso del pH bajo un perfil térmico escalonado controlado. Se trabajó con 9 lotes experimentales entre 22.5 y 31.5°C, conformados por 8 fermentaciones isotérmicas distribuidas en 4 niveles de temperatura, con dos corridas por nivel térmico, y una fermentación escalonada para validación externa ciega. Durante los ensayos se mantuvieron constantes la concentración de inóculo y el volumen de sustrato, mientras que el pH y la temperatura fueron registrados en tiempo real mediante sensores conectados a un sistema de registro de datos. El modelamiento integró el modelo de Gompertz modificado con la ecuación de Arrhenius, resuelto mediante Runge-Kutta de cuarto orden, y posteriormente incorporó una red neuronal perceptrón multicapa como esquema de corrección residual. En la validación externa, el modelo Gompertz-Arrhenius obtuvo R^2 = 0.8757 y RMSE = 0.1845, mientras que el modelo híbrido mejoró el desempeño con R^2 = 0.9623 y RMSE = 0.1016, evidenciando mejor capacidad predictiva bajo el perfil térmico evaluado.

Palabras clave: kéfir, descenso de pH, Gompertz modificado, Arrhenius, perceptrón multicapa, modelamiento híbrido.

ABSTRACT

The rate of pH decline during milk kefir production is sensitive to temperature changes. In this context, the objective of this study was to develop and validate a hybrid mathematical-computational model to predict pH decline under a controlled stepwise temperature profile. The study involved 9 experimental batches at temperatures ranging from 22.5 to 31.5°C, consisting of 8 isothermal fermentations distributed across 4 temperature levels, with two runs per temperature level, and one stepwise fermentation for external blind validation. During the experiments, the inoculum concentration and substrate volume were kept constant, while pH and temperature were recorded in real time using sensors connected to a data logging system. The modeling integrated the Gompertz model modified with the Arrhenius equation, solved using a fourth-order Runge-Kutta method, and subsequently incorporated a multilayer perceptron neural network as a residual correction scheme. In the external validation, the Gompertz-Arrhenius model obtained R^2 = 0.8757 and RMSE = 0.1845, while the hybrid model improved performance with R^2 = 0.9623 and RMSE = 0.1016, demonstrating better predictive capacity under the evaluated thermal profile.

Keywords: kefir, pH decrease, modified Gompertz, Arrhenius, multilayer perceptron, hybrid modeling.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Introducción

La elaboración de kéfir de leche combina una práctica tradicional con un proceso fermentativo de interés tecnológico, debido a que emplea granos de kéfir constituidos por una comunidad simbiótica de bacterias y levaduras. Esta característica le otorga al producto un valor particular, pero también genera una respuesta fermentativa más compleja que la observada en sistemas elaborados con cultivos puros o iniciadores comerciales. Por ello, el estudio del kéfir de leche requiere considerar no solo su composición biológica, sino también las condiciones de operación que influyen en la evolución del proceso y en la estabilidad del producto final (Justel et al., 2026).

Durante la fermentación, variables como la temperatura, la concentración de inóculo, el tiempo de proceso, la composición del sustrato y las condiciones de operación pueden modificar la actividad del cultivo. Entre ellas, la temperatura resulta especialmente importante, ya que influye en la velocidad de acidificación y en el comportamiento del sistema fermentativo. En este contexto, el seguimiento del pH constituye una herramienta práctica para observar el avance de la fermentación, debido a que refleja la formación progresiva de ácidos orgánicos y permite describir la evolución del proceso en el tiempo. En kéfir de leche, se ha reportado que el pH puede disminuir desde valores cercanos a 6.6 hasta aproximadamente 4.5 después de 24 horas de fermentación, con una posterior estabilización alrededor de 3.9 bajo determinadas condiciones de elaboración (Alves et al., 2021).

A partir de ello, el modelamiento del descenso del pH representa una alternativa útil para comprender y anticipar el comportamiento de la fermentación, especialmente cuando la temperatura presenta variaciones durante el proceso. En la presente investigación, este enfoque se desarrolla mediante la integración de modelos cinéticos y herramientas computacionales, con el propósito de predecir el descenso del pH durante la elaboración de kéfir de leche bajo un perfil térmico escalonado controlado.

1.2. Planteamiento del problema

La elaboración de kéfir de leche es un proceso fermentativo en el que interviene una comunidad microbiana compleja formada por bacterias ácido-lácticas, bacterias acéticas y levaduras presentes en los granos de kéfir. Esta característica le otorga valor funcional al producto, pero también hace que su comportamiento durante la fermentación no sea tan

simple de controlar como en procesos realizados con cultivos puros. En la producción comercial se emplean con frecuencia cultivos iniciadores por su mayor estabilidad operativa; sin embargo, el uso de granos de kéfir mantiene una mayor diversidad microbiana y exige un control más cuidadoso de las condiciones de fermentación. Por ello, la estandarización del proceso no depende únicamente de fermentar la leche, sino de comprender cómo evolucionan variables como la temperatura, el tiempo de fermentación, la proporción de inóculo y el pH final del producto (Justel et al., 2026).

Dentro de estas variables, la temperatura cumple un papel central porque modifica la actividad metabólica del cultivo y, en consecuencia, la velocidad con la que disminuye el pH. En sistemas microbianos, los cambios térmicos pueden alterar la velocidad de crecimiento y la respuesta cinética del proceso, generando diferencias entre el comportamiento esperado y el comportamiento real de la fermentación (Dey et al., 2020). En fermentaciones lácteas tipo batch, también se ha reportado que las variaciones de temperatura producen respuestas dinámicas en el sistema, por lo que los modelos desarrollados únicamente bajo condiciones constantes pueden resultar limitados cuando se aplican a escenarios donde la temperatura cambia durante la operación (Ritonja et al., 2021).

El control del pH es importante porque permite seguir el avance de la acidificación y reconocer el momento en que la fermentación alcanza una condición adecuada. En kéfir elaborado bajo condiciones domésticas, se ha reportado que el pH puede disminuir desde valores cercanos a 6.6 hasta aproximadamente 4.5 después de 24 horas de fermentación, estabilizándose posteriormente alrededor de 3.9 (Alves et al., 2021). Sin embargo, en la práctica, este descenso no ocurre siempre con la misma velocidad, ya que depende de la temperatura, de la actividad del cultivo y de las condiciones de operación. Una acidificación lenta puede prolongar el tiempo de proceso, mientras que una acidificación acelerada puede favorecer una fermentación excesiva y afectar la estabilidad del producto final.

En el contexto peruano, este problema adquiere importancia en los sistemas de pequeña escala, donde muchas unidades productivas no disponen de instrumentación continua ni de herramientas predictivas para el seguimiento del proceso. Las MYPES lácteas suelen enfrentar limitaciones tecnológicas que dificultan la estandarización de sus operaciones y la obtención de productos uniformes (Córdova, 2018). A ello se suma que, en condiciones reales de trabajo, la temperatura del ambiente puede variar durante varias horas de fermentación, afectando la velocidad de acidificación. Frente a esta situación, el uso de

sensores de bajo costo y sistemas de adquisición de datos representa una alternativa viable para registrar variables del proceso en tiempo real y mejorar la toma de decisiones durante la fermentación (Chong Shin Yee et al., 2025; Di Gennaro et al., 2014).

Por lo tanto, existe la necesidad de contar con una metodología que permita describir y predecir el descenso del pH del kéfir cuando la temperatura no permanece estrictamente constante. En esta investigación, dicha condición se aborda mediante un perfil térmico escalonado controlado, el cual permite evaluar la respuesta del sistema ante cambios definidos de temperatura. Para ello, se plantea el uso de un modelo matemático-computacional basado en Gompertz-Arrhenius, complementado con una red neuronal artificial de tipo perceptrón multicapa como esquema de corrección residual. Este enfoque permite conservar una base cinética interpretable y, al mismo tiempo, mejorar la predicción frente a desviaciones experimentales propias de un sistema biológico complejo (Moya Almeida et al., 2021; Agharafeie et al., 2023). En ese contexto, se plantea un modelo híbrido matemático-computacional para predecir el descenso del pH durante la elaboración de kéfir de leche bajo un perfil térmico escalonado controlado (Alves et al., 2021); lo cual representa un desafío de carácter experimental, matemático y computacional.

1.2.1. Pregunta general

¿Qué modelos se deben emplear para predecir el descenso del pH debido a variaciones de temperatura dentro de un perfil térmico escalonado controlado durante la elaboración de kéfir de leche?

1.2.2. Preguntas específicas

- ✓ ¿Qué modelo matemático resulta válido para describir el descenso del pH y estimar los parámetros cinéticos durante la elaboración de kéfir bajo condiciones isotérmicas controladas?
- ✓ ¿De qué manera un modelo matemático diferencial permite evaluar el comportamiento del pH frente a cambios de temperatura dentro de un perfil térmico escalonado controlado durante la elaboración de kéfir?
- ✓ ¿Cuál es el nivel de precisión de la capacidad predictiva de un modelo matemático-computacional frente a variaciones de temperatura dentro de un perfil térmico escalonado controlado?

1.3. Objetivos de la investigación

Los siguientes son los objetivos que se plantean para el desarrollo de este trabajo de investigación.

1.3.1. Objetivo general

Desarrollar y validar un modelo híbrido matemático-computacional para predecir el descenso del pH durante la elaboración de kéfir de leche bajo un perfil térmico escalonado controlado.

1.3.2. Objetivos específicos

- ✓ Determinar la validez del modelo de Gompertz modificado para describir el descenso del pH y estimar los parámetros cinéticos durante la elaboración de kéfir bajo condiciones isotérmicas controladas.
- ✓ Evaluar el comportamiento del pH bajo cambios de temperatura dentro de un perfil térmico escalonado controlado durante la elaboración de kéfir mediante la integración del modelo Gompertz-Arrhenius.
- ✓ Validar la capacidad predictiva del algoritmo matemático-computacional basado en Gompertz-Arrhenius, incorporando una red neuronal artificial de tipo perceptrón multicapa como corrector residual.

1.4. Justificación de la investigación

La justificación de la presente investigación se desarrolla desde dos aspectos principales: la justificación teórica y la justificación práctica.

1.4.1. Justificación teórica

El estudio de la cinética de acidificación del kéfir de leche requiere modelos capaces de representar el descenso del pH cuando la temperatura no permanece estrictamente constante. En fermentaciones lácteas, los modelos cinéticos permiten describir la evolución del proceso a partir de parámetros asociados a la velocidad máxima de acidificación y al periodo de adaptación del cultivo. Entre estos modelos, Gompertz modificado ha sido ampliamente utilizado para representar curvas microbianas y extraer parámetros cinéticos; sin embargo, cuando la temperatura cambia durante la operación, los parámetros obtenidos bajo condiciones isotérmicas pueden perder capacidad descriptiva si no se incorpora una relación térmica dentro del modelo (Zwietering et al., 1990; Dey et al., 2020).

Para abordar esta limitación, la investigación integra el modelo de Gompertz modificado con la ecuación de Arrhenius, con el fin de relacionar la temperatura con la velocidad máxima de acidificación. Este enfoque permite pasar de una descripción basada solo en condiciones constantes a una formulación capaz de responder a un perfil térmico escalonado controlado. En estudios previos sobre fermentación con granos de kéfir, la relación entre temperatura y velocidad del proceso ha sido empleada para describir su comportamiento cinético, lo que respalda el uso de Arrhenius como herramienta para estimar la dependencia térmica del sistema (Zajšek & Goršek, 2010; Ritonja et al., 2021).

Además, la incorporación de una red neuronal artificial de tipo perceptrón multicapa como esquema de corrección residual permite evaluar si las desviaciones no explicadas por el modelo matemático pueden reducirse mediante un enfoque híbrido. En este caso, la red neuronal no reemplaza la base cinética del modelo, sino que la complementa aprendiendo patrones residuales presentes en los datos experimentales. Este tipo de integración es coherente con el modelamiento híbrido aplicado a bioprocesos y fermentaciones, donde los modelos matemáticos se combinan con aprendizaje automático para mejorar la capacidad predictiva sin perder la interpretación principal del fenómeno estudiado (Moya Almeida et al., 2021; Agharafeie et al., 2023; Bock et al., 2021).

1.4.2. Justificación práctica

En la elaboración de kéfir de leche, el seguimiento del pH permite reconocer el avance de la fermentación y tomar decisiones sobre el momento adecuado para detener el proceso. Cuando este control se basa solo en tiempos fijos, observación visual o mediciones puntuales, pueden generarse diferencias entre lotes, sobre todo si la temperatura cambia durante varias horas de operación. En fermentaciones lácteas, el monitoreo del pH es una herramienta útil para evaluar la evolución del producto y mejorar la uniformidad del proceso, por lo que anticipar su descenso puede contribuir a un manejo más ordenado de la fermentación (Soukoulis et al., 2007; Leite et al., 2013).

Esta necesidad es más evidente en sistemas de pequeña escala, donde no siempre se cuenta con instrumentación continua ni equipos automatizados de control. En el contexto peruano, las MYPES lácteas enfrentan limitaciones tecnológicas que dificultan la estandarización de sus procesos y la obtención de productos uniformes. Por ello, una metodología que permita registrar y analizar datos de pH y temperatura en tiempo real puede

aportar una herramienta útil para reducir la dependencia exclusiva de criterios empíricos durante la operación (Córdova, 2018).

La utilidad práctica de esta investigación se encuentra en combinar sensores de bajo costo, registro continuo de datos y modelamiento matemático-computacional para predecir el comportamiento del pH bajo un perfil térmico escalonado controlado. Esta propuesta no pretende reemplazar a los sistemas industriales de control, pero sí ofrece una base técnica aplicable en condiciones de laboratorio o pequeña producción. De esta manera, el modelo puede servir como apoyo para mejorar el seguimiento del proceso, ordenar la toma de decisiones y favorecer una mayor reproducibilidad entre lotes (Chong Shin Yee et al., 2025; Di Gennaro et al., 2014).

1.5. Limitaciones de la investigación

La presente investigación se orientó al estudio del descenso del pH durante la elaboración de kéfir de leche con granos de kéfir, bajo condiciones térmicas controladas. Los resultados obtenidos se interpretaron dentro del rango experimental evaluado, debido a que el comportamiento del kéfir puede variar según el origen del cultivo, la relación grano/leche, el tiempo de fermentación y las condiciones de operación. Por ello, el modelo desarrollado no debe considerarse una generalización directa para cualquier sistema de producción de kéfir, sino una herramienta predictiva ajustada a las condiciones trabajadas en este estudio (Garrote et al., 1998). También, la aplicación del modelo a otros rangos térmicos, tipos de leche, concentraciones de inóculo o perfiles de temperatura requerirá una nueva calibración y validación experimental, ya que los modelos predictivos deben evaluarse dentro del dominio para el cual fueron ajustados (Tarlak et al., 2020).

Asimismo, el análisis se centró en el pH como variable principal de respuesta. No se incluyeron mediciones complementarias como acidez titulable, biomasa, ácido láctico, etanol o recuento microbiano. En consecuencia, el modelo describió la cinética de acidificación, pero no representó de manera integral toda la dinámica microbiológica y bioquímica del proceso fermentativo.

Otra limitación estuvo asociada al uso de sensores de bajo costo para el registro continuo de pH y temperatura. Si bien estos permitieron monitorear el proceso en tiempo real, las señales pudieron presentar ruido o variaciones instrumentales, por lo que fue necesario aplicar tratamiento previo de datos antes del modelamiento (Chong Shin Yee et al., 2025; Di Gennaro et al., 2014).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Antecedentes del estudio

Los siguientes párrafos corresponden a una revisión prolija de los antecedentes de este trabajo a nivel nacional e internacional.

2.1.1. Antecedentes internacionales

Garrote et al. (1998), en el estudio "Characteristics of kefir prepared with different grain:milk ratios", evaluaron el efecto de diferentes relaciones grano/leche sobre las características del kéfir fermentado, considerando variables como pH, viscosidad aparente, contenido de CO_2 y composición microbiana. En su metodología, inocularon leche con distintas concentraciones de granos de kéfir, expresadas en g/L, e incubaron las muestras a 20°C, evaluando el comportamiento del producto durante la fermentación. Los resultados mostraron que la cantidad de gránulos modificó significativamente la acidificación: con 100 g/L de granos se alcanzó un pH de 4.5 después de aproximadamente 5 horas, mientras que con 10 g/L se requirieron cerca de 48 horas para llegar al mismo valor. Además, observaron que el uso de 10 g/L generó mayor viscosidad aparente, mientras que 100 g/L produjo una bebida más ácida, menos viscosa y con mayor contenido de CO_2. Los autores concluyeron que la relación grano/leche es un punto crítico para obtener kéfir con características constantes. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación, ya que evidencia la necesidad de controlar la concentración de inóculo para que el modelamiento del descenso del pH se enfoque principalmente en el efecto de la temperatura bajo condiciones experimentales definidas.

Leite et al. (2013), en el estudio "Microbiological and chemical characteristics of Brazilian kefir during fermentation and storage processes", evaluaron los cambios microbiológicos y químicos de una muestra de kéfir brasileño durante su fermentación y posterior almacenamiento refrigerado, con el propósito de caracterizar la evolución del producto desde una perspectiva fisicoquímica y microbiana. En su metodología, activaron los granos de kéfir en leche descremada reconstituida al 10 % p/v a 25°C durante 24 horas, luego inocularon 30 g de granos en 1000 mL de leche UHT descremada y realizaron fermentaciones estáticas a 25°C durante 24 horas, tomando muestras cada 6 horas; posteriormente, el kéfir fue almacenado a 4 ± 2°C durante 28 días. Evaluaron recuentos microbianos, identificación molecular por PCR-DGGE/RT-PCR-DGGE y análisis de metabolitos por HPLC. Los resultados mostraron que las bacterias ácido-lácticas alcanzaron

aproximadamente 10 log UFC/mL, las bacterias acéticas 7.8 log UFC/mL y las levaduras cerca de 6 log UFC/mL. Además, el pH disminuyó progresivamente de 6.55 a 4.85 durante las 24 horas de fermentación y llegó a 4.31 al final del almacenamiento; paralelamente, el ácido láctico aumentó hasta 7.38 mg/mL al final de la fermentación y 9.54 mg/mL a los 28 días. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación porque evidencia que el descenso del pH refleja la acidificación progresiva del kéfir de leche y se relaciona con la actividad metabólica del consorcio microbiano. Aunque el estudio tuvo un enfoque principalmente descriptivo y de caracterización, sus resultados respaldan el uso del pH como variable de seguimiento del proceso fermentativo. A partir de esta base, la presente investigación orientó el análisis hacia el modelamiento predictivo del descenso del pH, integrando Gompertz-Arrhenius y una corrección residual mediante MLP bajo un perfil térmico escalonado controlado.

Alves et al. (2021), en el estudio "Characterization of Kefir Produced in Household Conditions: Physicochemical and Nutritional Profile, and Storage Stability", caracterizaron el kéfir elaborado bajo condiciones representativas de uso doméstico, con el objetivo de evaluar su perfil fisicoquímico, nutricional y estabilidad durante almacenamiento refrigerado. En su metodología, emplearon granos de kéfir CIDCA AGK1 activados previamente, fermentaron leche UHT semidescremada con una concentración de inóculo de 10% p/v durante 24 horas a 20 ± 1°C y, posteriormente, evaluaron el producto fresco y almacenado a 5 ± 1°C durante 24 y 48 horas. Entre las variables analizadas se incluyeron crecimiento de biomasa de los granos, cinética de acidificación, recuentos de bacterias ácido-lácticas y levaduras, pH, viscosidad, composición nutricional y contenido de ácido láctico. Los resultados mostraron que, durante la fermentación, el pH descendió desde 6.6 en la leche sin fermentar hasta 4.5 ± 0.1 al final de las 24 horas, estabilizándose alrededor de 3.9 ± 0.1 después de 42 horas; además, se reportaron 7×10^{7} UFC/mL de bacterias ácido-lácticas, 2×10^{6} UFC/mL de levaduras y ausencia de coliformes. También se observó una disminución de 13.6 % en lactosa y un incremento de ácido láctico hasta 0.59 ± 0.07% p/v después de la fermentación. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación porque confirma que el pH permite seguir de manera clara el avance de la acidificación en kéfir de leche elaborado con granos. A diferencia de dicho estudio, que tuvo un enfoque de caracterización y estabilidad, la presente investigación utilizó la evolución del pH como variable principal para desarrollar y validar un modelo predictivo bajo un perfil térmico escalonado controlado.

Barão et al. (2019), en el estudio “Growth Kinetics of Kefir Biomass: Influence of the Incubation Temperature in Milk”, evaluaron la cinética de crecimiento de la biomasa de granos de kéfir en leche, con el objetivo de determinar cómo la temperatura de incubación influye sobre el aumento de masa del cultivo y qué modelo matemático describe mejor dicho comportamiento. En su metodología, activaron previamente los granos de kéfir en leche entera a 298 K durante 24 horas por tres días consecutivos; posteriormente, inocularon leche con 2% de granos y realizaron la fermentación durante 5 días a 298, 303 y 308 K. La biomasa fue determinada diariamente por pesada, y los datos fueron ajustados mediante regresión no lineal usando los modelos de Richards, logístico, Gompertz y cuadrático. Los resultados mostraron que la temperatura de 298 K produjo el mayor incremento de biomasa, alcanzando aproximadamente 445% al final del quinto día, mientras que a 303 y 308 K los incrementos fueron cercanos a 223 % y 221%, respectivamente. Asimismo, el modelo de Gompertz presentó buenos coeficientes de ajuste, con valores de R^2 entre 0.97 y 0.99, por lo que fue considerado adecuado para representar el crecimiento de biomasa en función del tiempo y la temperatura. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación porque evidencia que la temperatura modifica la respuesta de los granos de kéfir y que los modelos sigmoideos pueden describir procesos asociados a este cultivo. A diferencia de dicho estudio, centrado en biomasa, la presente investigación aplicó el enfoque cinético al descenso del pH como variable principal de acidificación bajo un perfil térmico escalonado controlado.

Laureys et al. (2022), en el estudio “Backslopping Time, Rinsing of the Grains During Backslopping, and Incubation Temperature Influence the Water Kefir Fermentation Process”, evaluaron cómo el tiempo de retroinoculación, el lavado de los granos y la temperatura de incubación influyen en el proceso fermentativo del kéfir de agua. En su metodología, desarrollaron series de fermentación durante ocho ciclos de retroinoculación, variando los tiempos de proceso entre 1, 2, 3 y 4 días, así como las temperaturas de incubación de 17, 21, 25 y 29°C. Las fermentaciones se realizaron en botellas de vidrio con 50 g de granos de kéfir de agua, 10 g de azúcar, 5 g de higos secos y 160 mL de agua, evaluando pH, crecimiento de granos, recuentos viables, diversidad microbiana, consumo de sustratos y producción de metabolitos. Los resultados mostraron que la temperatura modificó la composición microbiana del sistema: *Liquorilactobacillus mali* predominó a 17°C, *Leuconostoc pseudomesenteroides* a 21–25°C y *Liquorilactobacillus nagelii* a 29°C. Además, aplicaron la ecuación de Arrhenius para describir la dependencia térmica de las tasas volumétricas de producción de metabolitos, estimando energías de activación de 63.6

kJ/mol para etanol, 71.9 kJ/mol para ácido láctico, 62.2 kJ/mol para ácido acético, 76.3 kJ/mol para glicerol y 45.8 kJ/mol para manitol. Este antecedente se consideró principalmente por su aporte metodológico, ya que demuestra que la temperatura modifica la respuesta fermentativa de sistemas con granos de kéfir y que la ecuación de Arrhenius puede emplearse para cuantificar la dependencia térmica de variables del proceso. Aunque corresponde a kéfir de agua, su enfoque resulta útil para sustentar la incorporación de una relación térmica en el modelamiento del descenso del pH del kéfir de leche.

Zwietering et al. (1990), en el estudio "Modeling of the Bacterial Growth Curve", compararon diferentes funciones sigmoideas para describir curvas de crecimiento bacteriano, con el objetivo de determinar qué modelo permitía representar mejor la evolución microbiana y estimar parámetros con interpretación biológica. En su metodología, evaluaron los modelos logísticos, Gompertz, Richards, Schnute y Stannard, reparametrizándolos para expresar sus constantes en función de parámetros microbiológicamente relevantes, como la velocidad máxima específica de crecimiento, la fase de latencia y el valor asintótico. Para la validación, analizaron 40 curvas de crecimiento de *Lactobacillus plantarum* cultivado en medio MRS a diferentes temperaturas, además de 27 curvas correspondientes a otros microorganismos, aplicando regresión no lineal y pruebas estadísticas como t de Student y prueba F. Los resultados mostraron que el modelo de Gompertz fue aceptado en el 100% de los casos de *L. plantarum* mediante la prueba t y en el 95% mediante la prueba F; en otros microorganismos, fue aceptado en 70 % y 67 % de los casos, respectivamente. Los autores concluyeron que Gompertz resulta suficiente en la mayoría de curvas evaluadas, además de ser más simple, estable y fácil de interpretar que modelos de cuatro parámetros. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación porque justifica el uso del modelo de Gompertz modificado como herramienta para describir respuestas fermentativas de forma sigmoidal y estimar parámetros cinéticos. En este estudio, dicho enfoque fue adaptado al descenso del pH del kéfir de leche, considerando la velocidad máxima de acidificación y el comportamiento asintótico como elementos centrales del modelamiento primario.

Gil et al. (2011), en el estudio "On the Use of the Gompertz Model to Predict Microbial Thermal Inactivation Under Isothermal and Non-Isothermal Conditions", revisaron la aplicación del modelo de Gompertz para describir respuestas microbianas bajo condiciones isotérmicas y no isotérmicas, destacando su utilidad cuando la cinética presenta un comportamiento sigmoidal con fases diferenciadas. El estudio analizó distintas formas reparametrizadas del modelo, con el propósito de obtener parámetros con mayor

interpretación microbiológica, como el periodo de hombro o adaptación, la velocidad máxima de inactivación y la población residual. Como caso de estudio, emplearon datos de inactivación térmica de *Listeria innocua* en caldo a temperaturas de 52.5, 55.0, 57.5, 60.0, 62.5 y 65.0°C, ajustando tres modificaciones del modelo de Gompertz mediante regresión no lineal. Los resultados mostraron que las formas modificadas del modelo permitieron describir adecuadamente la inactivación microbiana, con valores de R^2 ajustado entre 0.944 y 0.992; además, los autores señalaron que los parámetros estimados bajo condiciones isotérmicas no deben extrapolarse directamente a procesos con temperatura variable, ya que la historia térmica puede modificar la capacidad predictiva del modelo. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación porque respalda el uso de Gompertz como modelo base para describir respuestas fermentativas dependientes del tiempo y refuerza la necesidad de validar el modelo cuando la temperatura cambia. En este estudio, dicho criterio fue aplicado al descenso del pH en kéfir de leche, integrando el modelo de Gompertz con la ecuación de Arrhenius y evaluándolo bajo un perfil térmico escalonado controlado.

Soukoulis et al. (2007), en el estudio "Industrial Yogurt Manufacture: Monitoring of Fermentation Process and Improvement of Final Product Quality", evaluaron el monitoreo del proceso de fermentación industrial de yogur mediante el seguimiento continuo del pH, con el objetivo de controlar el tiempo de incubación y mejorar la calidad final del producto. En su metodología trabajaron con yogur tipo set elaborado a partir de leche entera y descremada, inoculada con un cultivo mixto de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* en proporción 1:1, con 2.5% de inóculo e incubación a 45°C hasta alcanzar un pH final de 4.4. Además, evaluaron dos tratamientos térmicos de la leche, 80°C por 30 min y 95°C por 10 min, junto con fortificantes proteicos al 2.0 % e hidrocoloides al 0.01 %. Los autores aplicaron el modelo de Gompertz modificado para describir el descenso del pH y el desarrollo de viscosidad durante la fermentación. Como resultados, observaron que la acidificación presentó tres fases: una etapa inicial lenta, una etapa de rápida caída del pH y una fase final de desaceleración; además, el desarrollo de viscosidad fue descrito adecuadamente por Gompertz, con R^2 de 0.978 para yogur de leche entera y 0.938 para yogur de leche descremada. También señalaron que el control en línea del pH permite definir el punto final de fermentación, reducir costos y evitar deterioro de calidad por sobrefermentación. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación porque demuestra que el pH puede emplearse como variable de control y modelamiento en fermentaciones lácteas. Aunque el estudio se desarrolló en yogur y no en kéfir, su enfoque

metodológico respalda el uso del pH y del modelo de Gompertz modificado para describir procesos de acidificación; en la presente investigación, esta lógica fue aplicada al kéfir de leche bajo un perfil térmico escalonado controlado.

Zajšek y Goršek (2010), en el estudio "Mathematical modelling of ethanol production by mixed kefir grains yeast population as a function of temperature variations", desarrollaron un modelo matemático para describir el efecto de la temperatura y el tiempo de fermentación sobre la producción de etanol por una población mixta de levaduras presentes en granos de kéfir, empleando leche entera de vaca como medio de fermentación. En su metodología, realizaron fermentaciones batch en un reactor de 2 L, utilizando 1 L de leche pasteurizada e inoculando 42 g/L de granos de kéfir. Las corridas se efectuaron a temperaturas controladas de 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 y 31°C durante 24 horas, con agitación periódica de 1 minuto cada hora a 60 min^{-1}, monitoreo dinámico del pH y medición continua de etanol mediante espectroscopía ATR-FTIR. Para el modelamiento, aplicaron el modelo de Gompertz modificado al comportamiento de producción de etanol y posteriormente relacionaron la velocidad máxima de producción con la temperatura mediante la ecuación de Arrhenius. Los resultados mostraron que la biomasa de granos aumentó linealmente con la temperatura entre 15 y 31°C, con $R^2 = 0.955$, mientras que el modelo de Gompertz describió adecuadamente la producción de etanol con R^2 cercano a 0.990.

Asimismo, estos autores al evaluar temperaturas de 15, 20, 25 y 30°C, la velocidad máxima de producción de etanol aumentó de 0.163 ± 0.008 a 0.582 ± 0.022 g/L.h, mientras que la fase de latencia disminuyó de 19.778 ± 2.069 a 5.918 ± 0.429 h. También observaron que el pH disminuyó más rápidamente a mayor temperatura, pasando de 6.65 a 3.82 a 31°C, frente a una caída de 6.69 a 5.24 a 15°C durante 24 horas. Finalmente, estimaron una energía de activación aparente de 64.3 kJ/mol para la producción de etanol, con $R^2 = 0.946$ en el ajuste de Arrhenius. Este antecedente aporta sustento directo a la presente investigación porque demuestra que la temperatura modifica la cinética de fermentación de los granos de kéfir y que el acoplamiento Gompertz-Arrhenius permite cuantificar dicha dependencia térmica. A diferencia de dicho estudio, centrado en la producción de etanol, la presente investigación aplicó este enfoque al descenso del pH del kéfir de leche bajo un perfil térmico escalonado controlado, incorporando además una corrección residual mediante perceptrón multicapa para mejorar la capacidad predictiva del modelo.

Dey et al. (2020), en el estudio "Dependence of Bacterial Growth Rate on Dynamic Temperature Changes", analizaron la dependencia de la velocidad de crecimiento bacteriano frente a cambios dinámicos de temperatura, con el objetivo de evaluar si los modelos ajustados bajo temperaturas constantes podían predecir adecuadamente el comportamiento microbiano cuando la temperatura cambia durante el proceso. En su metodología, trabajaron con *Escherichia coli* MG1655 cultivada en medio LB, realizando mediciones de densidad óptica a 600 nm cada 5 minutos durante 8 horas, en un rango de 29 a 37°C. Primero ajustaron curvas de crecimiento a temperaturas constantes mediante distintos modelos, entre ellos Verhulst-Pearl, Richards, Gompertz, logístico generalizado y Monod; posteriormente evaluaron la capacidad predictiva de estos modelos frente a cambios escalonados de temperatura, como 29–33°C, 33–37°C, 30–37°C y un perfil escalonado 29–31–33–35°C. Los resultados mostraron que todos los modelos presentaron buen ajuste bajo condiciones constantes, con R^2 mayores a 0.95, aunque el modelo logístico generalizado obtuvo los menores errores. En condiciones dinámicas, también se obtuvieron valores de R^2 altos, generalmente superiores a 0.95, salvo algunos casos del modelo de Monod; además, se observó que el aumento de temperatura incrementó la velocidad máxima específica de crecimiento, pero redujo la duración de dicha fase máxima. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación porque evidencia que la temperatura no solo modifica la velocidad del proceso, sino también la trayectoria temporal de la respuesta biológica. En este estudio, dicho criterio fue adaptado al kéfir de leche, donde el descenso del pH fue modelado bajo condiciones isotérmicas y posteriormente validado frente a un perfil térmico escalonado controlado, integrando la dependencia térmica mediante Gompertz-Arrhenius y una corrección residual con MLP.

Dabadé et al. (2022), en el estudio "Modeling the growth of H_2S-producing bacteria in tropical brackish water shrimp under fluctuating temperature regimes", desarrollaron un modelo matemático para predecir el crecimiento de bacterias productoras de sulfuro de hidrógeno en camarón tropical de agua salobre, con el objetivo de mejorar la gestión de calidad y vida útil del producto bajo condiciones de almacenamiento dependientes de la temperatura. En su metodología, almacenaron muestras de camarón (*Penaeus notialis*) a 0, 4, 7, 15 y 28°C, realizando recuentos microbiológicos en agar hierro suplementado con L-cisteína. Para el ajuste cinético compararon dos modelos primarios, Baranyi y Gompertz reparametrizado, y dos modelos secundarios, Ratkowsky y Arrhenius, seleccionando los de menor RMSE. Los resultados mostraron que la concentración inicial de bacterias H_2S fue de

3.6 ± 0.1 log UFC/g y que la temperatura afectó significativamente la velocidad de crecimiento. El modelo de Gompertz reparametrizado presentó errores ligeramente menores que Baranyi en la mayoría de las temperaturas, mientras que Arrhenius describió mejor la dependencia térmica de la velocidad específica, con una energía de activación aparente de 87.8 kJ/mol. Además, validaron el modelo bajo un perfil fluctuante 28/10/5°C, simulando condiciones reales de cadena de suministro, obteniendo factores de sesgo entre 0.87 y 1.06 y factores de exactitud entre 1.09 y 1.14. Este antecedente aporta sustento metodológico porque muestra que un modelo cinético ajustado en condiciones isotérmicas puede acoplarse con una relación térmica y validarse bajo un perfil no isotérmico. Aunque el sistema estudiado no corresponde a una fermentación láctea, la lógica de integrar un modelo primario con un modelo secundario de temperatura fue aplicada en la presente investigación mediante Gompertz-Arrhenius para describir el descenso del pH en kéfir de leche.

Dougherty et al. (2002), en el estudio "Energy-Based Dynamic Model for Variable Temperature Batch Fermentation by *Lactococcus lactis*", desarrollaron un modelo matemático mecanístico para predecir la evolución de una fermentación batch de jugo de pepino inoculado con *Lactococcus lactis* bajo condiciones ambientales variables, con el objetivo de superar las limitaciones de los modelos empíricos que asumen condiciones constantes durante el crecimiento microbiano. En su metodología, realizaron fermentaciones a temperaturas fijas de 10, 20 y 30°C para estimar parámetros del modelo, considerando variables como densidad celular, glucosa, ácido málico, ácido láctico, pH y temperatura. El modelo se formuló mediante un enfoque de balance dinámico de energía celular, integrando consumo de sustrato, acumulación de productos, adaptación térmica, crecimiento y muerte celular. Para la validación, evaluaron tres escenarios dinámicos, entre ellos un cambio de temperatura de 30 a 10°C después de 3.75 horas, realizado en aproximadamente 15 minutos, y compararon las predicciones del modelo con los datos experimentales. Los resultados mostraron que el modelo pudo representar cualitativamente las fases de fermentación, incluyendo latencia, crecimiento, fase estacionaria y muerte, además de predecir el efecto del cambio térmico sobre la respuesta del cultivo. Los autores destacaron que la adaptación a bajas temperaturas generó una fase de latencia y que, a 30°C, el crecimiento estuvo más limitado por la acumulación de productos ácidos. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación porque demuestra la necesidad de usar modelos dinámicos cuando la fermentación se desarrolla bajo cambios de temperatura. En este estudio, dicho enfoque fue adaptado al kéfir de leche mediante el acoplamiento Gompertz-Arrhenius, orientado a

predecir el descenso del pH bajo un perfil térmico escalonado controlado y complementado posteriormente con una corrección residual mediante MLP.

Ritonja et al. (2021), en el estudio “Dynamic Modeling of the Impact of Temperature Changes on CO_2 Production during Milk Fermentation in Batch Bioreactors”, desarrollaron un modelo matemático dinámico para describir el efecto de los cambios de temperatura sobre la producción de CO_2 durante la fermentación de leche con granos de kéfir en un biorreactor batch. El objetivo principal fue superar la limitación de los modelos autónomos tradicionales, los cuales describen la fermentación solo a partir de condiciones iniciales y no permiten evaluar cómo una variación térmica modifica la dinámica del proceso. En su metodología, utilizaron 500 mL de leche entera pasteurizada inoculada con 40 g de granos de kéfir previamente activados durante cinco días; el sistema experimental incluyó un biorreactor RC1e con control de calentamiento/enfriamiento, medición de CO_2 disuelto mediante electrodo selectivo ISE51B, adquisición de datos en LabX direct pH 2.3 y procesamiento posterior en MATLAB. Primero evaluaron fermentaciones a temperaturas constantes de 17, 22 y 27°C, observando que a mayor temperatura se obtuvo una respuesta fermentativa más rápida y una mayor concentración final de CO_2. Luego analizaron escenarios no autónomos, incluyendo un cambio escalonado de 22 a 27°C, verificando que el aumento de temperatura aceleró la fermentación, mientras que la disminución térmica la desaceleró. A partir de estos resultados, propusieron un modelo dinámico no lineal donde la temperatura afecta parámetros cinéticos como la velocidad máxima de crecimiento microbiano y la inhibición por producto, cuyos valores fueron identificados mediante optimización por enjambre de partículas. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación porque demuestra que la temperatura puede incorporarse como una variable activa dentro del modelamiento dinámico de fermentaciones lácteas con granos de kéfir. A diferencia de dicho estudio, centrado en CO_2 como variable observable, la presente investigación aplicó este enfoque al descenso del pH del kéfir de leche, integrando Gompertz-Arrhenius y una corrección residual mediante MLP bajo un perfil térmico escalonado controlado.

Tarlak et al. (2020), en el estudio “Predictive Modelling for the Growth Kinetics of *Pseudomonas* spp. on Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) under Isothermal and Non-Isothermal Conditions”, desarrollaron un modelo predictivo para describir el crecimiento de *Pseudomonas* spp. en champiñón bajo condiciones isotérmicas y no isotérmicas, con el objetivo de representar el comportamiento microbiano en situaciones similares a las que

ocurren durante almacenamiento, distribución y comercialización. En su metodología, trabajaron con champiñones enteros almacenados a 4, 12, 20 y 28°C, con 95 % de humedad relativa, realizando recuentos microbiológicos de *Pseudomonas* spp. en medio King's B. Para el ajuste primario emplearon el modelo de Baranyi, y luego relacionaron la velocidad máxima específica de crecimiento con la temperatura mediante los modelos secundarios de Ratkowsky y Arrhenius. Los resultados mostraron que el modelo de Baranyi describió adecuadamente las curvas de crecimiento, con RMSE menores a 0.193 y R^2 ajustados superiores a 0.975 en todas las temperaturas. Además, la velocidad máxima aumentó de 0.043 a 0.202 h^{-1} al pasar de 4 a 28°C, mientras que la fase de latencia disminuyó de 44.1 a 20.0 h, confirmando el efecto acelerador de la temperatura sobre la cinética microbiana. Para la etapa secundaria, el modelo de Ratkowsky presentó mejor ajuste que Arrhenius, con RMSE de 7.83×10^{-5} y R^2 ajustado de 0.993, frente a RMSE de 8.40×10^{-3} y R^2 ajustado de 0.984 para Arrhenius. Finalmente, integraron la forma diferencial del modelo de Baranyi con el modelo de Ratkowsky y resolvieron el sistema mediante Runge-Kutta de cuarto orden en MATLAB, validándolo bajo un perfil dinámico de 24 h a 4°C y 12 h a 10°C; los factores de sesgo y exactitud fueron 0.998 y 1.016, respectivamente, con una desviación media absoluta de 0.126 log UFC/g. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación porque demuestra que un modelo cinético ajustado en condiciones isotérmicas puede integrarse con una relación térmica y resolverse numéricamente para predecir respuestas bajo temperatura variable. En este estudio, dicha lógica fue adaptada al kéfir de leche, utilizando Gompertz-Arrhenius para representar el descenso del pH bajo un perfil térmico escalonado controlado y complementando el modelo con una corrección residual mediante MLP.

Liu et al. (2014), en el estudio "Fermentation Process Modeling with Levenberg-Marquardt Algorithm and Runge-Kutta Method on Ethanol Production by *Saccharomyces cerevisiae*", desarrollaron un modelo cinético no estructurado para describir la fermentación de vino de arroz chino mediante *Saccharomyces cerevisiae*, con el objetivo de representar el proceso de sacarificación y fermentación simultánea, así como analizar el efecto de la temperatura sobre la producción de etanol, biomasa y azúcares reductores. En su metodología, trabajaron con arroz glutinoso, *Chinese wheat qu* y agua en una relación 10:2:30, evaluando fermentaciones en matraces de 1000 mL con 600 mL de volumen de trabajo a 22, 26 y 30°C durante 96 horas, sin control de pH. El modelo consideró cuatro variables principales: almidón, azúcar reductor, biomasa y etanol, incorporando efectos de

inhibición por sustrato y producto. Para la identificación de los 12 parámetros cinéticos utilizaron el algoritmo de Levenberg-Marquardt, mientras que la solución numérica del sistema diferencial se realizó mediante Runge-Kutta de cuarto orden en MATLAB. Los resultados mostraron que la temperatura influyó directamente en la cinética del proceso: la biomasa máxima se obtuvo a 26°C, la producción de etanol alcanzó su mayor valor a 22°C después de 50 horas y el pH descendió más rápidamente a 26 y 30°C, asociado a una mayor formación de ácidos orgánicos. Además, el modelo presentó buen ajuste, con valores de R^2 de 0.95 a 0.97 para azúcares reductores, 0.98 a 0.99 para biomasa y 0.99 para etanol en las tres temperaturas evaluadas. Este antecedente se consideró por su aporte al uso de métodos numéricos en fermentaciones, ya que muestra que sistemas diferenciales con parámetros dependientes de las condiciones de operación pueden resolverse mediante Runge-Kutta de cuarto orden. En la presente investigación, este criterio fue adaptado al descenso del pH en kéfir de leche, integrando Gompertz-Arrhenius y resolviendo la ecuación diferencial para estimar la trayectoria teórica del pH.

Dolan et al. (2013), en el estudio "Parameter Estimation for Dynamic Microbial Inactivation: Which Model, Which Precision?", evaluaron la estimación de parámetros cinéticos en modelos microbianos dinámicos bajo condiciones no isotérmicas, con el objetivo de determinar qué estructura matemática permitía describir con mayor precisión la inactivación térmica de *Escherichia coli* K12. En su metodología, utilizaron datos experimentales de muestras líquidas de 100 µL con una concentración inicial aproximada de 10^9 UFC/mL, sometidas a tres velocidades de calentamiento: rápida, intermedia y lenta, equivalentes a 1.64, 0.43 y 0.15°C/min, respectivamente, en un rango de 49.5 a 60°C. Para el análisis compararon cinco modelos diferenciales: primer orden, Weibull, Geeraerd reducido, Geeraerd con término de adaptación al estrés y Geeraerd con término de historia subletal, todos integrados con un modelo secundario tipo Bigelow. Los parámetros fueron estimados mediante regresión no lineal por mínimos cuadrados ordinarios en MATLAB, resolviendo las ecuaciones diferenciales con ode45, y el desempeño se evaluó mediante AICc, RMSE, distribución de residuos, errores relativos, correlación paramétrica y coeficientes de sensibilidad escalados. Los resultados mostraron que el modelo de primer orden presentó un RMSE de 0.435 $\log_{10}$ UFC/mL, más del doble que el modelo Geeraerd con término subletal, cuyo RMSE fue 0.197 $\log_{10}$ UFC/mL y que obtuvo el mejor desempeño global según AICc. Además, los autores evidenciaron que los parámetros variaron según la velocidad de calentamiento y que, mediante estimación secuencial, los parámetros

alcanzaron estabilidad después de aproximadamente 2.5 reducciones logarítmicas. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación porque demuestra que los modelos deben validarse bajo condiciones dinámicas y no solo a partir de parámetros obtenidos en escenarios constantes. En este estudio, dicho criterio fue aplicado al descenso del pH en kéfir de leche mediante una validación externa ciega bajo perfil térmico escalonado controlado, evaluando el desempeño del modelo Gompertz-Arrhenius y del modelo híbrido con corrección residual mediante MLP.

Moya Almeida et al. (2021), en el estudio "Artificial Neural Networks and Gompertz Functions for Modelling and Prediction of Solvents Produced by the *S. cerevisiae* Safale S04 Yeast", desarrollaron un modelo matemático-computacional para predecir la concentración de cuatro compuestos solventes producidos durante la fermentación de cerveza por la levadura *Saccharomyces cerevisiae* Safale S04, empleando funciones de Gompertz y redes neuronales artificiales. El objetivo del estudio fue estimar la concentración de n-propanol, acetato de etilo, alcohol amílico e isobutanol, considerando la temperatura y el tiempo como variables de entrada del sistema. En su metodología, realizaron cinco fermentaciones de 10 días en mosto de cerveza, bajo temperaturas objetivo de 15.0, 16.5, 18.0, 19.0 y 21.0°C, tomando muestras cada 24 horas y analizando los compuestos mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama. Primero ajustaron los datos experimentales mediante funciones de Gompertz, estimando parámetros como la asíntota, la velocidad máxima de formación y el tiempo de latencia; luego, utilizaron los datos simulados por estas funciones para generar una base ampliada de 140 625 valores y entrenar redes neuronales artificiales en MATLAB. Las redes emplearon temperatura y tiempo como entradas, y como salida la concentración de cada compuesto; el entrenamiento se realizó mediante regularización bayesiana, con diez neuronas ocultas para n-propanol, acetato de etilo y alcohol amílico, y cinco neuronas para isobutanol. Los resultados mostraron que las funciones de Gompertz ajustaron adecuadamente los datos experimentales, con valores de R^2 generalmente superiores a 0.95, mientras que las redes neuronales entrenadas con datos generados por Gompertz alcanzaron valores de R^2 entre 0.939 y 0.9962. Además, los autores reportaron errores bajos, como un RMSE aproximado de 0.13 mg/L para acetato de etilo y 0.57 mg/L para isobutanol en los modelos neuronales. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación porque demuestra que las funciones de Gompertz pueden servir como base cinética para generar información estructurada y entrenar redes neuronales en procesos fermentativos dependientes de temperatura. En este estudio, dicha lógica fue adaptada al

kéfir de leche, utilizando el modelo Gompertz-Arrhenius como base matemática para describir el descenso del pH y un perceptrón multicapa como esquema de corrección residual bajo un perfil térmico escalonado controlado.

Setoodeh et al. (2012), en el estudio "Hybrid neural modeling framework for simulation and optimization of diauxie-involved fed-batch fermentative succinate production", desarrollaron un marco de modelamiento híbrido neuronal para simular y optimizar la producción fermentativa de succinato en un proceso fed-batch con presencia de diauxia. El objetivo fue representar un bioproceso dinámico complejo mediante la combinación de análisis dinámico de balance de flujos metabólicos, cinética de transporte tipo Michaelis-Menten, balances diferenciales de masa y redes neuronales tipo perceptrón multicapa. En su metodología, trabajaron de forma teórica con una cepa mutante de *Escherichia coli* K-12 denominada AB3, diseñada para favorecer la producción de succinato mediante la eliminación de los genes *pfl*, *adhE* y *ldhA*. Primero construyeron un modelo dinámico basado en balance de flujos para cultivos batch aeróbicos y anaeróbicos; luego, reemplazaron la parte intracelular estacionaria del modelo por una red MLP entrenada con datos generados por análisis de balance de flujos. Para la cepa silvestre, la red empleó tres entradas, doce neuronas ocultas y dos salidas, alcanzando valores de $R^2 = 0.999$; además, el modelo híbrido redujo el tiempo computacional promedio de 6.680 a 1.243 s frente al modelo mecanístico completo. Posteriormente, para la cepa mutante AB3, desarrollaron una nueva MLP con tres entradas, diez neuronas ocultas y tres salidas, también con $R^2 = 0.999$, integrándola a un procedimiento de optimización dinámica mediante evolución diferencial. Los resultados permitieron definir una estrategia óptima con cambio de fase aeróbica a anaeróbica a las 14.085 h, tiempo final de 17.66 h, producción total de succinato de 211.155 mmol y rendimiento de 1.255 mmol de succinato/mmol de glucosa, valor cercano al rendimiento teórico máximo estimado por balance de flujos. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación porque demuestra que una red MLP puede integrarse dentro de un modelo dinámico de fermentación para representar relaciones complejas y mejorar la simulación computacional del bioproceso. A diferencia de dicho estudio, centrado en una fermentación fed-batch teórica para producción de succinato, la presente investigación aplicó el enfoque híbrido al kéfir de leche, utilizando Gompertz-Arrhenius como base cinética del descenso del pH y un perceptrón multicapa como corrector residual bajo un perfil térmico escalonado controlado.

Bock et al. (2021), en el estudio “Hybrid Modelling by Machine Learning Corrections of Analytical Model Predictions towards High-Fidelity Simulation Solutions”, desarrollaron un enfoque de modelamiento híbrido basado en la corrección de las predicciones de un modelo analítico mediante aprendizaje automático, con el objetivo de mejorar la precisión sin perder la eficiencia computacional ni la interpretación física del modelo base. En su metodología, emplearon un modelo semi-analítico de baja fidelidad para predecir tensiones residuales generadas por *laser shock peening* y lo compararon con soluciones de alta fidelidad obtenidas mediante simulaciones por elementos finitos. Posteriormente, entrenaron una red neuronal artificial para aprender el factor de corrección entre la predicción semi-analítica y la solución de referencia, utilizando como entradas variables normalizadas del modelo físico y características relevantes obtenidas mediante análisis dimensional. Los resultados mostraron que el primer enfoque, basado solo en tensiones semi-analíticas como entrada, alcanzó un R^2 de 81.88% y un MSE de 607.42 MPa^2 en el conjunto de prueba para las tensiones residuales; sin embargo, al incorporar características físicas adicionales, el modelo híbrido mejoró hasta un R^2 de 99.15% y un MSE de 28.63 MPa^2. Además, al comparar el modelo híbrido con una red puramente basada en datos en un espacio de extrapolación, el modelo híbrido mantuvo un R^2 de 99.39% y un MSE de 30.17 MPa^2, mientras que el modelo puramente neuronal cayó a un R^2 de 65.00% y un MSE de 1717.18 MPa^2. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación porque demuestra que una red neuronal puede emplearse como corrector residual de un modelo matemático base, especialmente cuando se busca mejorar la capacidad predictiva con datos limitados sin abandonar la estructura interpretativa del modelo principal. Aunque el estudio pertenece al campo de materiales, su lógica metodológica fue adaptada en la presente investigación al kéfir de leche, donde el modelo Gompertz-Arrhenius describió la cinética principal del descenso del pH y el perceptrón multicapa se incorporó como corrector residual bajo un perfil térmico escalonado controlado.

2.1.2. Antecedentes nacionales

Rodas Huamán (2019), en la tesis “Efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en la elaboración de una bebida funcional”, evaluó el efecto combinado del porcentaje de gránulos de kéfir y la temperatura de incubación sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de una bebida funcional. En su metodología, trabajó con tres niveles de gránulos de kéfir, 5, 10 y 15%, y tres temperaturas de incubación, 20, 25 y 30°C, aplicando un diseño factorial 3^2 con análisis de varianza y

prueba de Tukey. La elaboración incluyó recepción y filtrado de la leche, pasteurización a 85°C durante 30 minutos, enfriamiento a la temperatura correspondiente, inoculación con los gránulos, incubación durante 6 horas, separación de nódulos, batido, envasado y almacenamiento a 4°C durante 4 días antes de los análisis. Las variables evaluadas fueron porcentaje de alcohol, pH, composición proximal, recuento de coliformes totales, hongos, levaduras y aceptabilidad sensorial. Los resultados mostraron que el pH disminuyó conforme aumentaron la temperatura y el porcentaje de gránulos, obteniéndose el mayor pH en el tratamiento T1 con 6.03 y el menor en T9 con 4.15; asimismo, se observó ausencia de coliformes totales y hongos, mientras que el recuento de levaduras varió entre 6959.52 y 14768.82 UFC/mL. La autora concluyó que el porcentaje de gránulos y la temperatura de incubación tuvieron efecto significativo sobre las características evaluadas, con valor-p menor a 0.05. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación porque demuestra, en un contexto nacional, que la temperatura y el inóculo influyen en la acidificación del kéfir de leche. A diferencia de dicho estudio, orientado a caracterizar una bebida funcional y determinar condiciones de elaboración, la presente investigación mantuvo constante el inóculo y utilizó el pH como variable principal para desarrollar un modelo predictivo Gompertz-Arrhenius con corrección residual mediante MLP bajo un perfil térmico escalonado controlado.

Malma Ruiz (2020), en la tesis “Proceso homofermentativo de kéfir con bacterias probióticas típicas para prolongar su tiempo de vida útil”, propuso un proceso homofermentativo para obtener kéfir mediante cultivos probióticos típicos, con el objetivo de determinar su tiempo de vida útil y definir parámetros de control del proceso. En su planteamiento, señaló que el kéfir elaborado con cultivos naturales presenta una microbiota compleja y variable, conformada por bacterias lácticas homofermentativas, heterofermentativas y levaduras, lo que dificulta su control, estandarización e industrialización. En su metodología, el proceso se dividió en etapas de activación, incubación y almacenamiento, evaluando variables fisicoquímicas como viscosidad, porcentaje de acidez y pH, además de variables microbiológicas expresadas como células viables en UFC/mL. Para la etapa de almacenamiento acelerado, trabajó durante 48 horas a tres temperaturas, 4, 20 y 30°C, y aplicó el modelo de Baranyi-Roberts junto con el método clásico para calcular la velocidad de crecimiento microbiano y estimar la vida útil mediante la ecuación de Labuza y Riboh. Los resultados indicaron que el tiempo óptimo de incubación fue de 10 horas; el producto alcanzó una viscosidad de 852 cP, 0.68 % de acidez, pH de 4.93

y una concentración mínima de 1×10^7 UFC/mL. Asimismo, estimó una vida útil de 30 días mediante el método de estabilidad y el modelo Baranyi-Roberts, mientras que el método clásico proyectó aproximadamente 45 días. Este antecedente aporta sustento a la presente investigación porque evidencia, en el contexto nacional, la importancia de controlar parámetros fisicoquímicos y microbiológicos del kéfir y de aplicar modelos matemáticos para describir su comportamiento. A diferencia de dicho estudio, orientado a cultivos iniciadores y vida útil, la presente investigación trabajó con granos de kéfir, mantuvo constante el inóculo y centró el modelamiento en el descenso del pH bajo un perfil térmico escalonado controlado, integrando Gompertz-Arrhenius y corrección residual mediante MLP.

Solano-Cornejo y Vidaurre-Ruiz (2017), en el estudio "Aplicación de modelos cinéticos no estructurados en el modelamiento de la fermentación láctica de subproductos de pesca", evaluaron la capacidad de cinco modelos cinéticos no estructurados para predecir la producción de ácido láctico durante la fermentación de subproductos pesqueros. El objetivo fue comparar el desempeño de los modelos de Gompertz, Baranyi-Roberts, Özilgen, Peleg y Vasquez-Murado en la descripción de una fermentación láctica desarrollada sobre una matriz compleja. En su metodología, emplearon vísceras de caballa pasteurizadas, melaza y un cultivo iniciador compuesto por *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*; las muestras fueron ajustadas a pH inicial de 5.0 y 5.5, e incubadas a 20, 30 y 40°C, obteniéndose un total de 18 curvas de evolución de acidez titulable expresada como porcentaje de ácido láctico. Los parámetros de los modelos fueron estimados mediante regresión no lineal en Statistica 7, utilizando un algoritmo Quasi-Newton y minimizando la suma de cuadrados del error. Para comparar los modelos, aplicaron la SCE, la prueba de Fisher y los índices de sesgo y precisión de Ross. Los resultados mostraron que la temperatura incrementó la velocidad de producción de ácido láctico y que los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts presentaron los menores errores de ajuste; por ejemplo, para Gompertz se reportaron SCE de 0.0542, 0.0452 y 0.0481 a pH 5.0 y temperaturas de 20, 30 y 40°C, respectivamente. Asimismo, Gompertz obtuvo un índice de sesgo de 1.0586 y un índice de precisión de 1.0586, mientras que Baranyi-Roberts presentó valores cercanos a 1.009, evidenciando predicciones próximas a los datos experimentales. Los autores concluyeron que Gompertz destacó por su capacidad para modelar curvas simétricas y asimétricas, mientras que Baranyi-Roberts mostró flexibilidad frente a condiciones cambiantes del proceso. Este antecedente aporta sustento a la presente

investigación porque demuestra que el modelo de Gompertz puede aplicarse al análisis cinético de fermentaciones lácticas en matrices complejas. A diferencia de dicho estudio, centrado en la producción de ácido láctico en subproductos pesqueros, la presente investigación aplicó el enfoque cinético al descenso del pH en kéfir de leche, integrando además la dependencia térmica mediante Arrhenius y una corrección residual con MLP bajo un perfil térmico escalonado controlado.

2.2. Bases teóricas

Aquí se abordará, en primer lugar, los fundamentos teóricos que sostiene este trabajo de investigación.

2.2.1. El kéfir de leche

El kéfir de leche es una bebida fermentada obtenida a partir de la leche mediante la acción de granos de kéfir, los cuales contienen una asociación de bacterias ácido-lácticas, bacterias acéticas y levaduras.

2.2.2. Fermentación láctica

La fermentación láctica es un proceso en el cual los microorganismos transforman los carbohidratos presentes en la leche, principalmente la lactosa, para obtener energía y formar ácido láctico como producto principal. En el kéfir de leche, esta transformación depende del tipo de cultivo utilizado y puede estar acompañada por la formación de otros compuestos debido a la presencia conjunta de bacterias ácido-lácticas, bacterias acéticas y levaduras.

Antes del inicio de las rutas fermentativas principales, la lactosa se transforma en glucosa y galactosa, esto es por la acción de enzimas producidas por las bacterias acido lácticas mediante hidrólisis.

a) Fermentación homoláctica

En la fermentación homoláctica, el ácido láctico es el producto principal de la transformación de los azúcares simples. Esta ruta es realizada por bacterias ácido-lácticas como Lactococcus y Streptococcus. De forma simplificada, una molécula de glucosa se convierte en dos moléculas de ácido láctico

Considerando la lactosa como sustrato inicial de la leche, la reacción global simplificada puede expresarse como:

$1C_{12}H_{22}O_{11}$ (lactosa) + $1H_2O$ → 4 $CH_3CHOHCOOH$ (ácido láctico) (1)

Esta ruta explica la principal causa del descenso del pH durante la fermentación, ya que la acumulación de ácido láctico incrementa la acidez del medio.

b) Fermentación heteroláctica

En la fermentación heteroláctica, además de ácido láctico, se forman otros productos como etanol y dióxido de carbono; también puede generarse ácido acético dependiendo de las condiciones del medio. En presencia de oxígeno, parte del etanol producido puede oxidarse a ácido acético por acción de bacterias acéticas. Esta ruta puede presentarse por la actividad de bacterias heterofermentativas presentes en los granos de kéfir, mientras que las levaduras contribuyen principalmente a la formación de etanol y dióxido de carbono. De forma simplificada, a partir de una molécula de glucosa se obtiene una molécula de ácido láctico, una molécula de etanol y una molécula de dióxido de carbono.

Si se expresa de manera global desde la lactosa de la leche, considerando su hidrólisis previa, la conversión simplificada puede representarse como:

$1C_{12}H_{22}O_{11}$ (lactosa) + $1H_2O$ → $2CH_3CHOHCOOH$ (ácido láctico) + $2C_2H_5OH$ (etanol) + $2CO_2$ (2)

Esta ruta explica por qué el kéfir de leche no solo presenta acidificación, sino también posible formación de gas y compuestos asociados al aroma característico del producto fermentado.

2.2.3. Modelo de Gompertz aplicado al descenso de pH

Para describir el descenso del pH durante la fermentación, se utilizan modelos cinéticos no lineales capaces de representar una etapa inicial de adaptación, una zona de mayor velocidad de fermentación y una fase final de estabilización. Dentro de estos modelos, la ecuación de Gompertz modificada, parametrizada por Zwietering et al. (1990), permite estimar parámetros asociados a la velocidad máxima y al tiempo de latencia del proceso.

$$y = A\exp\left[-\exp\left(\frac{V_{max}e}{A}(\lambda - t) + 1\right)\right] \quad (3)$$

Donde:

y: Variable medida (logaritmo de la población microbiana, o acidez/pH en un tiempo).

A: Valor máximo alcanzado (asíntota o potencial máximo de crecimiento/acidez) en la fase estacionaria

V_{max}*:* Velocidad máxima de crecimiento o de acidificación (pendiente máxima).

λ*:* Tiempo de fase lag o de latencia (período de adaptación antes del inicio de la fermentación acelerada).

t: Tiempo transcurrido.

e: Constante de Euler (2.7182).

Para el caso del descenso de pH, el modelo fue adaptado considerando que la variable disminuye desde un valor inicial pH_0 hasta un valor asintótico final pH_∞, tomando como referencia estudios como (Soukoulis et al., 2007):

$$pH(t) = pH_0 - (pH_0 - pH_\infty)exp\left\{-exp\left[\frac{V_m.e}{pH_0 - pH_\infty}(\lambda - t) + 1\right]\right\} \quad (4)$$

Donde:

pH(t): Valor del pH en el tiempo t.

pH_0*:* pH inicial de la leche al iniciar la fermentación.

$pH\infty$*:* pH asintótico final (el valor mínimo alcanzado a tiempo infinito).

V_m*:* Velocidad máxima de acidificación (valor absoluto de la pendiente máxima en la fase exponencial, dpH/dt).

λ*:* Tiempo de la fase de latencia (horas o minutos, según datos experimentales).

e: Constante de Euler (2.7182).

Adaptación de la ecuación (4) de Gompertz modificado a un arreglo diferencial del pH en función del tiempo, según autores como Van Impe et al. (1992) y Gil et al. (2011):

$$\frac{dpH}{dt} = -V_m exp\left\{\frac{V_m e}{pH_0 - pH_\infty}(\lambda - t) + 2 - exp\left[\frac{V_m e}{pH_0 - pH_\infty}(\lambda - t) + 1\right]\right\} \quad (5)$$

2.2.4. Modelo de Arrhenius y energía de activación aparente

La ecuación de Arrhenius (6) es una expresión matemática fundamental utilizada para describir la dependencia de la velocidad de una reacción química respecto a la temperatura.

$$V_m = Aexp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (6)$$

Donde

V_m: velocidad de la reacción

A: Factor pre exponencial o factor de frecuencia (h^{-1})

E_a: Energía de activación del sistema [J/mol]

R: Constante universal de los gases ideales [8.314J/mol.k]

T: Temperatura absoluta [k]

Para integrar Gompertz y Arrhenius en este estudio, se parte de que el bioproceso trabaja bajo temperaturas variables y los parámetros cinéticos ya no pueden tratarse como valores constantes. Los cambios térmicos modifican de inmediato tanto la fase de latencia (λ) como la velocidad de fermentación. Por lo tanto, el modelo matemático integra la ecuación de Arrhenius de forma directa sobre el parámetro V_m (la velocidad máxima de acidificación), al realizar esta integración se logra conectar la velocidad (V_m) con la temperatura del medio en tiempo real (T). Finalmente, través de la energía de activación aparente (E_a) del cultivo, esta integración es la que hace posible que el algoritmo actualice y recalcule la curva de caída del pH constantemente, adaptándose a cualquier cambio de temperatura en el ambiente (Zajšek & Goršek, 2010).

2.2.5. Integración numérica mediante Runge-Kutta de cuarto orden

El método Runge–Kutta de cuarto orden (RK4) es un procedimiento numérico utilizado para resolver ecuaciones diferenciales ordinarias mediante la estimación de la pendiente en cuatro puntos dentro de cada intervalo de integración; examine la ecuación (7):

$$y_{n+1} = y_n + \frac{h}{6}(k_1 + 2k_2 + 2k_3 + k_4) \quad (7)$$

Donde

y_{n+1}: Valor aproximado de la variable dependiente en el siguiente paso de tiempo.

h: Tamaño del paso de tiempo o incremento temporal [Δt]

k_1, k_2, k_3, k_4: Pendientes evaluadas en el inicio, puntos medios y final del intervalo, respectivamente.

2.2.6. Redes neuronales artificiales

Las RNA son modelos computacionales bio-inspirados capaces de aproximar funciones no lineales complejas sin necesidad de conocer la relación física explícita entre las variables. Cada neurona recibe entradas (x_i), las multiplica por pesos (w_i), suma un sesgo (b) y aplica una función de activación (f) para generar una salida (y), el modelo es el siguiente (8):

$$y = f(\sum_{i=1}^{n} w_i x_i + b) \tag{8}$$

Estructura del perceptrón multicapa

- ✓ Capa de Entrada: Recibe las variables independientes
- ✓ Capas Ocultas: Donde ocurre el procesamiento y la extracción de patrones mediante los pesos.
- ✓ Capa de Salida: Proporciona la predicción.

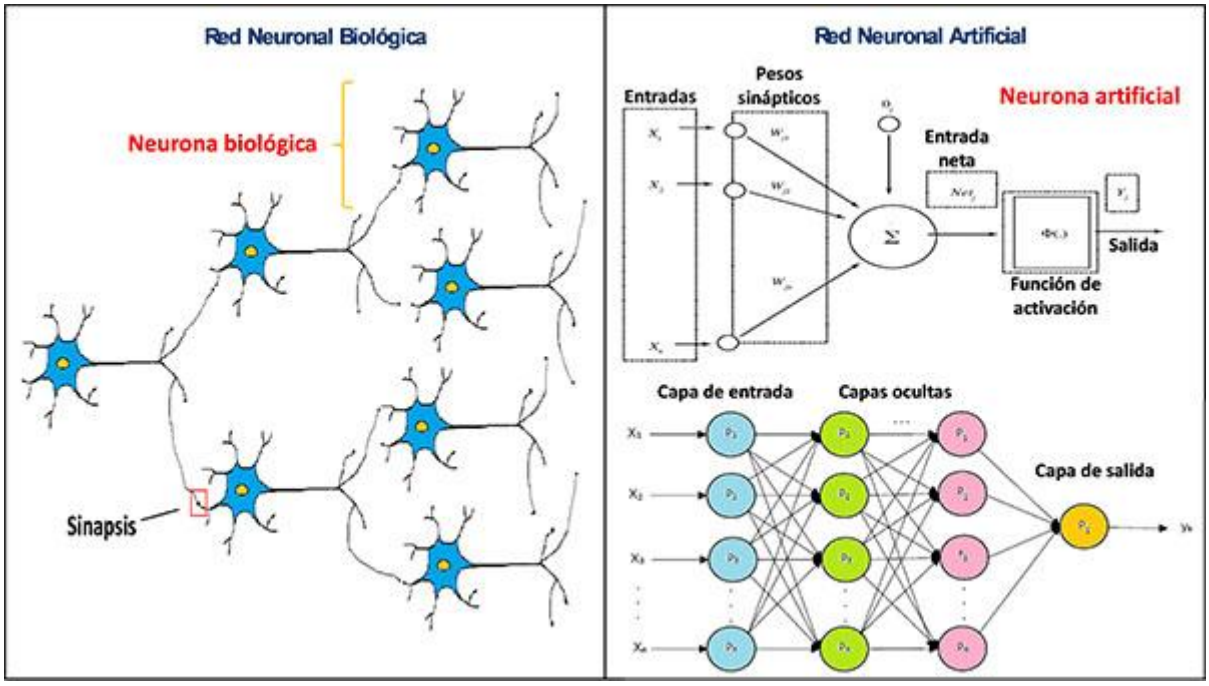

Figura 1. Representación de una red neuronal biológica y una artificial (Guzmán et al., 2022).

III. HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis general

La aplicación de herramientas metodológicas basadas en el modelo Gompertz-Arrhenius y en una red neuronal artificial de tipo perceptrón multicapa permitirá predecir el descenso del pH ante variaciones de temperatura dentro de un perfil térmico escalonado controlado entre 22.5 y 31.5°C, con métricas de validación de R^2 superiores a 0.80 y RMSE inferiores a 0.20.

3.2. Hipótesis específicas

- ✓ El ajuste del modelo de Gompertz mediante regresión no lineal permitirá describir el descenso del pH bajo condiciones isotérmicas de 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C, obteniendo parámetros cinéticos de acidificación con métricas de validación de R^2 superiores a 0.80.
- ✓ La integración del modelo diferencial Gompertz-Arrhenius permitirá describir el comportamiento del pH bajo un perfil térmico escalonado controlado entre 22.5 y 31.5°C, alcanzando métricas de validación con R^2 superior a 0.80 y RMSE inferior a 0.20.
- ✓ La implementación de una red neuronal artificial de tipo perceptrón multicapa como corrector residual permitirá mejorar la precisión del modelo matemático-computacional para describir el comportamiento del pH bajo un perfil térmico escalonado controlado entre 22.5 y 31.5°C, con métricas de validación de R^2 superior a 0.90 y RMSE inferior a 0.15.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Área de estudio

El desarrollo y la validación del presente estudio se realizó en un ambiente acondicionado en el distrito de Carabayllo, Lima. La ejecución experimental se llevó a cabo durante el periodo comprendido entre febrero y mayo de 2026.

4.2. Metodología

La metodología se clasificó de la siguiente manera:

- ✓ **Por el tipo de investigación:** aplicada-experimental

La investigación fue de tipo aplicada, ya que se orientó a atender una problemática asociada a la predicción del descenso del pH durante la fermentación de kéfir bajo condiciones térmicas controladas. Para ello, se implementaron modelos matemáticos y un modelo híbrido matemático-computacional con el propósito de describir y anticipar la cinética de acidificación en un sistema de elaboración a pequeña escala.

- ✓ **Por el nivel de la investigación:** explicativo

La investigación fue de nivel explicativo, debido a que evaluó el efecto de la temperatura sobre la cinética de acidificación del kéfir, a partir del seguimiento continuo del pH y del análisis de los parámetros cinéticos obtenidos en cada fermentación.

- ✓ **Por el diseño de la investigación:** enfoque cuantitativo

El diseño de la investigación fue experimental, unifactorial y longitudinal, con mediciones repetidas a lo largo del tiempo. Para ello, se trabajó con lotes de kéfir bajo condiciones de temperatura previamente definidas, manteniendo constantes el volumen de sustrato y la concentración de inóculo de granos de kéfir. La temperatura de fermentación se consideró como la variable independiente del diseño, mientras que el pH fue registrado como variable dependiente mediante mediciones continuas cada minuto. El registro se mantuvo durante el desarrollo de la fermentación hasta observar la estabilización del pH o la aproximación a la zona asintótica de la curva experimental. Con estos registros se construyeron las curvas experimentales del descenso de pH, las cuales permitieron estimar los parámetros cinéticos, integrar el modelo matemático diferencial y desarrollar el modelo híbrido matemático-computacional para predecir el descenso del pH.

4.3. Diseño de la investigación

Para el desarrollo del modelamiento predictivo dentro del rango experimental de 22.5 a 31.5°C, según la tabla 1, el bioproceso fue evaluado inicialmente mediante ocho lotes independientes bajo condiciones isotérmicas controladas alrededor de temperaturas objetivo durante toda la fermentación. Estos ensayos permitieron obtener los datos necesarios para estimar los parámetros cinéticos mediante el ajuste del modelo de Gompertz modificado, establecer la relación Gompertz-Arrhenius e integrar la ecuación diferencial para obtener el pH teórico utilizado en el entrenamiento del modelo híbrido matemático-computacional.

Posteriormente, se ejecutó un lote adicional bajo un perfil térmico escalonado controlado, en el cual la temperatura fue modificada por etapas dentro del rango experimental establecido. Este ensayo fue utilizado para la validación externa ciega del desempeño de los modelos, comparando las predicciones obtenidas con los datos experimentales registrados durante la corrida. Bajo estas condiciones, la fermentación se desarrolló con cambios de temperatura previamente definidos, manteniendo el control del proceso durante toda la operación.

La variación de la temperatura durante la fermentación permitió analizar la respuesta del sistema a lo largo del tiempo e incorporar la temperatura como una variable de operación dentro del modelamiento. Este enfoque permitió representar tanto condiciones isotérmicas como un perfil térmico escalonado controlado, en concordancia con estudios de modelamiento dinámico en procesos fermentativos donde la temperatura varía durante la operación (Van Impe et al., 1992; Dougherty et al., 2002; Ritonja et al., 2021).

En este contexto, los resultados obtenidos en los ensayos isotérmicos y en el perfil térmico escalonado fueron integrados en el desarrollo del modelo matemático diferencial y del modelo híbrido. La capacidad predictiva de ambos modelos fue evaluada mediante la comparación entre los valores experimentales y los valores predichos, siguiendo enfoques de modelamiento híbrido reportados en la literatura (Lee et al., 2020; Setoodeh et al., 2012).

- ✓ **Diseño del experimento:** El diseño experimental fue de tipo unifactorial, longitudinal y con mediciones repetidas en el tiempo. Se estructuró en dos etapas operativas. En la primera etapa, bajo condiciones isotérmicas controladas, se estimaron los parámetros cinéticos mediante el ajuste del modelo de Gompertz modificado, se estableció la relación térmica de Arrhenius para $V_m(T)$, se integró la ecuación diferencial para obtener el pH teórico y se realizó el entrenamiento del modelo híbrido. En la segunda

etapa, bajo un perfil térmico escalonado controlado, se llevó a cabo la validación externa ciega del modelo matemático diferencial y del modelo híbrido.

- ✓ **Pruebas experimentales:** Se trabajó con un total de 9 lotes experimentales distribuidos en dos etapas: 8 lotes bajo condiciones isotérmicas para la estimación de parámetros cinéticos y 1 lote bajo perfil térmico escalonado controlado para la validación de los modelos.
- ✓ **Condiciones fijas:** Se mantuvo constante un volumen de sustrato de 400 mL y una concentración de inóculo de granos de kéfir del 10% p/v (40 g de masa), con el fin de asegurar la comparabilidad entre las corridas experimentales.
- ✓ **Factor experimental:** La temperatura de fermentación fue manipulada como la variable independiente del sistema.
- ✓ **Niveles del factor:** En la primera etapa se trabajó con temperaturas isotérmicas de 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C para la estimación de los parámetros cinéticos. En la segunda etapa se aplicó un perfil térmico escalonado controlado dentro del mismo rango experimental, el cual no coincidió exactamente con las condiciones isotérmicas utilizadas en la estimación de parámetros. Esto permitió evaluar el desempeño de los modelos frente a una condición distinta a las empleadas durante el ajuste.
- ✓ **Variable de respuesta:** El descenso del pH en función del tiempo fue considerado como la variable de respuesta. Su medición continua permitió representar el avance del proceso fermentativo y evaluar el comportamiento del sistema bajo las condiciones de operación establecidas (Soukoulis et al., 2007; Leite et al., 2013).

A continuación, tabla 1, se presenta la secuencia experimental empleada para las fermentaciones orientadas al modelamiento de la cinética de descenso del pH en la elaboración de kéfir. Para cada lote se detalló su objetivo experimental y computacional en función del perfil térmico aplicado.

Tabla 1. Etapas experimentales secuenciales del diseño propuesto

Etapas del diseño	N° Lote	Perfil térmico aplicado	Objetivo experimental y computacional
Primera etapa: Obtención de datos isotérmicos para el ajuste de parámetros cinéticos.	Lote 1 y 2	22.5°C controlado alrededor del valor objetivo hasta alcanzar el pH asintótico	Registrar los datos de pH y temperatura durante la fermentación bajo condiciones isotérmicas, con el fin de estimar los parámetros del modelo de Gompertz modificado y establecer la relación entre la velocidad de acidificación y la temperatura mediante la ecuación de Arrhenius, permitiendo la determinación de la energía de activación y la formulación del modelo matemático y del modelo híbrido.
	Lote 3 y 4	25.5°C controlado alrededor del valor objetivo hasta alcanzar el pH asintótico	
	Lote 5 y 6	28.5°C controlado alrededor del valor objetivo hasta alcanzar el pH asintótico	
	Lote 7 y 8	31.5°C controlado alrededor del valor objetivo hasta alcanzar el pH asintótico	
Segunda etapa: Obtención de datos bajo un perfil térmico escalonado controlado.	Lote 9	Perfil térmico escalonado controlado secuencial 30°C: 160min 28°C: 180min 26°C: 180min 24°C: 185min 26°C: 155min 29°C: 120min	Evaluar el desempeño predictivo de los modelos mediante validación externa, comparando los valores de pH estimados con los datos experimentales obtenidos bajo condiciones de temperatura escalonada controlada.

El límite superior de 31.5°C se incluyó con el fin de evaluar el comportamiento del sistema en condiciones cercanas al máximo rango operativo del proceso. No obstante, se consideró que a temperaturas superiores a 31°C podían presentarse variaciones en la dinámica del cultivo, asociadas a cambios en la actividad relativa de los microorganismos presentes, lo que podía influir en la evolución del proceso fermentativo. Este

comportamiento ha sido reportado en estudios de fermentación de kéfir y sistemas lácteos, donde la temperatura afecta la respuesta del sistema bajo condiciones variables (Zajšek & Goršek, 2010; Ritonja et al., 2021).

Las dos etapas se explican mejor en la figura 2 y puntualizándose a continuación:

- ✓ Primera etapa: ajuste del modelo de Gompertz modificado a los datos experimentales de temperatura y pH registrados.
- ✓ Segunda etapa: diseño del modelo híbrido mediante la integración de un corrector de error residual al modelo teórico para la posterior validación ante un escenario de fermentación con temperatura escalonado controlado.

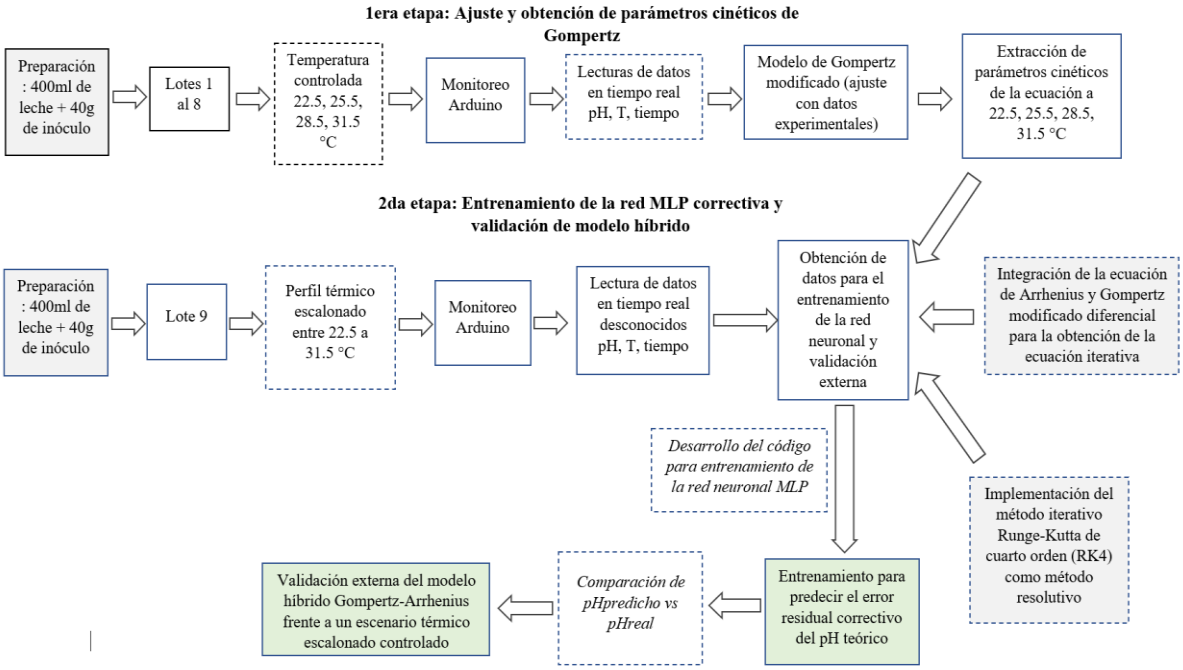

Figura 2. Diagrama de flujo del proceso experimental.

4.4. Población y muestra

La población y la muestra fueron definidas considerando el alcance experimental del estudio, centrado en fermentaciones de kéfir de leche monitoreadas en tiempo real.

4.4.1. Población

La población de estudio estuvo conformada por los sistemas experimentales de fermentación de kéfir de leche elaborados con granos de kéfir y operados bajo condiciones controladas de temperatura dentro del rango de 22.5 a 31.5 °C, considerando tanto

fermentaciones isotérmicas como fermentaciones sujetas a un perfil térmico escalonado controlado.

4.4.2. Muestra

La muestra estuvo constituida por 9 lotes experimentales independientes, en los cuales se llevó a cabo la fermentación de leche comercial inoculada con granos de kéfir, bajo un diseño experimental unifactorial y longitudinal, donde la temperatura fue la única variable manipulada. Cada unidad experimental correspondió a un matraz Erlenmeyer con un volumen de trabajo de 400 mL, inoculado con 40 g de granos de kéfir, equivalente a una relación de 10 % p/v. Esta concentración se mantuvo constante en todas las corridas para asegurar una carga biológica inicial uniforme y evaluar principalmente el efecto de la temperatura sobre la cinética de acidificación. La elección de esta condición se sustentó en estudios previos de kéfir de leche elaborado con granos, donde se ha reportado el uso de 10 % p/v, así como en investigaciones que evidencian que la relación grano/leche influye en la acidificación y en las características fisicoquímicas del producto (Alves et al., 2021; Dallas et al., 2016; Gamba et al., 2025; Triwibowo et al., 2020). Dado que cada matraz contenía su propia matriz láctea, su propia biomasa inoculada y una evolución individual del pH durante la fermentación se consideró como un lote a cada unidad experimental independiente, aun cuando algunas corridas isotérmicas compartieron el mismo sistema de control térmico.

La selección de las temperaturas isotérmicas de 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C se realizó para cubrir de manera ordenada el rango experimental del estudio y observar cómo la temperatura influye en el descenso del pH durante la fermentación del kéfir. Estos niveles fueron elegidos con una separación uniforme, considerando las condiciones reales de trabajo del sistema y la necesidad de contar con puntos bajos, intermedios y altos dentro del intervalo evaluado. En cada temperatura se trabajó con lotes independientes, manteniendo constante el volumen de leche y la cantidad de granos de kéfir, de modo que los cambios observados en el pH estuvieran asociados principalmente al efecto de la temperatura. Cuando se tuvieron registros paralelos o duplicados, se tomó como referencia la curva con mejor continuidad de lectura, mayor estabilidad térmica y sin fallas evidentes del sistema de medición. Este criterio permitió trabajar con datos más confiables sin alterar el diseño experimental. En conjunto, la distribución de temperaturas y el control de las condiciones fijas permitieron obtener información suficiente para ajustar el modelo cinético con un número limitado de corridas, siguiendo principios generales de diseño experimental (Montgomery, 2020).

De las 9 corridas experimentales, 8 correspondieron a fermentaciones isotérmicas controladas, empleadas para estimar los parámetros cinéticos, establecer la relación Gompertz-Arrhenius, obtener el pH teórico mediante integración numérica y entrenar la red neuronal tipo perceptrón multicapa (MLP). La corrida restante se desarrolló bajo un perfil térmico escalonado controlado y fue utilizada únicamente para la validación externa ciega de los modelos.

4.5. Insumos, materiales, equipos e instrumentos utilizados

Todo el material logístico necesario se describe a continuación.

4.5.1. Cultivo

Se utilizó un cultivo de kéfir en granos de origen comercial, adquirido de un proveedor local en Lima (Lamuuu), el cual fue empleado como inóculo para la fermentación láctea (Yamunaque, 2025).

4.5.2. Sustrato

Se utilizó leche entera bovina comercial UHT de la marca Gloria, empleada como sustrato para el desarrollo de la fermentación (Gloria, 2018).

4.5.3. Equipos y materiales

Se utilizaron los siguientes equipos y materiales para el desarrollo experimental:

- ✓ Balanza grado alimentario
- ✓ Baño maría con controlador de temperatura
- ✓ 2 matraces Erlenmeyer de 500 mL
- ✓ 1 pipeta de 10 mL
- ✓ 1 propipeta
- ✓ 1 placa Petri
- ✓ 1 probeta graduada de 500 mL
- ✓ 2 pisetas
- ✓ Papel absorbente
- ✓ 1 colador de plástico de malla fina grado alimentario
- ✓ 1 embudo de plástico grado alimentario
- ✓ 1 cuchara de plástico grado alimentario
- ✓ 1 termómetro digital
- ✓ 1 pHmetro digital

4.5.4. Reactivos

Se emplearon los siguientes reactivos durante el desarrollo experimental:

- ✓ Agua destilada
- ✓ Solución buffer de pH 4.0 y pH 7.0
- ✓ Alcohol etílico al 70 % para desinfección de superficies
- ✓ Solución de KCl 3 N para almacenamiento del electrodo del sensor de pH

4.5.5. Sistema de instrumentación

Se implementó un sistema basado en un microcontrolador Arduino, el cual permitió el monitoreo continuo de las variables de proceso durante la fermentación.

a) **Sensores del pH:** Se emplearon 2 sensores de pH tipo electrodo de vidrio con electrodo de referencia Ag/AgCl, modelo E-201, acoplados a un módulo acondicionador PH-4502C con conector BNC, compatible con Arduino. Los sensores operaron en un rango de pH de 0 a 14 y un rango de temperatura de 0 a 80°C. Presentaron una repetibilidad menor a 0.017 unidades de pH, un tiempo de respuesta menor a 2 minutos y una pendiente cercana al 98% del valor teórico. La calibración se realizó en dos puntos (pH 4.00 y 7.00) previo a cada corrida experimental (Hi-Fi SAC Perú, sin fecha).

b) **Sensores de temperatura:** Se utilizaron 2 sensores de temperatura digital DS18B20 sumergibles, conectados mediante una resistencia de 4.7 kΩ y compatibles con Arduino. Estos sensores operaron en un rango de -55 a 125°C, con una precisión de ± 0.5°C en el rango de -10 a 85°C (Naylamp Mechatronics, s.f.).

c) **Sistema de registro de datos:** Se utilizó una placa Arduino UNO R3 conectada a una computadora portátil mediante cable USB, junto con un protoboard y cables jumper para la interconexión de los componentes.

d) **Arquitectura de hardware y conexionado funcional del sistema de adquisición de datos:** El sistema de instrumentación se organizó mediante una arquitectura de hardware compuesta por sensores de proceso, módulos de acondicionamiento de señal, una placa microcontroladora Arduino UNO R3, un protoboard para la interconexión física, una pantalla LCD para la visualización local y una computadora portátil para la recepción y almacenamiento de datos. Esta arquitectura permitió integrar la medición de pH y temperatura en un sistema de monitoreo continuo durante la fermentación.

En la etapa de sensado, los electrodos de pH E-201 se ubicaron en contacto con el medio fermentativo para registrar el avance de la acidificación, mientras que los sensores DS18B20 sumergibles permitieron medir la temperatura real del sistema. La señal generada por el electrodo de pH fue conducida hacia el módulo acondicionador PH-4502C, el cual permitió adaptar la señal electroquímica del electrodo a un nivel de voltaje compatible con la entrada analógica de la placa Arduino UNO R3. Esta lectura analógica no fue asumida directamente como valor de pH, sino que fue convertida posteriormente mediante la ecuación lineal de calibración obtenida con las soluciones buffer de pH 4.00 y pH 7.00, conforme al procedimiento descrito en la sección de calibración. En cambio, la señal de temperatura proveniente de los sensores DS18B20 fue transmitida digitalmente hacia el microcontrolador, empleando una resistencia de 4.7 kΩ como parte del conexionado requerido para este tipo de sensor.

El protoboard se empleó como plataforma auxiliar para organizar el cableado del sistema, distribuir la alimentación, establecer tierra común y facilitar la conexión entre los sensores, los módulos de acondicionamiento, la pantalla LCD y la placa Arduino. La pantalla LCD se integró al montaje como elemento de visualización local en tiempo real, permitiendo verificar durante el ensayo los valores de pH y temperatura registrados por el sistema, sin depender únicamente de la computadora portátil.

La placa Arduino UNO R3 actuó como unidad central de adquisición de datos. Su función fue recibir la señal analógica del módulo de pH y la señal digital de los sensores de temperatura, procesar las lecturas mediante el código cargado en el microcontrolador, actualizar la visualización en la pantalla LCD y transmitir la información hacia la computadora portátil mediante conexión USB directa. Esta conexión USB permitió establecer la comunicación serial entre Arduino y la laptop durante el registro experimental.

La computadora portátil funcionó como estación de recepción, visualización y almacenamiento de la información experimental. A través de la comunicación serial establecida por el cable USB, los datos enviados por la placa Arduino UNO R3 fueron recibidos y registrados mediante un script desarrollado en Python. Esta configuración permitió obtener series temporales continuas de pH y temperatura, las cuales fueron empleadas posteriormente en el tratamiento de datos, el análisis cinético y el modelamiento matemático-computacional.

e) **Control de calidad instrumental:** Como criterio de calidad del sistema de medición, se consideraron las especificaciones técnicas de los sensores durante el análisis de los datos experimentales. En el caso de la temperatura, se tomó como referencia la precisión nominal del sensor DS18B20 (± 0.5°C) dentro del rango de operación. Para el pH, se consideró la repetibilidad del electrodo E-201 (<0.017 unidades de pH), complementada con la calibración en dos puntos (pH 4.00 y 7.00) realizada antes de cada corrida experimental. Estas tolerancias fueron utilizadas como referencia para evaluar la confiabilidad de las mediciones y la dispersión de las curvas obtenidas.

4.5.6. Software

La lectura de pH y temperatura se realizó mediante un sistema basado en Arduino, conectado a los sensores instalados en el proceso de fermentación. Los datos fueron enviados al computador y registrados mediante un script desarrollado en Python, ejecutado en Visual Studio Code. Posteriormente, esta información fue utilizada para el tratamiento de datos, la estimación de parámetros cinéticos, la integración del modelo matemático diferencial y el desarrollo del modelo híbrido matemático-computacional.

4.6. Preparación experimental

La preparación experimental comprendió los procedimientos realizados antes y después de cada corrida, con el fin de asegurar condiciones reproducibles durante la fermentación, la confiabilidad del sistema de medición y la adecuada conservación del cultivo. Estas actividades incluyeron la activación inicial de los granos de kéfir, el acondicionamiento del sistema instrumental, la calibración del sensor de pH y la conservación de los granos al finalizar cada ensayo experimental.

4.6.1. Activación inicial del cultivo de granos de kéfir

Previo al inicio de la etapa experimental, los granos de kéfir fueron activados con el fin de asegurar su viabilidad y estabilidad fermentativa durante todas las corridas experimentales, mediante fermentaciones sucesivas en leche con renovación del medio, siguiendo prácticas reportadas en estudios de fermentación de kéfir (Magalhães et al., 2023; Leite et al., 2013).

a) Preparación del cultivo en el medio

Inicialmente se colocaron los granos de kéfir adquiridos en un recipiente de vidrio limpio de 1 litro de capacidad, al cual se adicionó 800 mL leche entera fresca.

b) Incubación

El recipiente se mantuvo en reposo a temperatura ambiente durante 24 horas, evitando la exposición directa a la luz y sin agitación.

c) Separación del cultivo

Transcurrido el tiempo de incubación, los granos fueron separados del medio fermentado mediante colado utilizando un colador de malla fina de material plástico grado alimentario.

d) Renovación del sustrato

Luego se descartó el líquido fermentado y los granos recuperados fueron transferidos nuevamente a un recipiente limpio con leche fresca.

e) Repetición del proceso

El procedimiento de incubación y renovación del medio se repitió durante dos ciclos adicionales consecutivos, hasta observar una actividad fermentativa estable del cultivo.

4.6.2. Acondicionamiento instrumental para el registro de datos

Previo al inicio de cada corrida experimental, se realizó el acondicionamiento del sistema instrumental conformado por un microcontrolador Arduino acoplado a sensores de temperatura DS18B20, sensores de pH y una computadora portátil, con el fin de asegurar el monitoreo continuo de las variables del proceso con una frecuencia de muestreo de 1 minuto (t = 1 min) (Hi-Fi SAC Perú, s.f.; Naylamp Mechatronics, s.f.).

a) Inspección del área de trabajo

Se verificó que la superficie de trabajo estuviera limpia, seca y libre de humedad, derrames o posibles interferencias eléctricas cercanas.

b) Inspección del sistema electrónico

Se realizó una revisión visual del microcontrolador Arduino, protoboard, cables, resistencias y conectores, asegurando la ausencia de falsos contactos, conexiones sueltas o cables expuestos.

c) Verificación de sensores de temperatura

Se comprobó la integridad física del sensor DS18B20, verificando el estado del aislamiento y su correcta conexión al protoboard. Adicionalmente, su lectura fue contrastada de manera puntual con un termómetro digital de referencia dentro del rango operativo del estudio, con el fin de verificar la consistencia de la señal antes de cada corrida experimental.

d) Verificación de sensores de pH

Se revisó el estado del electrodo y del módulo de pH, verificando la limpieza del bulbo, la ausencia de fisuras, la adecuada hidratación del electrodo y su correcta conexión al sistema.

e) Energizado del sistema

El sistema fue alimentado mediante la conexión del Arduino a la computadora portátil vía USB, verificando su correcto funcionamiento y la ausencia de calentamiento anómalo. Asimismo, se comprobó la recepción de señal de los sensores.

f) Ejecución del software de monitoreo

Se cargó el código en Arduino y se ejecutó el script de Python en Visual Studio Code, verificando la correcta comunicación con el puerto serial, la recepción de datos en tiempo real y la frecuencia de muestreo definida para las lecturas de temperatura y pH.

g) Configuración del registro de datos

Se habilitó el archivo de almacenamiento de datos, verificando durante pruebas preliminares que la información se registrara correctamente y asignando un nombre específico para cada unidad experimental.

h) Inicio del monitoreo experimental

Una vez verificada la estabilidad del sistema, se inició el registro continuo de datos con una frecuencia de muestreo de 1 minuto, manteniendo el monitoreo activo durante toda la corrida experimental.

Los datos capturados por el microcontrolador fueron enviados al computador y registrados en un archivo digital estructurado para su posterior procesamiento y modelamiento en Python. El registro se realizó de manera continua durante cada fermentación, con una frecuencia de muestreo de 1 minuto para pH y temperatura, hasta observar la formación de la zona asintótica de la curva de descenso de pH.

Tabla 2. Estructura de la matriz de datos experimentales registrados

Tiempo	Temperatura objetivo	Tipo de perfil	Temperatura real	pH real
Tiempo en minutos desde el minuto 0	Temperatura objetivo de trabajo (°C)	Isotérmico o no isotérmico de tipo escalonado	Valor registrado por el sensor de temperatura (°C)	Valor registrado por el sensor de pH

Considerando una frecuencia de muestreo de 1 minuto, cada corrida experimental generó una serie temporal de lecturas de pH y temperatura desde el inicio de la fermentación hasta la estabilización de la curva de acidificación. La duración de cada registro dependió del tiempo requerido para alcanzar la zona asintótica del pH, por lo que el número de datos obtenidos varió entre lotes. En la primera etapa, correspondiente a las condiciones isotérmicas, se registraron los datos de 8 corridas experimentales, los cuales fueron utilizados para el ajuste del modelo Gompertz y para el entrenamiento de la red neuronal orientada a estimar el error residual. En la segunda etapa, se registró 1 corrida bajo perfil térmico escalonado controlado, empleada para la validación externa ciega de los modelos. En conjunto, los registros obtenidos conformaron la base experimental utilizada para el tratamiento de datos, la estimación de parámetros cinéticos y el desarrollo del modelo híbrido matemático-computacional.

4.6.3. Calibración del sensor de pH

La calibración del sensor de pH se realizó antes de cada corrida experimental, tomando como referencia el método oficial 981.12 para alimentos acidificados (AOAC International, 2005). Se emplearon soluciones buffer de pH 7.00 y pH 4.00, seleccionadas en función del rango ácido característico del proceso de fermentación de kéfir.

a) Energizado del sistema

El sensor de pH conectado al sistema Arduino fue energizado y se dejó estabilizar la señal durante un periodo de 5 minutos.

b) Acondicionamiento inicial del electrodo

Se retiró la tapa de protección del bulbo del electrodo, se enjuagó con agua destilada y se secó suavemente con papel absorbente, evitando el frotamiento del bulbo. Al retirar la tapa se tuvo cuidado de no perder el líquido dentro de la tapa, que es la solución de almacenamiento del electrodo.

c) Lectura en solución buffer pH 7.00

El electrodo se sumergió en la solución buffer pH 7.00 hasta cubrir completamente el bulbo. Una vez estabilizada la señal, se registró el valor de salida en voltios (V).

d) Acondicionamiento intermedio

El electrodo se enjuagó nuevamente con agua destilada y se secó suavemente con papel absorbente.

e) Lectura en solución buffer pH 4.00

El electrodo se sumergió en la solución buffer pH 4.00 y, tras la estabilización de la señal, se registró el valor de salida en voltios (V).

f) Cálculo de la ecuación de calibración

A partir de los dos puntos experimentales obtenidos (pH 7.00, V_7) y (pH 4.00, V_4), se determinó la ecuación lineal (9) de conversión de voltaje a pH:

$$pH = mV + b \tag{9}$$

Donde:

$$m = \frac{pH_4 - pH_7}{V_4 - V_7}$$

$$b = pH_7 - m(V_7)$$

Por lo tanto, la ecuación de conversión utilizada fue:

$$pH = \left(\frac{pH_4 - pH_7}{V_4 - V_7}\right)V + \left(pH_7 - \frac{pH_4 - pH_7}{V_4 - V_7}V_7\right) \tag{10}$$

g) Integración en el sistema de registro

La ecuación obtenida fue incorporada al código en Arduino, permitiendo la conversión automática de las lecturas de voltaje a valores de pH durante la fermentación.

h) Conservación del electrodo

Finalizada la calibración, el electrodo fue mantenido en solución de almacenamiento de KCl 3N para preservar su hidratación hasta su uso en la corrida experimental.

4.6.4. Conservación de granos posterior a la experiencia

Finalizada cada corrida experimental, los granos de kéfir fueron recuperados y acondicionados para su conservación en condiciones que permitieron mantener su actividad fermentativa para las corridas realizadas en días consecutivos.

a) Separación del cultivo

Se separaron los granos del medio fermentado mediante colado utilizando un colador de malla fina de material plástico grado alimentario.

b) Transferencia a medio fresco

Los granos recuperados fueron transferidos directamente a un recipiente limpio que contenía leche fresca, asegurando su completa inmersión.

c) Conservación a temperatura ambiente

El recipiente se mantuvo a temperatura ambiente durante el intervalo entre corridas experimentales, con el fin de preservar la actividad del cultivo.

4.7. Procedimiento experimental

En la secuencia experimental presentada en la tabla 1 se desarrollaron dos procedimientos principales. En primer lugar, antes de cada fermentación, se realizó la inoculación de los granos de kéfir en la matriz láctea bajo condiciones estandarizadas, manteniendo constante el volumen de leche y la concentración de inóculo. La primera etapa experimental consistió en la obtención de datos bajo condiciones isotérmicas mediante ocho lotes independientes, identificados como lotes 1 al 8. En estos ensayos, la fermentación se llevó a cabo a temperatura constante dentro del rango experimental establecido, lo que permitió registrar el comportamiento del pH y obtener la información necesaria para el ajuste de los parámetros cinéticos. Finalmente, se desarrolló una segunda etapa mediante un lote adicional, identificado como lote 9, bajo un perfil térmico escalonado controlado. Esta corrida permitió evaluar el desempeño de los modelos frente a una condición térmica distinta a las utilizadas durante la etapa isotérmica y fue empleada para la validación externa ciega. Durante todas las corridas experimentales, se registraron de manera continua las variables de pH y temperatura, con una frecuencia de muestreo de un minuto.

4.7.1. Inoculación de granos

La inoculación de los granos de kéfir en la matriz láctea se realizó bajo condiciones higiénicas controladas, utilizando una concentración de 10 % p/v, equivalente a 40 g de granos en 400 mL de leche comercial. Esta condición se mantuvo constante en todas las corridas experimentales con el fin de conservar una carga biológica inicial uniforme y evaluar principalmente el efecto de la temperatura sobre la cinética de acidificación. Los granos utilizados provinieron de un mismo lote madre previamente acondicionado, lo que permitió reducir la variabilidad asociada al origen del cultivo.

a) Acondicionamiento del área de trabajo

Se desinfectó la superficie de trabajo y los materiales en contacto con el cultivo y el sustrato mediante limpieza previa y aplicación de alcohol etílico al 70 %. Los matraces Erlenmeyer se mantuvieron en condiciones higiénicas antes de su uso.

b) Preparación del sustrato

Se midieron 400 mL de leche entera UHT comercial utilizando una probeta y se transfirieron a un matraz Erlenmeyer de 500 mL, manteniendo constante el volumen y la geometría del recipiente en todas las corridas experimentales.

c) Recuperación de granos de kéfir

Los granos de kéfir fueron retirados del medio de conservación lácteo mediante colado con un colador de malla fina, permitiendo el escurrido del exceso de líquido sin aplicar presión.

d) Pesado del cultivo

Se taró una placa Petri en la balanza y se pesaron 40 g de granos de kéfir, correspondientes al 10 % p/v respecto al volumen de leche utilizado.

e) Inoculación en la matriz láctea

Los granos pesados fueron adicionados directamente al matraz, asegurando su completa inmersión con el vertimiento del sustrato. Posteriormente, se realizó una homogenización manual suave para distribuir el cultivo en el medio.

f) Inicio de la fermentación

La fermentación se llevó a cabo sin agitación mecánica durante toda la corrida experimental, manteniéndose condiciones estáticas en todos los ensayos. Los sensores de pH

y temperatura permanecieron sumergidos en el medio de fermentación y fueron fijados para evitar desplazamientos durante el registro de datos. Debido a su instalación, el sistema no se cerró de forma completamente hermética, por lo que se trabajó con un cierre parcial que permitió la fijación de los sensores y mantuvo un contacto limitado con el ambiente, generando condiciones predominantemente aeróbicas durante el proceso de fermentación.

4.7.2. Registro de datos para la obtención de parámetros cinéticos

Esta etapa permitió obtener información experimental bajo condiciones de temperatura constante, necesaria para describir el comportamiento de la acidificación del sistema y generar la base de datos empleada en el ajuste de los parámetros cinéticos del modelo matemático.

a) Estandarización del sistema

Previo al inicio de cada corrida experimental, se verificó el acondicionamiento del sistema instrumental, la correcta inoculación del cultivo y la calibración del sensor de pH, de acuerdo con los procedimientos descritos en las secciones anteriores.

b) Verificación del sistema térmico

Se verificó el correcto funcionamiento del baño maría con controlador de temperatura antes de cada corrida. El sistema fue ajustado a la temperatura de trabajo correspondiente y se esperó su estabilización, corroborando el valor con un termómetro digital de referencia.

c) Control de temperatura de fermentación

Posteriormente, los matraces Erlenmeyer inoculados al 10% p/v fueron colocados dentro del sistema térmico. En los casos donde dos unidades experimentales compartieron el mismo baño María, se mantuvo la independencia de cada lote, ya que cada matraz contenía su propia matriz láctea, su propia biomasa inoculada y su propia evolución de pH durante la fermentación. Antes de iniciar cada corrida, se verificó la correcta posición de los sensores de pH y temperatura dentro de cada matraz, procurando que estuvieran adecuadamente sumergidos y sin contacto directo con las paredes del recipiente. Asimismo, la temperatura de trabajo fue corroborada mediante la comparación entre la lectura del sensor y un termómetro digital de referencia.

Las corridas isotérmicas se desarrollaron en cuatro niveles de temperatura: 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C, según lo establecido en la Tabla 1. En todos los casos, la temperatura se

mantuvo controlada durante la fermentación, con el fin de obtener curvas de acidificación comparables y evaluar el efecto térmico sobre el descenso del pH.

d) Registro de datos

Durante cada corrida experimental, se registraron de manera continua los valores de pH y temperatura con una frecuencia de muestreo de 1 minuto. El registro se mantuvo desde el inicio de la fermentación hasta observar la formación de la zona asintótica de la curva de acidificación, por lo que la duración de cada corrida dependió del comportamiento propio de cada lote.

e) Finalización y conservación del cultivo

Finalizado el tiempo de fermentación, los granos de kéfir fueron separados del medio mediante colado y transferidos a leche fresca, manteniéndose a temperatura ambiente hasta su uso en la siguiente corrida experimental.

4.7.3. Registro de datos bajo un perfil térmico escalonado controlado

Esta etapa tuvo como finalidad obtener datos experimentales bajo una condición térmica distinta a las empleadas en las corridas isotérmicas. Para ello, se aplicó un perfil térmico escalonado controlado dentro del rango experimental establecido, cuyos datos fueron utilizados exclusivamente para la validación externa ciega del modelo matemático diferencial y del modelo híbrido matemático-computacional.

a) Estandarización del sistema

Previo al inicio de la corrida experimental, se verificó el acondicionamiento del sistema instrumental, la correcta inoculación del cultivo y la calibración del sensor de pH, de acuerdo con los procedimientos descritos en las secciones anteriores.

b) Verificación del sistema térmico

Se verificó el correcto funcionamiento del baño maría con controlador de temperatura antes de la corrida experimental. El sistema fue ajustado a la temperatura inicial de trabajo y se esperó su estabilización, corroborando el valor con un termómetro digital de referencia.

c) Ejecución del perfil térmico escalonado

Posteriormente, el matraz Erlenmeyer inoculado al 10 % p/v fue colocado dentro del sistema térmico y se verificó la correcta posición de los sensores de pH y temperatura sumergidos en el medio. Se ejecutó una corrida bajo un perfil térmico escalonado controlado

dentro del rango experimental de 22.5 a 31.5°C, según lo establecido en la tabla 1. Este perfil no fue utilizado durante la etapa isotérmica, por lo que genero un perfil experimental adicional para el análisis del comportamiento del sistema frente a variaciones de temperatura.

d) Registro de datos en la aplicación del perfil térmico

Durante la corrida experimental del lote 9, se registraron de manera continua los valores de pH y temperatura con una frecuencia de muestreo de 1 minuto, hasta evidenciar la tendencia asintótica de la curva de acidificación. Para esta etapa se aplicó un perfil térmico escalonado de tipo descendente-ascendente, manteniendo condiciones aproximadamente isotérmicas en cada intervalo de operación. La secuencia aplicada fue la siguiente: 30°C durante 160 min, 28°C durante 180 min, 26°C durante 180 min, 24°C durante 185 min, 26°C durante 155 min y 29°C durante 120 min. Durante la corrida, la temperatura fue ajustada manualmente en el baño María según la secuencia previamente definida, procurando mantener cada tramo estable antes de pasar al siguiente nivel térmico. Este lote fue utilizado exclusivamente para evaluar la capacidad predictiva de los modelos frente a una condición distinta a las empleadas durante la etapa isotérmica.

e) Finalización y conservación del cultivo

Finalizado el tiempo de fermentación, los granos de kéfir fueron separados del medio mediante colado y transferidos a leche fresca, manteniéndose a temperatura ambiente hasta su uso posterior.

4.8. Modelamiento matemático y computacional

El modelamiento del sistema se desarrolló principalmente a partir de los datos experimentales obtenidos durante las fermentaciones isotérmicas. Posteriormente, el desempeño predictivo fue evaluado mediante una validación externa ciega utilizando el lote desarrollado bajo un perfil térmico escalonado controlado. En todo el proceso se empleó el pH como variable de respuesta, debido a que refleja el avance de la acidificación y la actividad global del cultivo, además de ser una variable ampliamente utilizada en el monitoreo de fermentaciones lácteas y en estudios de kéfir de leche elaborado con granos, por su medición en tiempo real y su relación con la calidad del producto (Soukoulis et al., 2007; Leite et al., 2013; Alves et al., 2021).

A partir de estos datos, se implementó una secuencia de trabajo que incluyó el preprocesamiento de la información experimental, el ajuste del modelo de Gompertz modificado, la relación térmica mediante Arrhenius, la integración del modelo diferencial y el desarrollo de un modelo híbrido matemático-computacional. El modelo matemático se basó en el modelo de Gompertz modificado para describir la evolución del pH en función del tiempo, ya que permite representar el comportamiento sigmoidal asociado al descenso del pH durante la fermentación. En la primera etapa, correspondiente a las corridas isotérmicas, se estimaron los parámetros cinéticos de cada condición térmica mediante el ajuste del modelo de Gompertz modificado (Zwietering et al., 1990; Gil et al., 2011).

Si bien el modelo de Gompertz modificado fue formulado originalmente para describir curvas de crecimiento microbiano, en este estudio se empleó para modelar una variable global del proceso fermentativo, como el pH. Esta adaptación fue pertinente porque la evolución del pH presentó una tendencia compatible con una curva de acidificación, con una etapa inicial de menor cambio, una fase de descenso más marcado y una zona final de estabilización. En ese sentido, se tomó como referencia su aplicación en fermentaciones lácteas, donde el modelo ha sido utilizado para describir respuestas asociadas al proceso de acidificación (Soukoulis et al., 2007).

Para incorporar el efecto de la temperatura, el modelo fue complementado mediante la ecuación de Arrhenius aplicada al parámetro de velocidad máxima de acidificación, Vm. Esta relación describió cómo varía la velocidad del descenso del pH en función de la temperatura de operación. A partir de ello, se estimó la energía de activación aparente, Ea, entendida en este estudio como un parámetro asociado a la dependencia térmica de la velocidad de acidificación dentro del rango evaluado. Este enfoque ha sido aplicado en fermentaciones con cultivos de kéfir y en sistemas fermentativos similares, donde la temperatura influye directamente en la cinética del proceso (Zajšek & Goršek, 2010; Laureys et al., 2022).

El modelo matemático diferencial se formuló considerando la evolución temporal del pH. Para las corridas isotérmicas, la temperatura fue considerada controlada alrededor de un valor objetivo; sin embargo, en la integración numérica del modelo Gompertz-Arrhenius se empleó la temperatura real registrada en cada intervalo de muestreo. De esta manera, el modelo permitió representar tanto condiciones isotérmicas como una condición térmica variable por etapas. Este tipo de formulación es consistente con estudios de fermentación

bajo condiciones de temperatura variable, donde los cambios térmicos durante la operación modifican la respuesta del sistema (Van Impe et al., 1992; Ritonja et al., 2021; Dougherty et al., 2002).

La resolución del sistema de ecuaciones diferenciales se realizó mediante el método numérico de Runge-Kutta de cuarto orden (RK4). Este método permitió integrar la ecuación diferencial del pH utilizando la temperatura real registrada durante la fermentación. En las corridas isotérmicas, dicha temperatura correspondió a valores controlados alrededor de una temperatura objetivo, mientras que en el perfil térmico escalonado fue incorporada como una función del tiempo. Su aplicación permitió obtener la trayectoria estimada del pH a lo largo de la fermentación, siendo un procedimiento empleado en el modelamiento de procesos dinámicos y fermentativos por su estabilidad y precisión numérica (Huang, 2013; Liu & Xiong, 2014).

Posteriormente, se desarrolló un modelo híbrido bajo un enfoque de caja gris, en el cual se integró una red neuronal de tipo perceptrón multicapa como módulo correctivo del modelo matemático diferencial. En este enfoque, la red neuronal no reemplazó al modelo Gompertz-Arrhenius, sino que fue entrenada para estimar el error residual entre el pH experimental y el pH calculado por el modelo matemático. De esta manera, el modelo base conservó la interpretación cinética del proceso, mientras que la red neuronal permitió corregir desviaciones asociadas a efectos no capturados completamente por la formulación matemática, como pequeñas no linealidades, variaciones experimentales o respuestas propias del sistema biológico (Lee et al., 2020; Setoodeh et al., 2012; Agharafeie et al., 2023).

Para la implementación del modelo híbrido, la red neuronal MLP fue entrenada a partir de los datos experimentales de las corridas isotérmicas, utilizando como variable objetivo el error residual definido como la diferencia entre el pH experimental y el pH estimado por el modelo Gompertz-Arrhenius. Como variables de entrada se emplearon el tiempo de fermentación, el tiempo normalizado, la temperatura real registrada en cada instante, el pH teórico calculado por el modelo Gompertz-Arrhenius y la derivada local del pH teórico.

Finalmente, el desempeño predictivo del modelo matemático diferencial y del modelo híbrido fue evaluado mediante una validación externa ciega, utilizando los datos del lote desarrollado bajo un perfil térmico escalonado controlado. Estos datos no fueron considerados durante la estimación de parámetros ni durante el entrenamiento de la red

neuronal, por lo que permitieron evaluar la capacidad de ambos modelos para predecir el descenso del pH bajo una condición térmica distinta a las empleadas en la etapa isotérmica. La predicción final del modelo híbrido se obtuvo sumando el pH estimado por el modelo Gompertz-Arrhenius y la corrección residual calculada por la red neuronal MLP.

4.8.1. Preprocesamiento de datos

El preprocesamiento de datos se realizó con el propósito de preparar los registros experimentales antes del ajuste de los modelos. Debido a que las lecturas de pH y temperatura fueron obtenidas mediante sensores durante varias horas de fermentación, fue necesario revisar la continuidad de las señales y corregir posibles imperfecciones propias del sistema de medición, como valores faltantes, saltos puntuales o fluctuaciones instrumentales. El tratamiento aplicado no tuvo como finalidad cambiar la forma de la curva experimental, sino conservar la tendencia real del descenso del pH y reducir el efecto de lecturas aisladas que podían afectar la estimación de los parámetros cinéticos.

a) Registro de datos experimentales

Se utilizaron los datos registrados por los sensores de pH y temperatura durante cada corrida experimental. Las lecturas fueron adquiridas de manera continua con una frecuencia de muestreo de 1 minuto, desde el inicio de la fermentación hasta observar la estabilización del pH y la formación de la zona asintótica de la curva de acidificación.

b) Revisión del conjunto de datos

Cada archivo fue revisado antes del tratamiento para identificar valores faltantes, lecturas fuera de tendencia, saltos bruscos de señal y posibles tramos afectados por ruido instrumental. Esta revisión permitió verificar la coherencia de los datos registrados y diferenciar las variaciones propias del proceso fermentativo de aquellas asociadas al comportamiento del sensor.

c) Corrección de datos faltantes

Cuando se detectaron valores ausentes dentro de la serie temporal, estos fueron corregidos mediante interpolación lineal. Este procedimiento permitió mantener la continuidad del registro sin introducir cambios bruscos ni alterar la tendencia general de las curvas de pH y temperatura.

d) Reducción del ruido en las señales

Para reducir el efecto de lecturas puntuales anómalas, se aplicó inicialmente el filtro de Hampel. Este procedimiento permitió identificar valores que se alejaban de forma marcada del comportamiento local de la señal y reemplazarlos por valores más representativos de su entorno inmediato. Con ello se evitó que picos aislados, asociados principalmente a ruido instrumental o interferencias de lectura, influyeran de manera desproporcionada en el ajuste del modelo.

e) **Suavizado final mediante Lowess**

Luego de corregir las lecturas anómalas, se aplicó un suavizado local mediante lowess a las curvas de pH. Este tratamiento permitió reducir pequeñas oscilaciones de la señal sin perder la forma natural de la acidificación. Se cuidó que el suavizado mantuviera las etapas principales del proceso: una fase inicial de cambio lento, una zona de descenso más marcado y una etapa final de estabilización del pH.

f) Verificación de la señal procesada

Después del preprocesamiento, se compararon las curvas originales y tratadas para comprobar que la limpieza de datos no modificara el comportamiento general de la fermentación. Esta verificación fue importante para asegurar que el tratamiento redujera el ruido, pero mantuviera la información cinética necesaria para el modelamiento.

g) Preparación del *dataset* para el modelamiento

Finalmente, los datos tratados fueron organizados en una base estructurada para el ajuste del modelo Gompertz-Arrhenius y el desarrollo del modelo híbrido. En esta etapa se conservaron las variables de tiempo, temperatura, pH experimental tratado y pH calculado por el modelo matemático. Esta información permitió estimar los parámetros cinéticos y entrenar la red neuronal MLP para calcular el error residual entre el pH experimental y el pH predicho por el modelo base.

4.8.2. Modelamiento matemático diferencial

El modelamiento matemático diferencial se desarrolló a partir de los datos experimentales obtenidos en las corridas isotérmicas, con el objetivo de describir la evolución del pH en función del tiempo y relacionar la velocidad de acidificación con la temperatura. Para ello, se empleó el modelo de Gompertz modificado como modelo primario de acidificación, complementado con la ecuación de Arrhenius para incorporar el efecto

térmico sobre la velocidad máxima de descenso del pH. A partir de esta integración, se formuló un modelo diferencial que permitió representar el comportamiento del sistema bajo las condiciones evaluadas y generar valores teóricos de pH para su posterior comparación con los datos experimentales (Zwietering et al., 1990; Gil et al., 2011; Zajšek & Goršek, 2010).

a) Preparación de los datos

Se utilizaron los datos previamente depurados correspondientes a la primera etapa isotérmica, desarrollada a 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C. Antes del ajuste del modelo, se verificó que las series temporales de pH y temperatura fueran continuas, coherentes y libres de errores evidentes asociados al sistema de medición. Esta revisión permitió asegurar que las curvas empleadas representaran adecuadamente la tendencia de acidificación de cada lote.

b) Ajuste del modelo primario

Los datos experimentales de pH fueron ajustados mediante regresión no lineal. A partir de este procedimiento, se estimaron los parámetros del modelo de Gompertz modificado, el cual describe la evolución del pH durante la fermentación. La expresión utilizada se muestra en la ecuación (11), adaptada según Soukoulis et al. (2007):

$$pH(t) = pH_0 - (pH_0 - pH_\infty)exp\left\{-exp\left[\frac{V_m.e}{pH_0 - pH_\infty}(\lambda - t) + 1\right]\right\} \quad (11)$$

Donde:

pH(t): Valor del pH en el tiempo t.

pH_0: pH inicial de la leche al iniciar la fermentación.

$pH\infty$: pH asintótico final (el valor mínimo alcanzado a tiempo infinito).

V_m: Velocidad máxima de acidificación (valor absoluto de la pendiente máxima en la fase exponencial, dpH/dt).

λ: Tiempo de la fase de latencia (minutos, según datos experimentales).

e: Constante de Euler

c) Estimación de los parámetros cinéticos

A partir del ajuste del modelo de Gompertz modificado se obtuvieron los parámetros cinéticos *pH_0, pH_∞, Vm y λ* para cada condición isotérmica. Estos parámetros permitieron

caracterizar la acidificación del kéfir en cada temperatura evaluada y reconocer cómo cambió la velocidad del proceso dentro del rango experimental.

d) Relación entre temperatura y velocidad de acidificación

La dependencia de la velocidad máxima de acidificación, V_m, con la temperatura fue evaluada mediante la ecuación de Arrhenius. En este estudio, dicha relación se aplicó sobre V_m debido a que este parámetro representa la mayor velocidad de descenso del pH en cada condición térmica Zajšek y Goršek (2010).

La ecuación empleada fue la siguiente:

$$V_m = Aexp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \tag{12}$$

Donde:

V_m: velocidad máxima de acidificación.

A: factor preexponencial.

Ea: energía de activación aparente.

R: constante universal de los gases, 8.314 J/mol·K.

T: temperatura absoluta, expresada en Kelvin.

e) Linealización de la ecuación de Arrhenius

La ecuación anterior (12) fue transformada a su forma lineal:

$$\ln(V_m) = \ln(A) - \frac{E_a}{RT} \tag{13}$$

A partir de esta relación, se construyó la gráfica de $\ln(V_m)$ frente a $1/T$, y la pendiente obtenida por regresión lineal permitió estimar el valor de E_a. Esta estimación se realizó dentro del rango térmico evaluado, por lo que el parámetro fue interpretado como una energía de activación aparente asociada a la acidificación del sistema.

f) Construcción del modelo diferencial

Con los parámetros cinéticos estimados mediante el ajuste del modelo de Gompertz modificado y la relación térmica de Arrhenius, se formuló la ecuación diferencial empleada para describir la variación del pH en el tiempo. La forma diferencial utilizada se obtuvo a partir del modelo de Gompertz modificado, considerando los parámetros cinéticos definidos

para el proceso de acidificación. Posteriormente, para incorporar el efecto de la temperatura, la velocidad máxima de acidificación V_m fue calculada en función de la temperatura mediante la ecuación de Arrhenius.

De esta manera, V_m dejó de emplearse únicamente como un valor fijo del ajuste isotérmico y pasó a actualizarse durante la integración numérica de acuerdo con la temperatura real registrada. Por ello, el modelo Gompertz-Arrhenius fue utilizado como una formulación diferencial extendida, en la cual el cambio del pH fue calculado paso a paso, actualizando V_m mediante Arrhenius con la temperatura registrada en cada minuto de fermentación.

$$\frac{dpH}{dt} = -V_m(T)exp\left\{\frac{V_m(T)e}{pH_0 - pH_\infty}(\lambda - t) + 2 - exp\left[\frac{V_m(T)e}{pH_0 - pH_\infty}(\lambda - t) + 1\right]\right\} \qquad (14)$$

Donde $V_m(T)$, definido a partir de la ecuación (12), representa la velocidad máxima de acidificación calculada mediante Arrhenius para la temperatura correspondiente en cada intervalo de tiempo. Esta formulación permitió representar el descenso del pH considerando la influencia de la temperatura sobre la velocidad de acidificación. Para las corridas isotérmicas, la temperatura fue controlada alrededor de un valor objetivo; no obstante, en la integración numérica se empleó la temperatura real registrada en cada intervalo de muestreo. Para el perfil térmico escalonado controlado, la temperatura también fue incorporada como una función del tiempo, considerando los cambios térmicos registrados durante la validación externa.

g) Resolución numérica del modelo

La ecuación diferencial Gompertz-Arrhenius fue resuelta mediante el método de Runge-Kutta de cuarto orden, utilizando una resolución temporal de 1 minuto. El uso de este método numérico resolutivo fue necesario porque, al incorporar la temperatura real registrada, la velocidad máxima de acidificación dejó de tratarse como un único valor constante y pasó a actualizarse durante la fermentación. Por ello, el pH teórico no se obtuvo únicamente por sustitución directa en la ecuación explícita de Gompertz, sino mediante la integración paso a paso de la ecuación diferencial de acidificación.

En cada paso de cálculo, el valor de $V_m(T)$ fue calculado mediante la ecuación de Arrhenius a partir de la temperatura real registrada, y con ello se estimó el cambio del pH respecto al tiempo. Este procedimiento permitió calcular la trayectoria teórica del pH de manera secuencial, partiendo del pH inicial experimental y avanzando paso a paso durante

la fermentación. Los valores obtenidos fueron denominados pH teórico o pH estimado por el modelo Gompertz-Arrhenius. Posteriormente, estos valores fueron comparados con el pH experimental tratado para evaluar el desempeño del modelo matemático diferencial.

4.8.3. Modelamiento híbrido matemático–computacional

El modelamiento híbrido matemático-computacional se desarrolló con el propósito de mejorar la capacidad predictiva del modelo matemático diferencial, especialmente frente a condiciones de operación donde el comportamiento experimental no fue descrito completamente por la formulación Gompertz-Arrhenius. Para ello, se trabajó bajo un enfoque de caja gris, en el cual el modelo matemático se mantuvo como base cinética del sistema, mientras que una red neuronal de tipo perceptrón multicapa (MLP) fue incorporada como módulo correctivo a partir de los datos experimentales. Este tipo de enfoque ha sido reportado en la literatura de bioprocesos como una alternativa para complementar modelos matemáticos cuando existen efectos no lineales, incertidumbre experimental o variaciones que no han sido representadas explícitamente en el modelo base (Lee et al., 2020; Setoodeh et al., 2012; Agharafeie et al., 2023).

En este estudio, el modelo híbrido se implementó bajo un esquema de corrección residual de salida. La red neuronal no modificó la estructura del modelo matemático diferencial ni reemplazó la interpretación cinética del sistema, sino que fue entrenada para estimar la diferencia entre el pH experimental y el pH calculado por el modelo Gompertz-Arrhenius. De esta manera, el modelo matemático conservó su función principal como representación del proceso de acidificación, mientras que la red neuronal aportó una corrección basada en los errores observados durante el ajuste experimental.

El modelo matemático diferencial proporcionó una estimación del comportamiento del pH en función del tiempo, representado como $pH_{\text{teórico}}(t)$. A partir de esta estimación, se calculó el error residual en cada instante mediante la siguiente expresión:

$$e_{real}(t) = pH_{\text{experimental}} - pH_{\text{teórico}}(t) \tag{15}$$

Donde $pH_{\text{experimental}}(t)$ corresponde al valor experimental medido y $pH_{\text{teórico}}(t)$ al valor obtenido mediante el modelo matemático diferencial. Este error residual fue utilizado como variable objetivo para el entrenamiento de la red neuronal MLP. Las variables de entrada consideradas fueron el tiempo de fermentación, tiempo normalizado, la temperatura registrada en cada instante, el valor de pH estimado por el modelo diferencial y la derivada

del pH estimado por el modelo teórico. La relación aprendida por la red se expresó de la siguiente manera:

$$e_{MLP}(t) = f_{MLP}[t(min), t(normalizado), T(t), pH_{\text{teórico}}(t), \text{dpH}_{\text{teórico}}/\text{dt}] \quad (16)$$

Donde $e_{MLP}(t)$ representa el error residual estimado por la red neuronal, t corresponde al tiempo de fermentación, t normalizado es la ratio temporal para homogenizar las lecturas en el tiempo, $T(t)$ a la temperatura registrada en cada instante, $pH_{\text{teórico}}(t)$ al valor calculado por el modelo Gompertz-Arrhenius y la derivada del $pH_{\text{teórico}}(t)$ respecto al tiempo.

Finalmente, la predicción del modelo híbrido se obtuvo mediante la suma del pH estimado por el modelo matemático y la corrección residual calculada por la red neuronal:

$$pH_{\text{híbrido}} = pH_{\text{teórico}} + e_{MLP}(t) \quad (17)$$

Este planteamiento permitió separar claramente el componente matemático del componente correctivo. Así, fue posible comparar el desempeño del modelo Gompertz-Arrhenius frente al modelo híbrido y evaluar si la corrección residual mejoraba la predicción del descenso del pH. Además, al no modificar la ecuación diferencial original, se mantuvo la estabilidad del modelo base y se evitó añadir complejidad innecesaria a la resolución numérica, criterio consistente con aplicaciones prácticas de modelamiento híbrido en bioprocesos (Lee et al., 2020; Setoodeh et al., 2012; Agharafeie et al., 2023).

a) Selección de datos para el entrenamiento del modelo híbrido

Se utilizaron los datos experimentales tratados correspondientes a las corridas isotérmicas realizadas a 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C. Estas corridas fueron seleccionadas porque permitieron estimar previamente el pH teórico mediante el modelo diferencial Gompertz-Arrhenius y, a partir de ello, calcular el error residual que aprendió la red neuronal. La corrida con perfil térmico escalonado no fue utilizada durante el entrenamiento, ya que se reservó exclusivamente para la validación externa ciega del modelo híbrido.

A partir de cada registro experimental se construyó un vector de entrada compuesto por cinco variables: el tiempo de fermentación, el tiempo normalizado, la temperatura real registrada en cada instante, el $pH_{teórico}$ calculado por el modelo Gompertz-Arrhenius, y la derivada local del pH teórico $dpH_{teórico}/dt$. La variable de salida de la red fue el residual real,

definido como la diferencia entre el pH experimental tratado y el pH teórico del modelo matemático, tal como se encuentra en la ecuación (15).

- ✓ t: tiempo de fermentación (min).
- ✓ t_{norm}: tiempo normalizado, entre 0 y 1, empleado para comparar corridas con diferente duración.
- ✓ $T(t)$: temperatura real registrada en cada instante de fermentación.
- ✓ $pH_{\text{teórico}}(t)$: valor estimado por el modelo matemático diferencial.
- ✓ $\frac{dpH_{teórico}}{dt}$: $derivada\ local\ del\ pH\ del\ modelo\ teórico$ respecto al tiempo
- ✓ $e_{real}(t)$: error residual definido como la diferencia entre el valor de pH experimental y el valor de pH teórico, según la ecuación (15).

De esta manera, la red neuronal no fue entrenada para reemplazar al modelo matemático, sino para aprender la desviación residual que este presentó frente a los datos experimentales.

b) Diseño de la red neuronal (MLP)

Se empleó una red neuronal de tipo perceptrón multicapa debido a su capacidad para aproximar relaciones no lineales entre variables continuas. En este estudio, la MLP fue utilizada como un módulo correctivo del modelo Gompertz-Arrhenius, por lo que su función no fue predecir el pH desde cero, sino estimar el residual del modelo matemático en cada instante de fermentación.

La arquitectura final seleccionada estuvo conformada por una capa de entrada con cinco variables, dos capas ocultas y una capa de salida. La primera capa oculta estuvo compuesta por 8 neuronas y la segunda por 4 neuronas, utilizando como función de activación la tangente hiperbólica, tanh. La capa de salida estuvo formada por una neurona lineal, encargada de estimar el residual calculado por la red $e_{MLP}(t)$.

La arquitectura utilizada fue:

- ✓ Capa de entrada: 5 neuronas.

$$\left[t, t_{norm}, T(t),\ pH_{teórico}(t), \frac{dpH_{teórico}}{dt}\right]$$

- ✓ Capas ocultas: dos capas ocultas, primera capa con 8 neuronas y la segunda capa con 4 neuronas.

- ✓ Función de activación en capas ocultas: tangente hiperbólica, tanh.
- ✓ Capa de salida: 1 neurona lineal

$$[e_{MLP}(t)]$$

Esta configuración permitió trabajar con una red de complejidad moderada, adecuada para capturar la desviación del modelo matemático sin utilizar una arquitectura excesivamente grande para el tamaño del conjunto de datos disponible. Además, al emplearse una MLP residual, se conservó la interpretación del modelo Gompertz-Arrhenius y se incorporó la red únicamente como una corrección computacional.

c) Estrategia de entrenamiento

Antes del entrenamiento, las variables de entrada fueron estandarizadas mediante *StandardScaler*, con la finalidad de colocarlas en escalas comparables. Este paso fue necesario porque las variables presentaron unidades y rangos diferentes, como minutos, grados Celsius, pH y derivadas de pH. La estandarización evitó que una variable con mayor magnitud numérica, como el tiempo de fermentación, dominara el ajuste de los pesos internos de la red.

El ajuste de la red neuronal se realizó mediante el optimizador Adam, utilizando el error cuadrático medio como función de pérdida. Durante el entrenamiento, la red comparó el residual real $e_{\text{real}}(t)$ con el residual estimado $e_{MLP}(t)$. A partir de esta diferencia, el algoritmo ajustó progresivamente los pesos y sesgos internos de la red, con el objetivo de reducir el error entre ambos valores.

La función de pérdida empleada fue:

$$MSE = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(e_{\text{real},i} - e_{MLP,i})^2 \tag{18}$$

donde $e_{\text{real},i}$ corresponde al residual calculado a partir de los datos experimentales y $e_{MLP,i}$ corresponde al residual estimado por la red neuronal para cada observación i.

d) Control de sobreajuste

Para reducir el riesgo de sobreajuste, se aplicaron tres criterios durante el entrenamiento de la red neuronal. En primer lugar, se empleó una arquitectura de complejidad moderada, conformada por dos capas ocultas de 8 y 4 neuronas, evitando una red excesivamente grande para el número de datos disponibles. En segundo lugar, se utilizó

regularización mediante el parámetro α = 0.005, lo cual penalizó soluciones con pesos internos demasiado altos y favoreció un aprendizaje más estable. En tercer lugar, se activó la detención temprana del entrenamiento.

La detención temprana funcionó como un mecanismo de monitoreo interno del aprendizaje. Para ello, el algoritmo reservó internamente el 15 % de los datos isotérmicos con el propósito de verificar si la pérdida continuaba mejorando durante las iteraciones. Cuando no se observó una mejora relevante después de 100 iteraciones consecutivas, el entrenamiento se detuvo automáticamente.

Esta fracción interna no fue empleada como validación externa ni como prueba independiente del modelo, sino únicamente como criterio de control durante el ajuste de los pesos y sesgos de la red. De esta manera, se evitó continuar el entrenamiento cuando la red ya no mostraba una mejora significativa, reduciendo la posibilidad de que aprendiera variaciones sobreestimadas del conjunto de datos.

e) Implementación del modelo híbrido

Una vez entrenada la red neuronal, el modelo híbrido en la etapa de entrenamiento se implementó secuencialmente de la siguiente manera:

- ✓ Se ingresaron únicamente los valores de entrada a la red entrenada:

$$\left[t, t_{norm}, T(t), pH_{teórico}(t), \frac{dpH_{teórico}}{dt}\right]$$

- ✓ Con el fin de estimar el error residual $e_{MLP}(t)$ mediante la red neuronal de tipo MLP, según la ecuación (16).
- ✓ Finalmente, se obtuvo el valor del $pH_{\text{híbrido}}$ mediante la ecuación (17).

De esta manera, el modelo Gompertz-Arrhenius proporcionó la trayectoria cinética base del descenso de pH, mientras que la MLP incorporó una corrección residual aprendida a partir de los datos experimentales isotérmicos. Por ello, el modelo híbrido no reemplazó al modelo matemático, sino que lo complementó mediante una corrección computacional aplicada sobre sus desviaciones.

Luego, los valores de $pH_{\text{híbrido}}(t)$ fueron comparados con el pH experimental tratado para evaluar el ajuste interno del modelo en las corridas isotérmicas. Posteriormente, la misma red entrenada fue aplicada a la corrida escalonada independiente, la cual no participó en el entrenamiento, con el fin de realizar la validación externa ciega del modelo híbrido.

4.8.4. Validación externa ciega de modelos

La validación externa ciega tuvo como objetivo evaluar de forma comparativa el desempeño predictivo del modelo matemático diferencial y del modelo híbrido matemático-computacional bajo una condición de fermentación con temperatura variable que no fue utilizada durante la etapa de ajuste ni durante el entrenamiento de la red neuronal. Para ello, se emplearon exclusivamente los datos correspondientes al lote 9, desarrollado bajo un perfil térmico escalonado controlado. En esta corrida, la temperatura fue modificada por tramos dentro del rango experimental establecido según la tabla 1. Estos resultados experimentales fueron reservados como un conjunto externo independiente, lo que permitió evaluar la capacidad de generalización de los modelos frente a una condición distinta a las utilizadas en su calibración.

a) Organización del conjunto de datos de validación

Se seleccionaron los datos experimentales correspondientes al lote 9, incluyendo la serie temporal de temperatura real registrada, $T(t)$, y el pH experimental tratado durante toda la trayectoria de fermentación. Este lote no fue incluido en la estimación de parámetros cinéticos ni en el entrenamiento del modelo MLP, por lo que funcionó como conjunto externo para la validación ciega.

b) Predicción con el modelo matemático diferencial

La serie de temperatura experimental del lote 9, registrada minuto a minuto, fue utilizada como entrada del modelo matemático diferencial Gompertz-Arrhenius. Para esta condición de validación, los parámetros pH_∞ y λ fueron estimados mediante interpolación local a partir de los valores obtenidos en las corridas isotérmicas, considerando la temperatura promedio real del perfil térmico escalonado, según las tablas 4 y 9. El pH_0 experimental del lote 9 fue utilizado únicamente como condición inicial para iniciar la integración numérica, mientras que $V_m(T)$ fue calculado en cada paso de cálculo mediante la ecuación de Arrhenius, empleando la temperatura real registrada durante la fermentación.

Con estos elementos, la ecuación diferencial Gompertz-Arrhenius fue resuelta mediante el método de Runge-Kutta de cuarto orden, obteniéndose la trayectoria de pH teórico para la condición de validación externa. Esta predicción fue comparada con el pH experimental tratado para evaluar el desempeño del modelo matemático bajo el perfil térmico escalonado controlado.

c) Evaluación del modelo matemático diferencial

Los valores de pH teórico fueron comparados con los valores de pH experimental, evaluando el desempeño predictivo mediante las siguientes métricas:

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(pH_{\text{real},i} - pH_{\text{teorico},i})^2} \tag{19}$$

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^{n}(pH_{real,i} - pH_{teorico,i})^2}{\sum_{i=1}^{n}(pH_{real,i} - \overline{pH_{real}})^2} \tag{20}$$

$$MAE = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}|pH_{\text{real},i} - pH_{\text{teorico},i}| \tag{21}$$

d) Predicción con el modelo híbrido

Para la predicción con el modelo híbrido se empleó la misma trayectoria de temperatura real registrada, $T(t)$. En primer lugar, el modelo matemático diferencial Gompertz-Arrhenius, resuelto mediante RK4, generó el valor de $pH_{\text{teorico}}(t)$. Luego, este valor fue utilizado como entrada de la red neuronal MLP, junto con el tiempo normalizado de fermentación, el tiempo registrado real, la derivada local del pH teórico respecto al tiempo y la temperatura registrada en cada instante. A partir de estas variables, la red estimó el error residual $e_{MLP}(t)$. Finalmente, el pH del modelo híbrido se obtuvo mediante la ecuación (17) utilizando el error residual obtenido por la red MLP.

e) Evaluación del modelo híbrido

Los valores de pH predichos por el modelo híbrido fueron comparados con los valores experimentales, utilizando las mismas métricas de las ecuaciones (19), (20) y (21).

f) Comparación de la capacidad predictiva

Finalmente, se compararon los indicadores obtenidos para ambos modelos con el fin de evaluar la mejora en la capacidad predictiva del modelo híbrido respecto al modelo matemático diferencial bajo condiciones de operación no utilizadas durante su entrenamiento.

V. RESULTADOS

5.1. Registro de datos durante las corridas experimentales

Para cada corrida experimental se registraron las variables de temperatura, pH y tiempo de fermentación.

La tabla 3 presenta el resumen experimental de las corridas isotérmicas realizadas a 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C, considerando las réplicas individuales y el promedio de cada temperatura. Se observa que la temperatura real promedio se mantuvo cercana a la temperatura objetivo en todos los ensayos, lo que evidenció un adecuado control térmico durante la fermentación. Asimismo, el pH final tratado disminuyó conforme aumentó la temperatura, pasando de un promedio de 4.36 a 22.5°C hasta 3.72 a 31.5°C.

Tabla 3. pH inicial, pH final y duración experimental de las corridas isotérmicas a diferentes temperaturas objetivo.

Temperatura (°C)	Tipo	Temperatura real promedio (°C)	pH inicial tratado	pH final tratado	Minutos	Horas
22.5	Replica 1	22.60	6.24	4.38	1030	17.2
22.5	Replica 2	22.62	6.21	4.33	1030	17.2
22.5	Promedio	22.61	6.22	4.36	1030	17.2
25.5	Replica 1	25.49	6.27	4.11	970	16.2
25.5	Replica 2	25.49	6.25	4.14	970	16.2
25.5	Promedio	25.49	6.26	4.13	970	16.2
28.5	Replica 1	28.53	6.17	4.07	920	15.3
28.5	Replica 2	28.58	6.15	4.01	920	15.3
28.5	Promedio	28.55	6.16	4.04	920	15.3
31.5	Replica 1	31.47	6.08	3.73	820	13.7
31.5	Replica 2	31.56	6.17	3.71	820	13.7
31.5	Promedio	31.51	6.13	3.72	820	13.7

En la figura 3 se presentan las curvas de descenso de pH obtenidas en las réplicas R1 y R^2 para cada temperatura isotérmica evaluada. Los puntos representan las lecturas crudas registradas por el sensor, mientras que las líneas continuas corresponden a las señales tratadas después del preprocesamiento de datos. En general, ambas réplicas mostraron la misma tendencia de acidificación, aunque con pequeñas diferencias atribuibles a la variabilidad experimental propia del proceso fermentativo y de la medición instrumental. Asimismo, se observó que el incremento de temperatura favoreció una disminución más rápida del pH, especialmente a 31.5°C, mientras que a 22.5°C el descenso fue más lento.

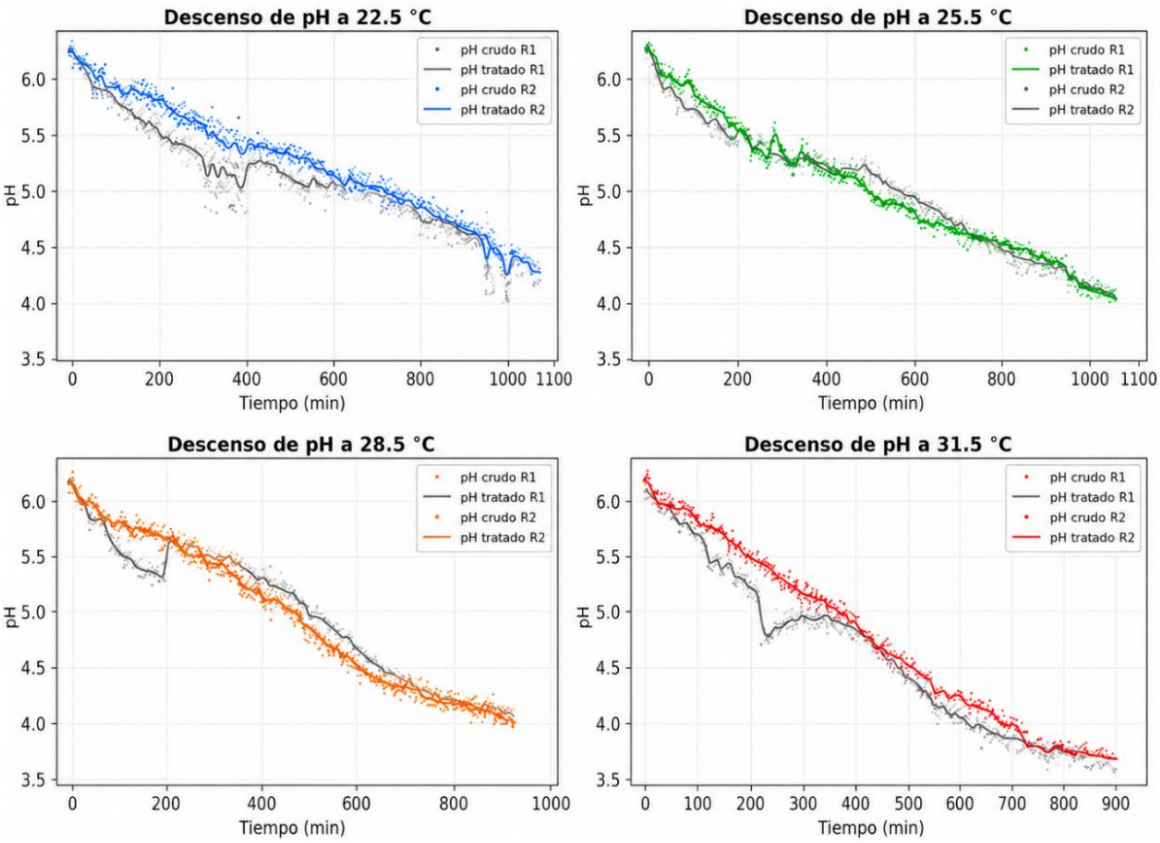

Figura 3. Curvas de descenso de pH durante la fermentación bajo condiciones isotérmicas de 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C.

En la figura 4 se presentan los perfiles térmicos reales registrados en las réplicas R1 y R^2 para cada temperatura isotérmica evaluada, junto con la temperatura objetivo correspondiente. En general, las corridas mostraron una rápida aproximación al valor programado y una posterior estabilización alrededor de la condición establecida. Previo a la estabilización se observaron variaciones que fueron más evidentes durante los primeros minutos, antes de alcanzar la zona de operación estable.

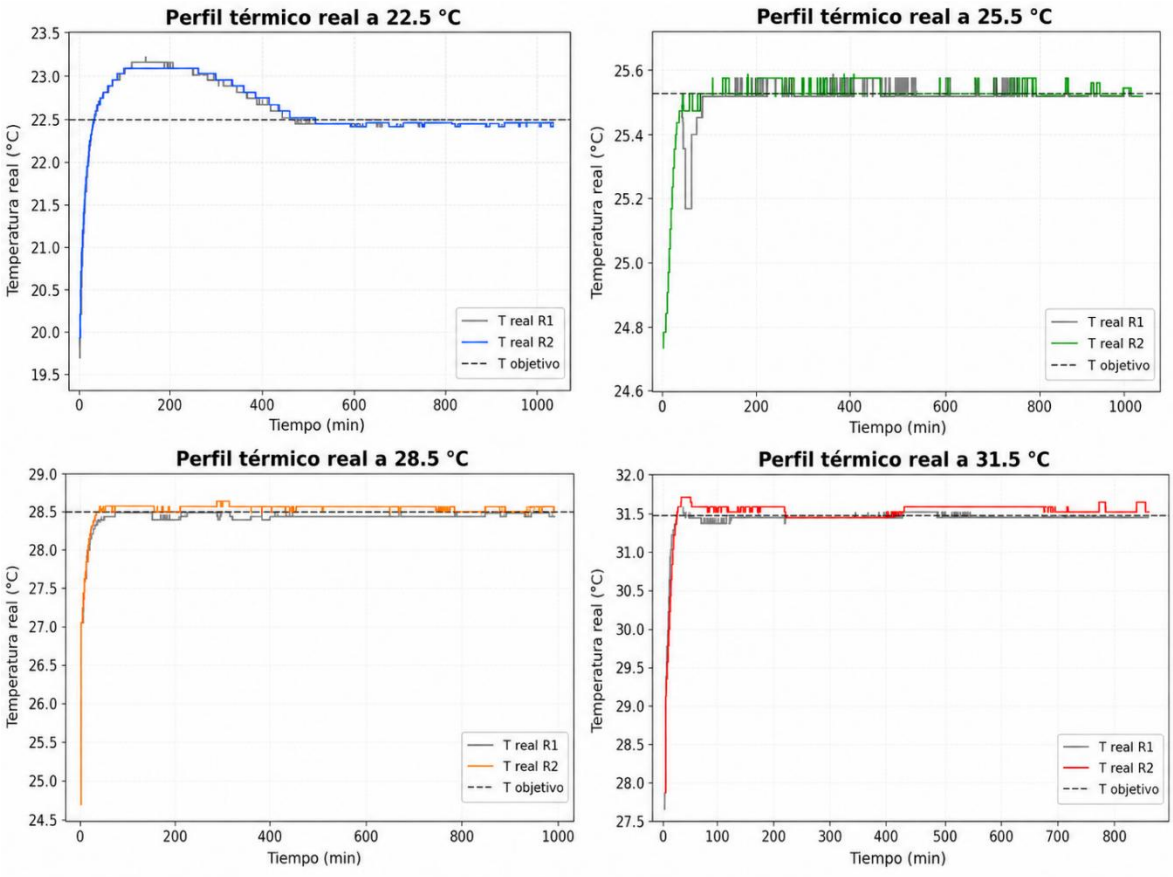

Figura 4. Perfiles térmicos reales registrados durante la fermentación bajo condiciones isotérmicas de 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C.

5.2. Ajuste del modelo de Gompertz modificado

Para cada corrida isotérmica, el modelo de Gompertz modificado fue ajustado mediante regresión no lineal, estimándose los parámetros *pHo, pH∞, Vm y λ*. Estos parámetros permitieron describir la trayectoria de acidificación del kéfir de leche en función del tiempo, considerando como respuesta principal el descenso del pH experimental tratado.

La tabla 4 presenta los parámetros cinéticos obtenidos para cada réplica y el promedio correspondiente en las temperaturas de 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C. Se observó que la velocidad máxima de acidificación V_m aumentó conforme se incrementó la temperatura, pasando de un promedio de 2.30 × 10−3 pH/min a 22.5°C hasta 3.92×10^{-3} pH/min a 31.5°C. Asimismo, el tiempo de latencia λ disminuyó desde 24 min a 22.5°C hasta 7 min a 31.5°C, lo que evidenció que el proceso de fermentación inició con mayor rapidez a temperaturas más elevadas.

Tabla 4. Parámetros cinéticos y métricas de ajuste del modelo de Gompertz modificado para las corridas isotérmicas evaluadas.

Temperatura (°C)	Tipo	pH inicial Gompertz	pH final Gompertz	Vm Gompertz (pH/min)	Fase de latencia λ Gompertz (min)	R^2	RMSE	MAE
22.5	Replica 1	6.24	4.38	2.51E-03	21	0.831	0.1825	0.1563
22.5	Replica 2	6.21	4.33	2.13E-03	25	0.961	0.0983	0.0828
22.5	Promedio	6.22	4.36	2.30E-03	24	0.917	0.1344	0.1169
25.5	Replica 1	6.27	4.11	2.88E-03	15	0.963	0.1058	0.0846
25.5	Replica 2	6.25	4.14	2.71E-03	11	0.911	0.1542	0.1314
25.5	Promedio	6.26	4.13	2.79E-03	13	0.945	0.1238	0.1022
28.5	Replica 1	6.17	4.07	2.85E-03	10	0.905	0.1806	0.1546
28.5	Replica 2	6.15	4.01	2.98E-03	10	0.977	0.0995	0.0886
28.5	Promedio	6.16	4.04	2.91E-03	10	0.957	0.1281	0.1178
31.5	Replica 1	6.08	3.73	3.86E-03	6	0.947	0.1526	0.1261
31.5	Replica 2	6.17	3.71	3.96E-03	6	0.974	0.1257	0.1102
31.5	Promedio	6.13	3.72	3.92E-03	7	0.975	0.1128	0.0965

La figura 5 muestra las curvas representativas del descenso de pH durante la fermentación isotérmica que presentaron un mejor ajuste al modelo de Gompertz. Los puntos corresponden a las lecturas crudas registradas por el sensor, mientras que las líneas continuas representan los datos tratados después del preprocesamiento. Además, se evidenció que el descenso fue más rápido a temperaturas mayores, especialmente a 31.5°C, donde el pH alcanzó valores finales más bajos en menor tiempo. Este comportamiento fue coherente con los parámetros de la tabla 4, donde el incremento de V_m y la reducción de λ reflejaron una mayor actividad de fermentación bajo condiciones térmicas más elevadas.

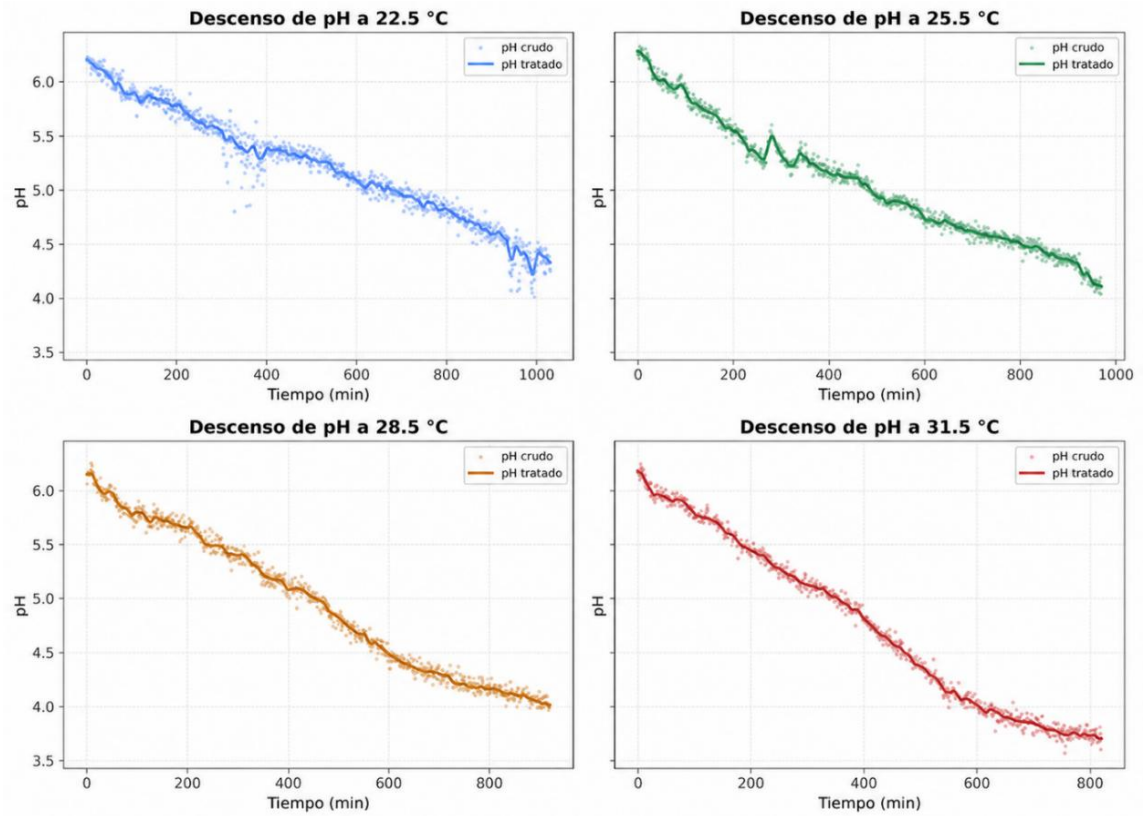

Figura 5. Curvas representativas del descenso de pH durante la fermentación bajo condiciones isotérmicas de 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C.

En la figura 6, las líneas continuas representan la temperatura real registrada durante cada corrida isotérmica, mientras que las líneas discontinuas indican la temperatura objetivo para cada corrida. En general, los perfiles mostraron una rápida aproximación al valor programado y una posterior estabilización alrededor de la condición térmica definida. No obstante, se observaron pequeñas desviaciones respecto a la línea objetivo, principalmente durante la etapa inicial de calentamiento y en algunos tramos de control térmico.

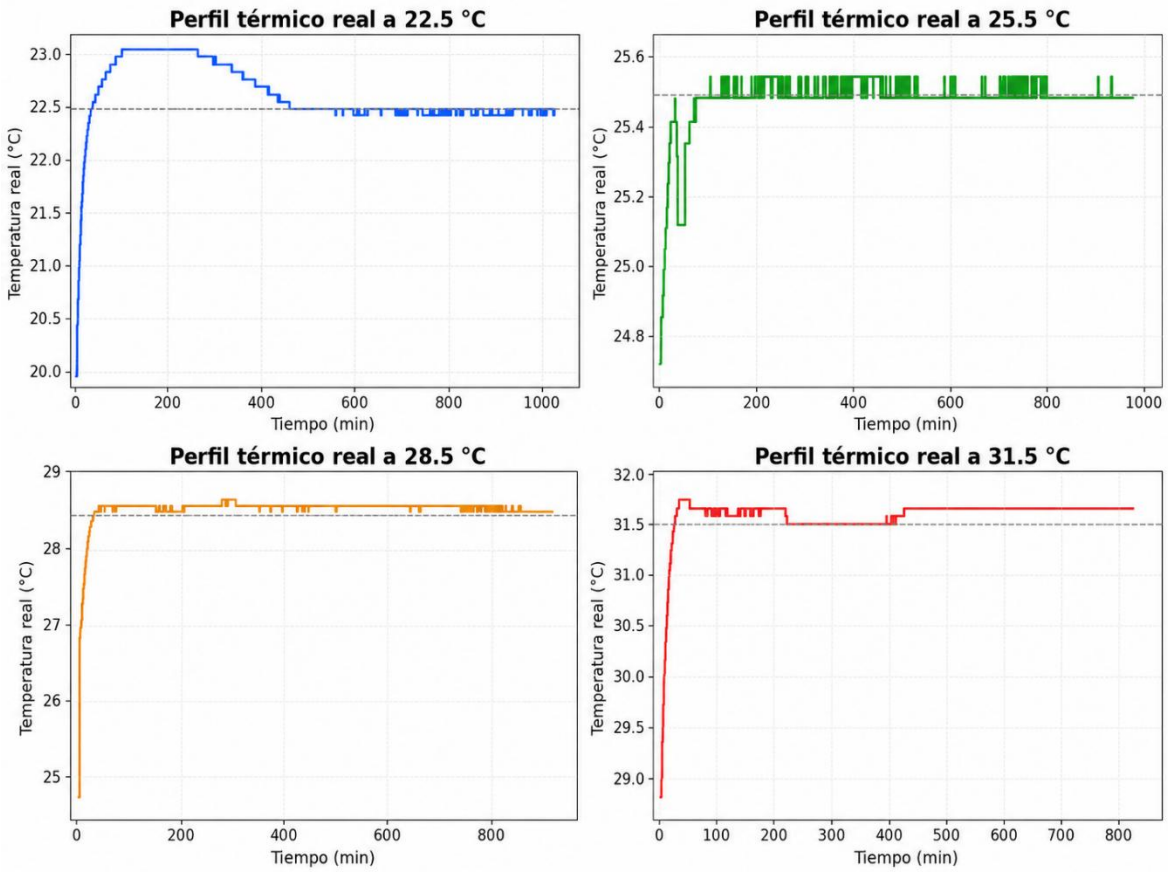

Figura 6. Perfiles térmicos reales registrados durante las corridas isotérmicas de fermentación a 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C.

En la figura 7, la comparación global permitió observar con claridad el efecto de la temperatura sobre la velocidad de fermentación. En general, las corridas realizadas a temperaturas más altas presentaron un descenso de pH más rápido y alcanzaron valores finales más bajos en menor tiempo, especialmente a 31.5°C. En cambio, a 22.5°C la acidificación fue más lenta y prolongada, manteniendo valores de pH superiores durante gran parte del proceso.

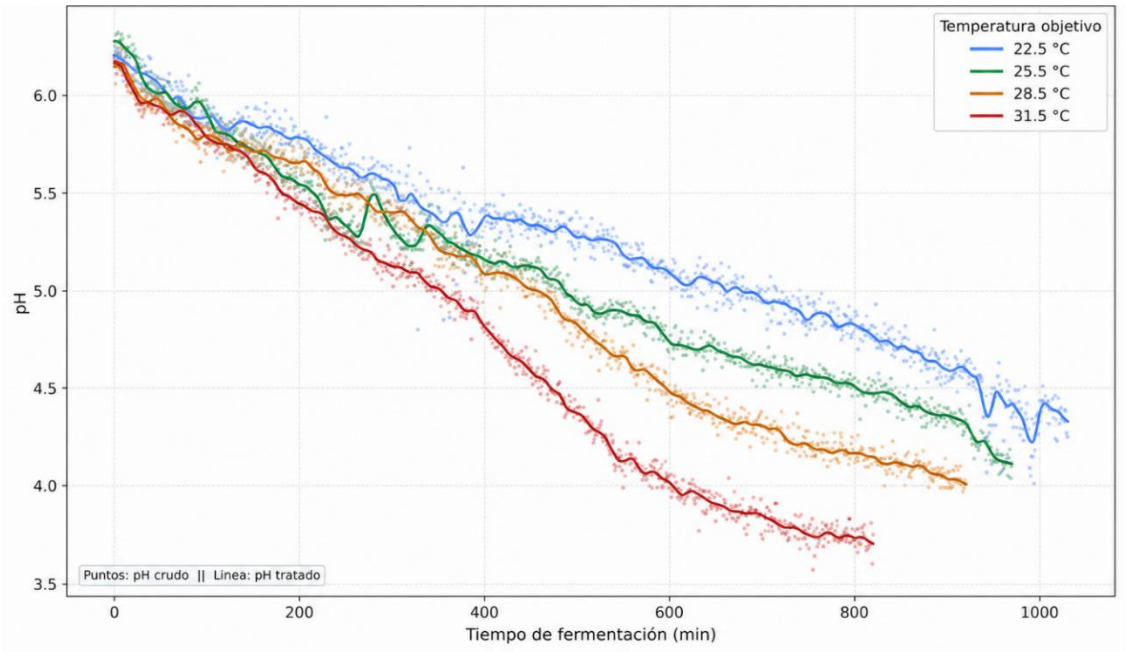

Figura 7. Comparación global del descenso de pH durante la fermentación isotérmica a 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C.

5.3. Evaluación de la relación térmica de Arrhenius

Los valores de velocidad máxima de acidificación V_m obtenidos a partir del modelo de Gompertz modificado fueron relacionados con la temperatura mediante la ecuación de Arrhenius en su forma linealizada, considerando la relación entre $ln(V_m)$ y $1/T$. Para esta linealización se emplearon los valores de V_m correspondientes a las curvas seleccionadas por continuidad de señal, estabilidad térmica y ausencia de fallas evidentes de medición. Estos valores fueron utilizados para establecer la relación térmica $V_m(T)$, aplicada posteriormente en la integración del modelo Gompertz-Arrhenius.

Este análisis permitió estimar la energía de activación aparente asociada a la velocidad máxima de acidificación y evaluar el grado de ajuste de la relación térmica mediante el coeficiente de determinación R^2. La tabla 5 resume los valores de temperatura real, V_m, $ln(V_m)$ y $(1/T)$ utilizados para la linealización de Arrhenius. Se observó que V_m aumentó conforme se incrementó la temperatura, pasando de 2.1269×10−3 pH/min a 22.5 °C hasta 3.9643×10−3 pH/min a 31.5 °C. Este comportamiento indicó que la velocidad máxima de acidificación fue mayor a temperaturas más elevadas dentro del rango experimental evaluado.

Tabla 5. Parámetros obtenidos de la ecuación de Arrhenius.

Temperatura (°C)	Temperatura real (°C)	$1/T$ (K^{-1})	V_m Gompertz (pH/min)	$\ln(V_m)$	E_a (KJ/mol)	A preexponencial	R^2
22.5	22.62	3.3810×10^{-3}	2.1269×10^{-3}	-6.1531	47.4485	526934.64	0.9224
25.5	25.49	3.3486×10^{-3}	2.8807×10^{-3}	-5.8497			
28.5	28.58	3.3142×10^{-3}	2.9753×10^{-3}	-5.8174			
31.5	31.56	3.2818×10^{-3}	3.9643×10^{-3}	-5.5304			

La figura 8 muestra la linealización de Arrhenius empleada para estimar la energía de activación aparente asociada a la velocidad máxima de acidificación. En el eje *x* se representó $1/T\times10^3$ en K^{-1}, mientras que en el eje *y* se presentó $\ln(V_m)$ que fue obtenido a partir de los parámetros del modelo de Gompertz modificado para cada temperatura isotérmica. La regresión lineal presentó un coeficiente de determinación de $R^2 = 0.9224$ y una energía de activación aparente de 47.45 kJ/mol, lo que evidenció una relación térmica aceptable entre la temperatura y la velocidad máxima de acidificación en el rango de 22.5 a 31.5 C.

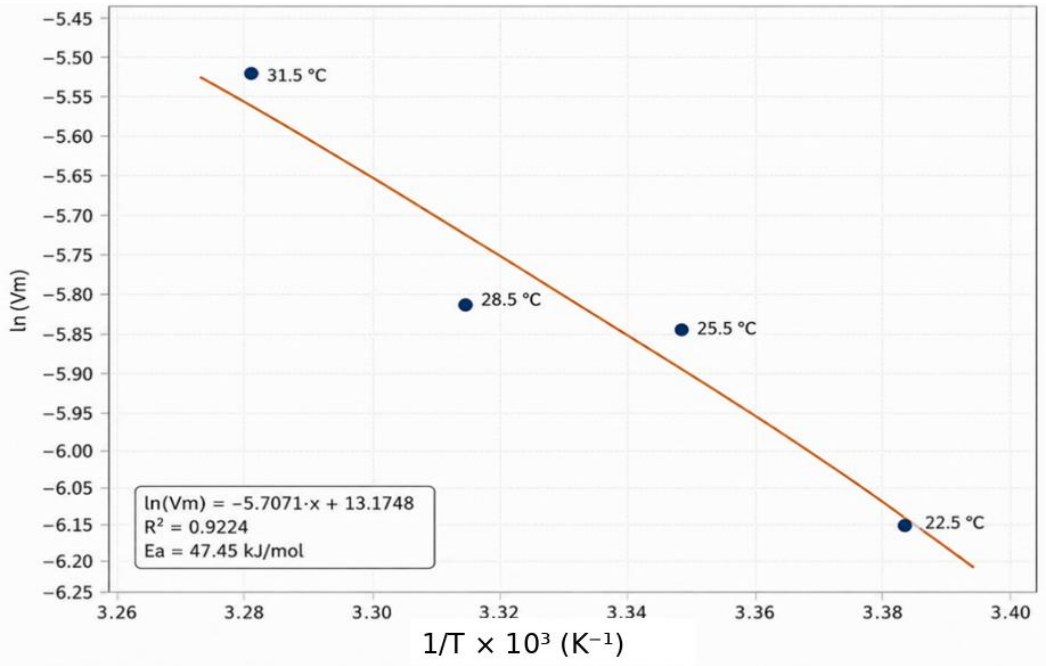

Figura 8. Linealización de Arrhenius para la estimación de la energía de activación aparente asociada a la velocidad máxima.

5.4. Determinación del pH teórico para cada temperatura

El pH teórico para cada condición isotérmica fue determinado mediante la resolución numérica del modelo diferencial Gompertz-Arrhenius. Para ello, se emplearon los parámetros cinéticos obtenidos previamente a partir del ajuste del modelo de Gompertz modificado y la relación de Arrhenius, con el fin de describir el efecto de la temperatura sobre la velocidad máxima de acidificación, V_m. La ecuación diferencial fue resuelta mediante el método de Runge-Kutta de cuarto orden, lo que permitió estimar la trayectoria del pH en función del tiempo para cada temperatura evaluada.

Como se observa en la tabla 6, el modelo Gompertz-Arrhenius permitió representar la tendencia general del descenso de pH en las cuatro condiciones isotérmicas. Sin embargo, se evidenciaron diferencias entre el pH final tratado y el pH final teórico, especialmente a 25.5°C y 31.5°C, donde se obtuvieron los mayores valores de RMSE y MAE. A 28.5°C se presentó el mejor ajuste del modelo matemático, con $R^2 = 0.9596$, mientras que a 25.5°C se observó el menor coeficiente de determinación, con $R^2 = 0.8234$. Estos resultados indicaron que el modelo cinético base logró describir la tendencia principal de acidificación, pero aún presentó desviaciones en determinadas temperaturas, lo que justificó la posterior incorporación de una corrección residual mediante MLP.

Tabla 6. pH final teórico y métricas de desempeño del modelo Gompertz-Arrhenius para las temperaturas isotérmicas evaluadas.

Temperatura (°C)	Temperatura real promedio (°C)	pH inicial tratado	pH final tratado	pH inicial Gompertz-Arrhenius	pH final Gompertz-Arrhenius	R^2	RMSE	MAE
22.5	22.62	6.21	4.33	6.21	4.61	0.9289	0.1325	0.1028
25.5	25.49	6.27	4.11	6.27	4.47	0.8234	0.2305	0.2110
28.5	28.58	6.15	4.01	6.15	4.27	0.9596	0.1306	0.1107
31.5	31.56	6.17	3.71	6.17	4.06	0.9192	0.2196	0.1804

5.5. Entrenamiento de la red neuronal y evaluación interna de modelos

La tabla 7 presenta los parámetros utilizados para el entrenamiento de la red neuronal tipo perceptrón multicapa (MLP). Esta red fue diseñada para corregir el error del modelo Gompertz-Arrhenius, utilizando como entradas el tiempo de fermentación, el tiempo normalizado, la temperatura real, el pH teórico y la derivada local del pH teórico. La salida de la red fue el residual real, calculado como la diferencia entre el pH tratado y el pH teórico.

Durante el entrenamiento, la red MLP, formada por dos capas ocultas de 8 y 4 neuronas, aprendió a estimar el residual del modelo matemático mediante la función de activación tanh y el optimizador Adam. La tasa de aprendizaje de 0.0005 permitió ajustar los pesos de forma gradual, mientras que el parámetro $\alpha = 0.005$ ayudó a reducir el riesgo de sobreajuste. Además, se empleó detención temprana con una fracción interna del 15 % de los datos para monitorear la mejora del entrenamiento, sin considerarla como validación externa. El valor del parámetro 42 descrito en la tabla fue utilizado para controlar la aleatoriedad del proceso computacional, principalmente en la inicialización de pesos y en la selección interna usada por la detención temprana. Este valor no tuvo significado físico ni cinético, pero permitió reproducir el entrenamiento bajo las mismas condiciones. Finalmente, el residual estimado por la MLP fue sumado al pH teórico para obtener el pH híbrido, el cual fue comparado con el pH experimental tratado para evaluar el ajuste interno del modelo.

Tabla 7. Parámetros considerados en el entrenamiento de la red neuronal de tipo MLP.

Parámetro	**Valor**
Tipo de red	Perceptrón multicapa residual
Capas ocultas de la red MLP	8 neuronas y 4 neuronas
Función de activación	tanh
Algoritmo de optimización	Adam
Parámetro de regularización alfa	0.005
Tasa de aprendizaje	0.0005
Número máximo de iteraciones	6000
Criterio de detención temprana	Activado
Fracción interna para detención temprana	15%
Número de iteraciones sin mejora	100
Variables de entrada	Tiempo (min) Tiempo (normalizado) Temperatura real (°C) pH teórico Gompertz-Arrhenius dpH/d*t* (derivada local del pH teórico)
Valor de aleatoriedad controlada	42
Variable de salida	Residual real = pH tratado - pH teórico

Como se observa en la tabla 8, el modelo híbrido Gompertz-MLP presentó un mejor ajuste interno que el modelo Gompertz-Arrhenius en todas las temperaturas evaluadas. Esto se evidenció por la reducción del MAE y RMSE, especialmente a 25.5°C y 31.5°C, donde el modelo matemático mostró mayores desviaciones. Además, el R^2 del modelo híbrido se

mantuvo por encima de 0.995 en todos los casos, indicando que la corrección residual aprendida por la MLP permitió acercar mejor el pH predicho al pH experimental tratado.

Tabla 8. Métricas de las temperaturas de los modelos en el entrenamiento.

Temperatura (°C)	Modelo	n	MAE	RMSE	R^2
22.5	Gompertz-Arrhenius	1031	0.1028	0.1325	0.9289
22.5	Híbrido Gompertz-MLP	1031	0.0237	0.0338	0.9954
25.5	Gompertz-Arrhenius	971	0.2110	0.2305	0.8234
25.5	Híbrido Gompertz-MLP	971	0.0260	0.0358	0.9957
28.5	Gompertz-Arrhenius	921	0.1107	0.1306	0.9596
28.5	Híbrido Gompertz-MLP	921	0.0168	0.0217	0.9989
31.5	Gompertz-Arrhenius	821	0.1804	0.2196	0.9192
31.5	Híbrido Gompertz-MLP	821	0.0140	0.0184	0.9994

La figura 9 permite visualizar la comparación de desempeño entre ambos modelos durante el ajuste interno en las cuatro temperaturas isotérmicas. La gráfica evidencia que la mejora del modelo híbrido fue consistente, ya que redujo simultáneamente el MAE y RMSE y mantuvo valores elevados de R^2. La diferencia más marcada se presentó a 25.5°C, donde el modelo base mostró mayor desviación y la corrección residual mediante MLP permitió recuperar la capacidad de ajuste frente al pH experimental tratado.

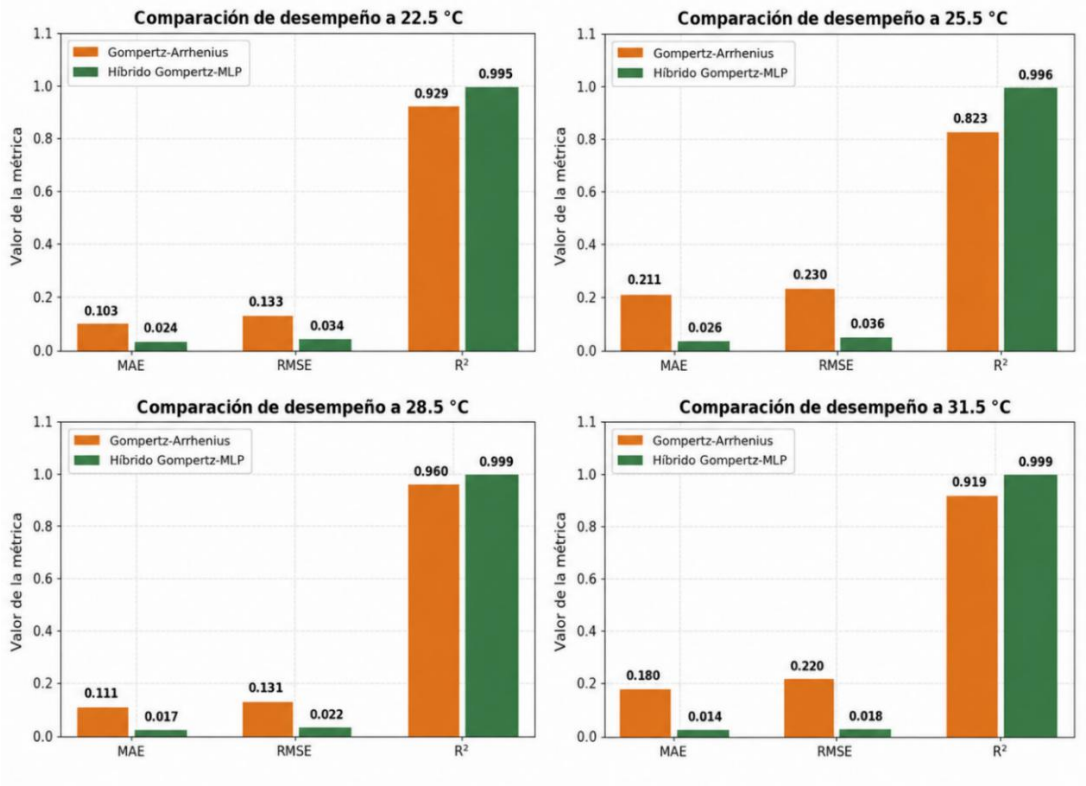

Figura 9. Comparación de las métricas de desempeño del modelo Gompertz-Arrhenius y del modelo híbrido Gompertz-MLP durante el entrenamiento en condiciones isotérmicas de 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C.

La figura 10 compara el pH experimental tratado con las predicciones obtenidas mediante el modelo Gompertz-Arrhenius y el modelo híbrido Gompertz-MLP en las cuatro condiciones isotérmicas evaluadas. La línea azul representa el comportamiento experimental del pH, la línea naranja corresponde al pH teórico calculado por el modelo Gompertz-Arrhenius-RK4 y la línea verde muestra la predicción híbrida obtenida al incorporar la corrección residual mediante MLP. En general, el modelo híbrido presentó una mayor cercanía a la curva experimental en todas las temperaturas, especialmente en los tramos donde el modelo matemático base tendió a separarse de la tendencia real de acidificación. Este comportamiento evidenció que la red neuronal logró aprender parte de las desviaciones sistemáticas del modelo cinético, mejorando la representación del descenso del pH durante las corridas isotérmicas.

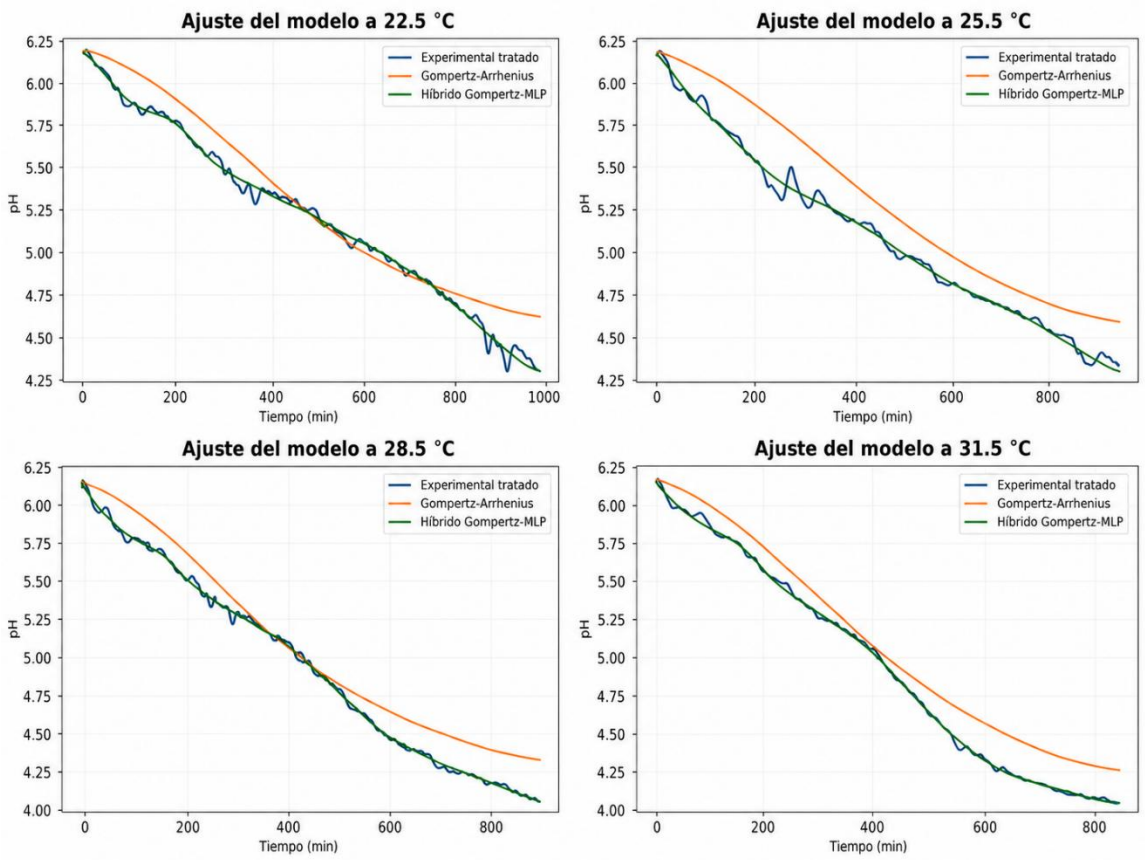

Figura 10. Comparación del pH experimental tratado frente al modelo Gompertz-Arrhenius y al modelo híbrido Gompertz-MLP durante las corridas isotérmicas a 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C.

La figura 11 evidencia que los residuos del modelo Gompertz-Arrhenius presentaron mayores desviaciones respecto a la línea cero, principalmente a 25.5°C y 31.5°C, donde el modelo base tendió a alejarse más del pH experimental tratado. En contraste, el modelo híbrido mantuvo residuos más próximos a cero durante la mayor parte de las corridas, lo que evidenció una mejor corrección del error del modelo matemático. Este resultado complementa las métricas de la tabla 8, ya que no solo muestra una reducción numérica del MAE y RMSE, sino también una mejora visual en la estabilidad del ajuste.

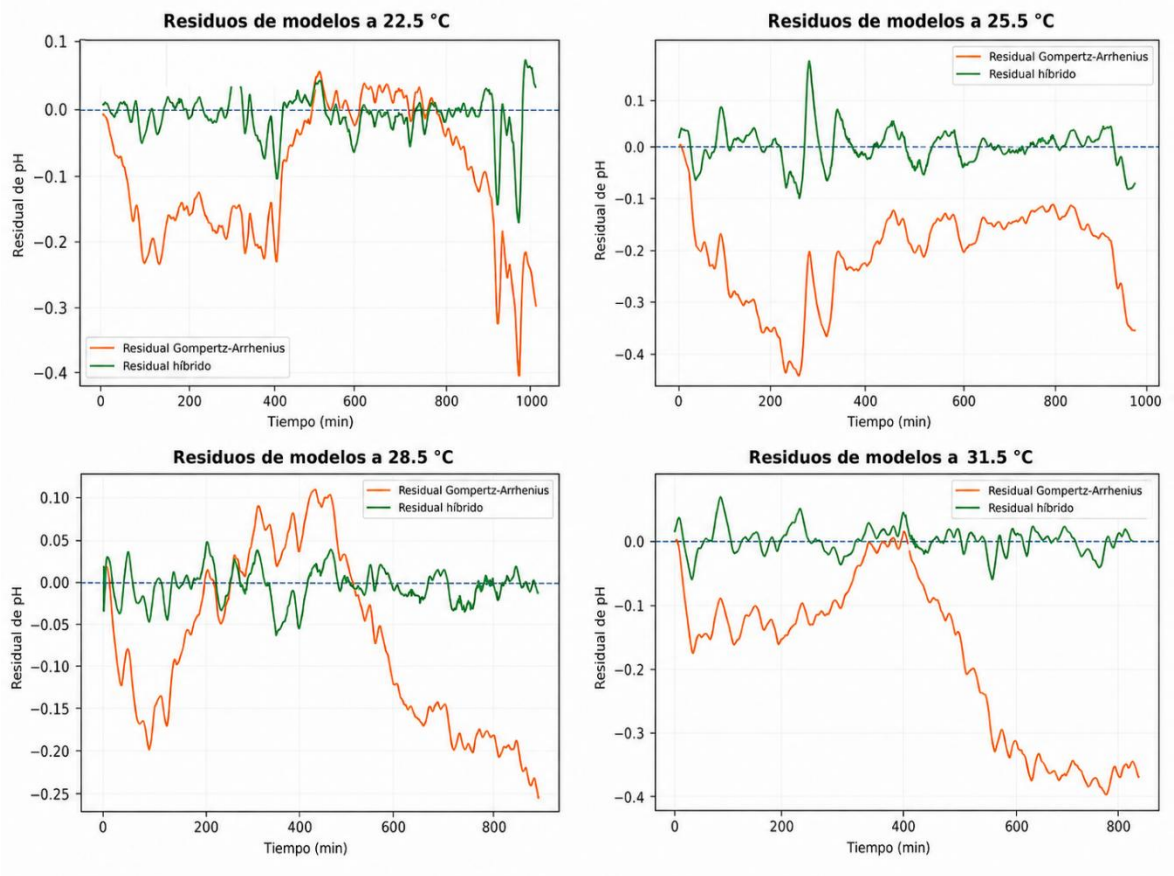

Figura 11. Variación de los residuos del modelo Gompertz-Arrhenius y del modelo híbrido Gompertz-MLP durante las corridas isotérmicas evaluadas. La línea naranja corresponde al residual del modelo matemático base, mientras que la línea verde representa el residual obtenido después de aplicar la corrección mediante MLP.

Los diagramas de caja de la figura 12 permitieron comparar la distribución de los residuos generados por el modelo Gompertz-Arrhenius y por el modelo híbrido Gompertz-MLP en cada temperatura isotérmica. En las cuatro condiciones evaluadas, el modelo híbrido presentó cajas más estrechas y medianas más cercanas a la línea cero, lo que indicó una menor dispersión del error y una mejor cercanía al pH experimental tratado. En contraste, el modelo Gompertz-Arrhenius mostró residuos más amplios y desplazados principalmente hacia valores negativos, especialmente a 25.5°C y 31.5°C, evidenciando una mayor desviación.

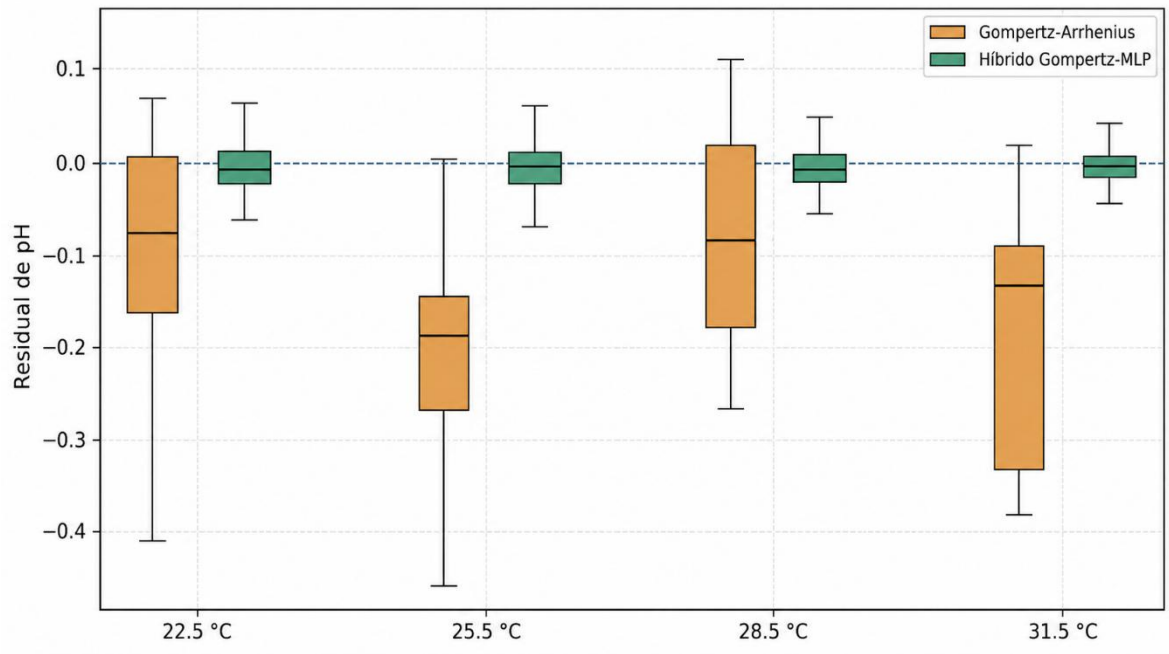

Figura 12. Distribución de residuos mediante diagrama de cajas del modelo Gompertz-Arrhenius y del modelo híbrido Gompertz-MLP durante el ajuste interno de las corridas isotérmicas a 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C.

En la figura 13, en las cuatro temperaturas se observan que los residuos del modelo híbrido se concentraron con mayor frecuencia alrededor de cero, lo que indica una menor diferencia entre el pH predicho y el pH experimental tratado. En cambio, el modelo Gompertz-Arrhenius presentó distribuciones más dispersas y desplazadas, principalmente hacia valores negativos, especialmente a 25.5°C y 31.5°C. Esto evidencia que el modelo base tendió a sobreestimar el pH en varios tramos de la fermentación.

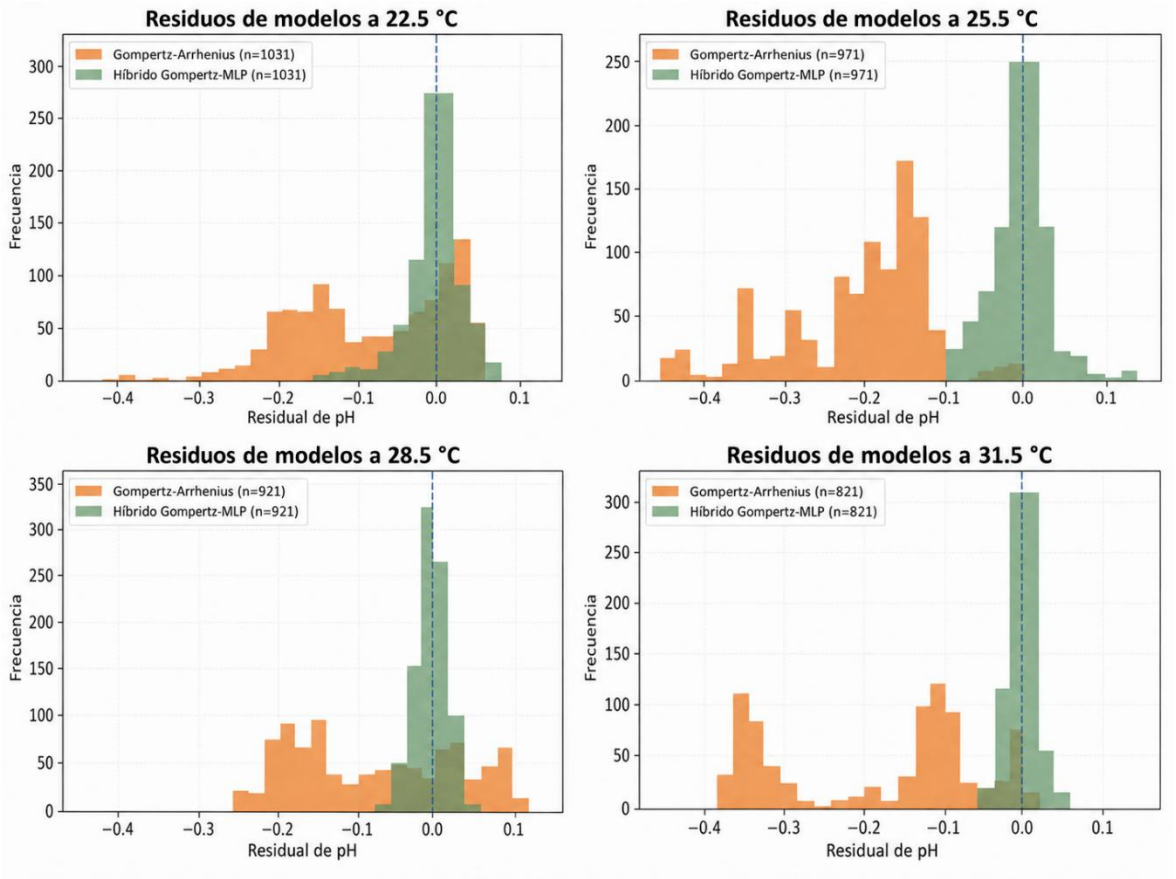

Figura 13. Histogramas de residuos del modelo Gompertz-Arrhenius y del modelo híbrido Gompertz-MLP para las cuatro temperaturas isotérmicas evaluadas. La distribución naranja corresponde al modelo matemático base, mientras que la verde representa los residuos luego de aplicar la corrección residual mediante MLP.

En la figura 14 se compara el pH experimental tratado con el pH predicho por ambos modelos para los datos isotérmicos utilizados en el entrenamiento final. La línea discontinua representa la condición ideal, donde el pH predicho coincide con el pH experimental.

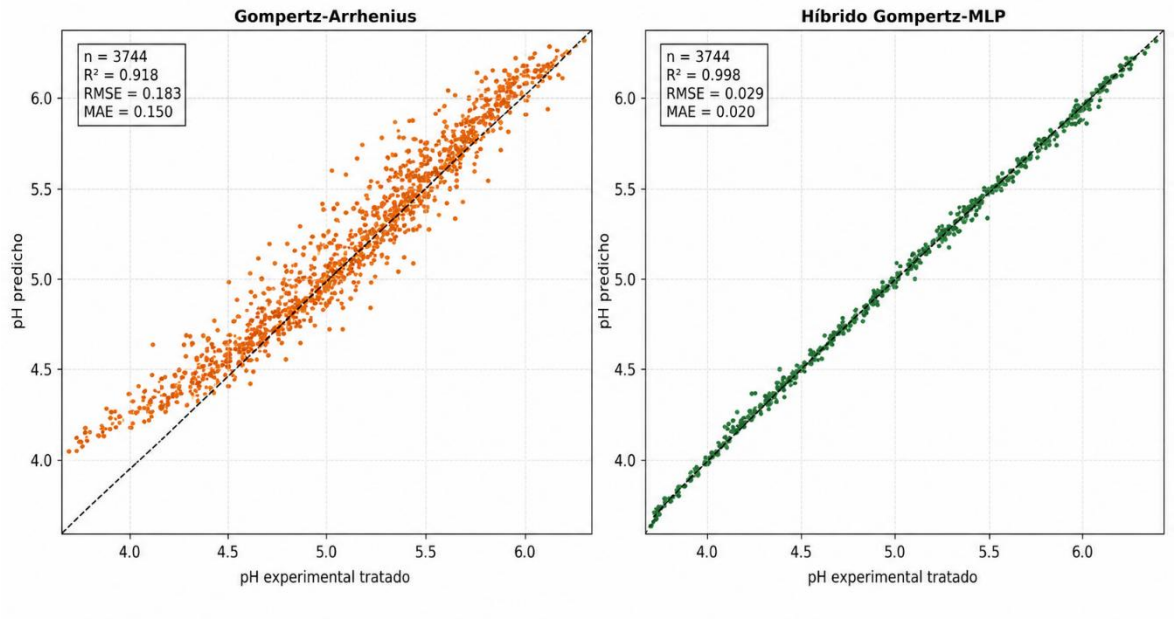

Figura 14. Comparación entre el pH experimental tratado y el pH predicho por los modelos Gompertz-Arrhenius y Gompertz-MLP en las corridas isotérmicas de entrenamiento.

Se observa en la figura 15 que el modelo Gompertz-Arrhenius presentó una distribución más amplia y desplazada hacia valores negativos. En cambio, el modelo híbrido Gompertz-MLP concentró la mayor parte de sus residuos alrededor de cero, con una caja mucho más estrecha y una mediana prácticamente alineada con la referencia ideal.

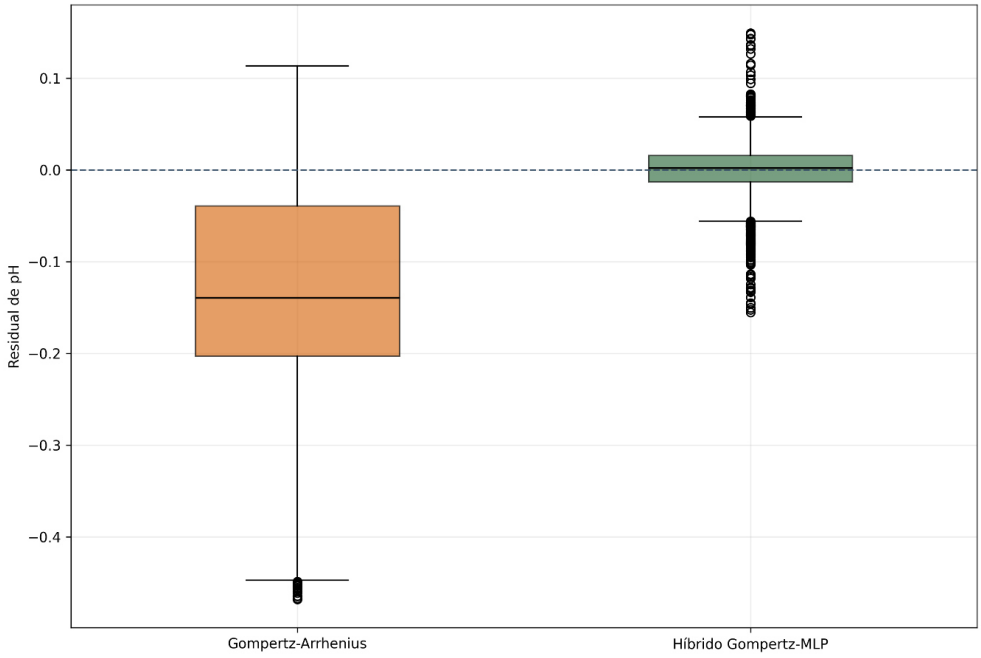

Figura 15. Distribución global de los residuos mediante diagrama de caja del modelo Gompertz-Arrhenius y el modelo híbrido Gompertz-MLP. La línea discontinua representa

el residual ideal igual a cero, es decir, la condición en la que el pH predicho coincide con el pH experimental tratado.

En la figura 16 en el caso del modelo Gompertz-Arrhenius, los residuos se distribuyeron en un intervalo más amplio y con mayor presencia de valores negativos, lo que evidenció una tendencia del modelo base a sobreestimar el pH experimental tratado. En cambio, el modelo híbrido Gompertz-MLP presentó una mayor acumulación de barras alrededor del residual cero, indicando que la mayoría de sus predicciones quedaron más próximas al valor experimental.

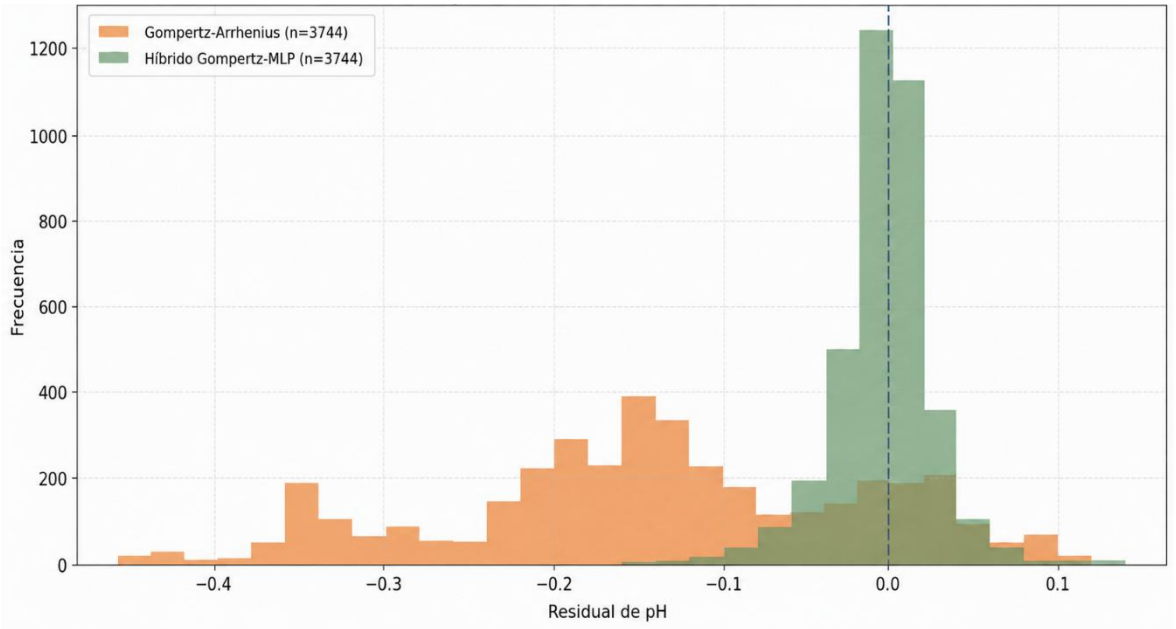

Figura 16. Histograma global de residuos para el modelo Gompertz-Arrhenius y el modelo híbrido Gompertz-MLP, considerando n = 3744 datos en ambos casos. La línea discontinua vertical representa el residual ideal igual a cero, donde el pH predicho coincide con el pH experimental tratado.

En la figura 17 se compararon las métricas globales de desempeño del modelo Gompertz-Arrhenius y del modelo híbrido Gompertz-MLP durante el entrenamiento, considerando el pH experimental tratado como referencia. Se observa que la incorporación de la corrección residual mediante MLP redujo de manera importante los errores globales, disminuyendo el MAE de 0.150 a 0.020 y el RMSE de 0.183 a 0.029. Asimismo, el coeficiente de determinación aumentó de 0.918 a 0.998, lo que evidenció una mayor cercanía entre el pH predicho y el pH experimental tratado.

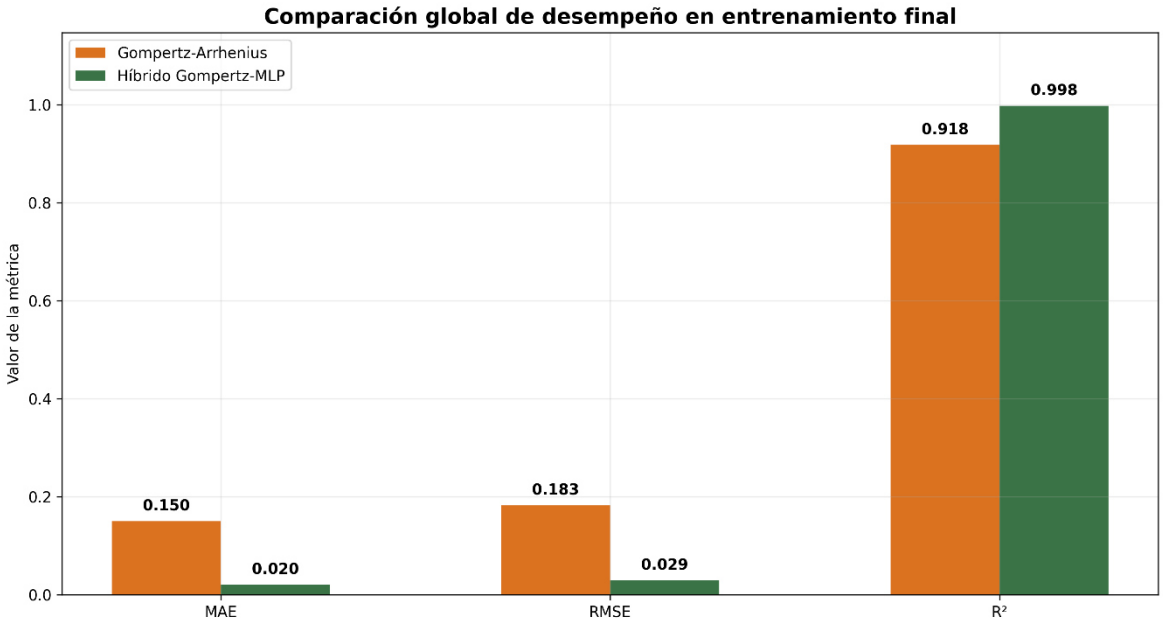

Figura 17. Comparación global del desempeño del modelo Gompertz-Arrhenius y del modelo híbrido Gompertz-MLP durante la etapa de entrenamiento.

5.6. Validación externa ciega y comparación de modelos

En la validación externa ciega se utilizó el lote desarrollado bajo un perfil térmico escalonado controlado, el cual no fue incluido durante el ajuste del modelo matemático ni durante el entrenamiento de la red neuronal. Para la resolución numérica del modelo Gompertz-Arrhenius, el pH inicial registrado experimentalmente fue empleado únicamente como condición inicial del problema de valor inicial, sin ser utilizado para reajustar los parámetros del modelo.

Los parámetros pH_∞ y λ fueron estimados mediante interpolación local a partir de los valores obtenidos en las corridas isotérmicas, considerando la temperatura media real del perfil térmico escalonado. Por su parte, la velocidad máxima de acidificación, Vm, fue calculada mediante la relación de Arrhenius determinada en la etapa de ajuste, empleando la temperatura real T(t) registrada durante la fermentación y los parámetros de Arrhenius establecidos en la tabla 5. Con estos elementos, se resolvió la ecuación diferencial del modelo Gompertz-Arrhenius y se obtuvo el pH teórico mediante integración numérica por Runge-Kutta de cuarto orden. Posteriormente, dicho pH teórico fue utilizado como variable de entrada del modelo híbrido para estimar la corrección residual mediante la red neuronal de tipo MLP.

En la tabla 9 se presentan los parámetros necesarios utilizados en la validación externa ciega que fueron determinados en la etapa del ajuste del modelo de Gompertz y del modelo de Arrhenius. Estos valores estimados por interpolación evidencian coherencia con los valores obtenidos en la etapa isotérmica ya que se encuentran dentro de dichos intervalos tal como se muestran en la tabla 4.

Tabla 9. Parámetros y condiciones iniciales utilizados en la validación externa ciega.

Ea (KJ/mol)	A preexponencial	R (J/mol.K)	T media real	Lambda estimada	pH final estimado	pH inicial experimental
47.4485	526934.64	8.314	27.03	12.44	4.06	6.26

La tabla 10 evidencia que el modelo híbrido Gompertz-MLP presentó un mejor desempeño predictivo que el modelo Gompertz-Arrhenius durante la validación externa. La incorporación de la MLP permitió reducir el MAE de 0.1660 a 0.0869 y el RMSE de 0.1845 a 0.1016 unidades de pH, lo que indica un menor promedio del error. Asimismo, el R^2 aumentó de 0.8757 a 0.9623, mostrando una mejor calidad de ajuste del modelo híbrido respecto al pH experimental.

Tabla 10. Métricas de modelos híbrido y teórico en la validación externa.

Modelo	MAE	RMSE	R^2
Gompertz-Arrhenius	0.1660	0.1845	0.8757
Híbrido Gompertz-MLP	0.0869	0.1016	0.9623

En la figura 18 la curva muestra la variación de la temperatura en función del tiempo, con tramos sucesivos de enfriamiento y calentamiento dentro del rango experimental evaluado. Este perfil no fue utilizado durante el ajuste del modelo ni durante el entrenamiento de la red MLP, por lo que permitió evaluar la capacidad predictiva de los modelos frente a una condición térmica distinta a las corridas isotérmicas. La temperatura real registrada T(t) fue empleada como variable de entrada para la resolución numérica del modelo Gompertz-Arrhenius y para la posterior corrección residual del modelo híbrido.

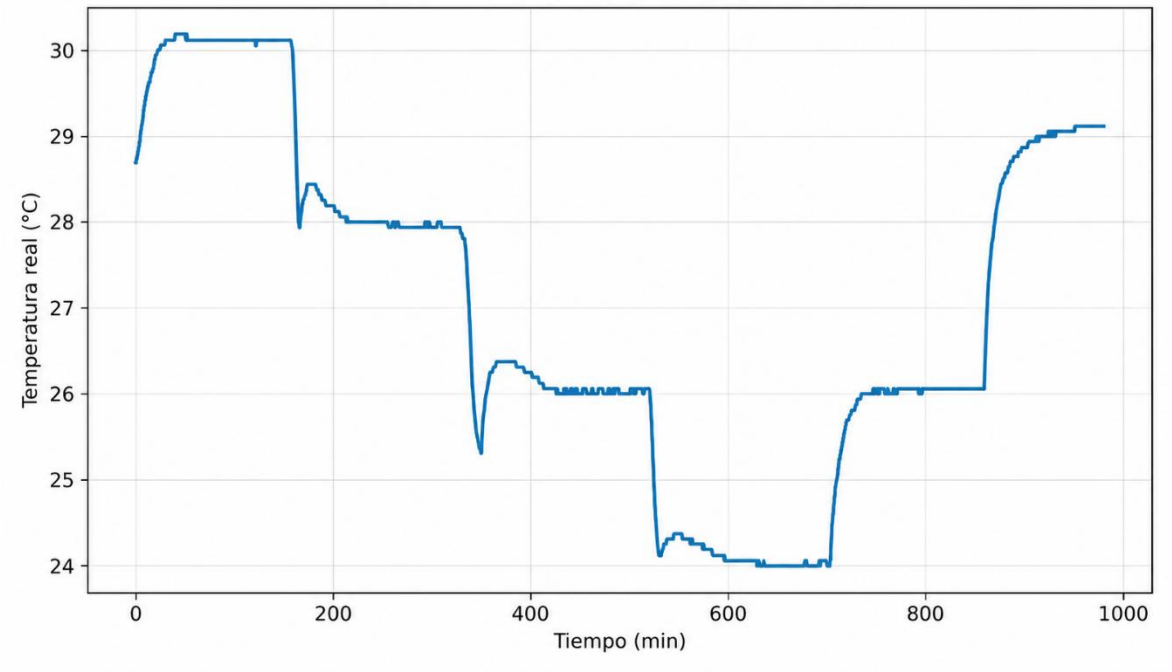

Figura 18. Perfil térmico real registrado durante la corrida de validación externa bajo condiciones escalonadas controladas.

La curva azul, figura 19, representa el pH experimental tratado, mientras que las curvas naranja y verde corresponden a las predicciones del modelo matemático y del modelo híbrido, respectivamente. Se observó que el modelo híbrido siguió con mayor cercanía la trayectoria experimental del descenso de pH, especialmente en los tramos intermedios y finales de la fermentación. Este resultado evidenció que la corrección residual mediante MLP mejoró la capacidad predictiva del modelo base frente a una condición térmica no utilizada durante el ajuste ni el entrenamiento.

La línea discontinua que se presenta en la figura 20 representa la predicción ideal, donde el valor calculado coincide con el valor experimental. El modelo Gompertz-Arrhenius presentó mayor dispersión y desviación respecto a la línea de referencia, con $R^2 = 0.876$, RMSE = 0.185 y MAE = 0.166. En contraste, el modelo híbrido mostró una mayor concentración de puntos alrededor de la línea ideal, alcanzando $R^2 = 0.962$, RMSE = 0.102 y MAE = 0.087, lo que evidenció una mejora en la capacidad predictiva bajo el perfil térmico escalonado de validación externa.

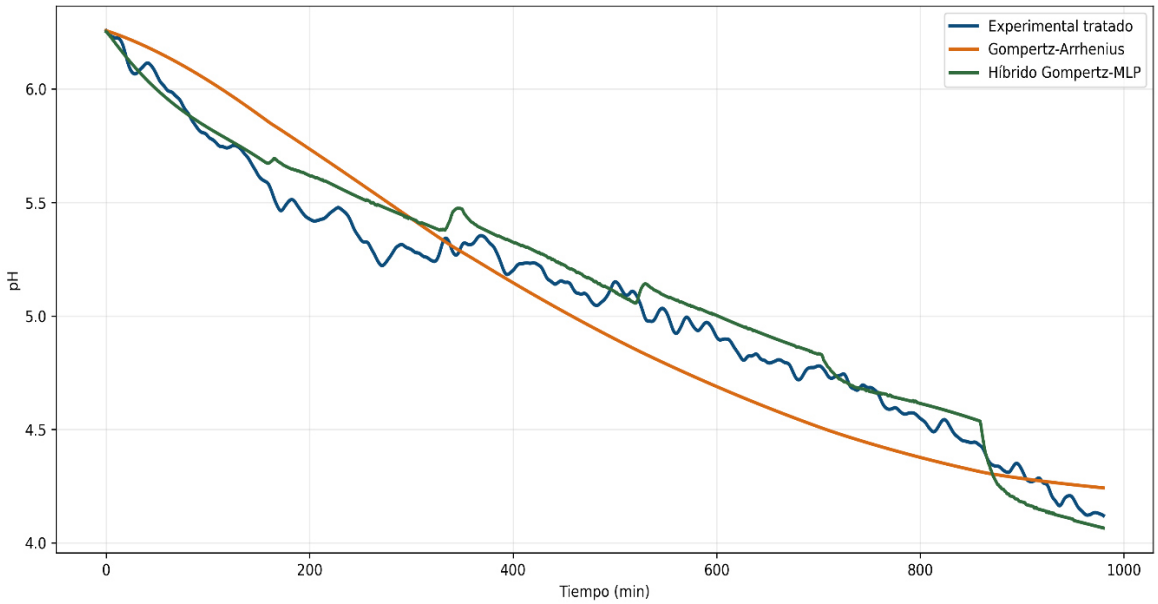

Figura 19. Gráfica del modelo teórico Gompertz-Arrhenius y el modelo híbrido Gompertz-MLP comparado con el descenso de pH experimental bajo un perfil térmico escalonado real.

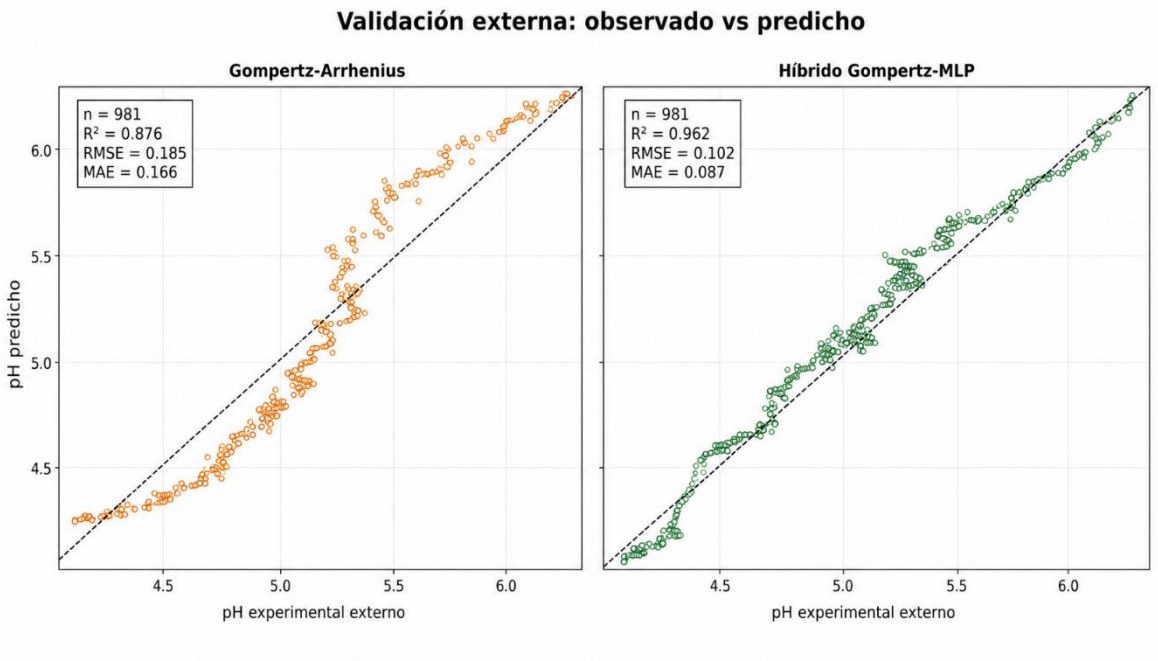

Figura 20. Comparación entre el pH experimental externo y el pH predicho por el modelo Gompertz-Arrhenius y el modelo híbrido Gompertz-MLP durante la validación externa ciega.

Se observa que el modelo Gompertz-Arrhenius presentó desviaciones más amplias en los tramos intermedios de la fermentación, véase la figura 21, mientras que el modelo híbrido Gompertz-MLP mantuvo residuos más próximos a la línea cero. En conjunto, la gráfica

evidencia que la corrección residual mediante la red neuronal de tipo MLP mejoró la estabilidad predictiva del modelo frente a perturbaciones térmicas escalonadas.

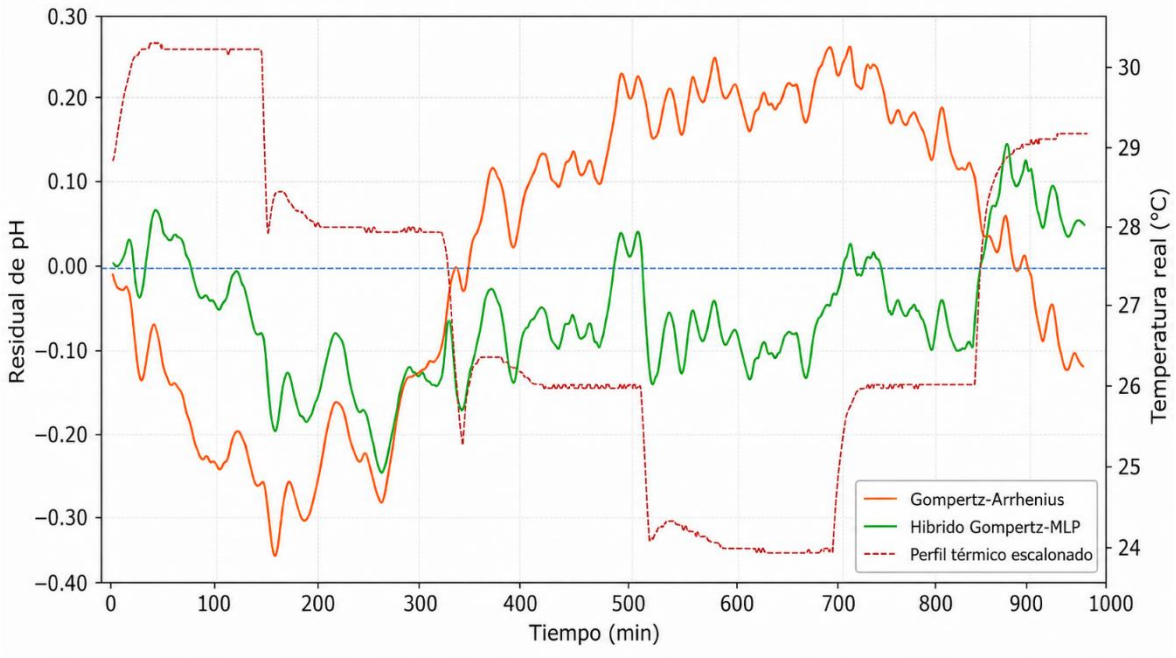

Figura 21. Evolución temporal de los residuos durante la validación externa bajo el perfil térmico escalonado.

Los diagramas de caja, figura 22, comparan la distribución de los residuos de predicción respecto al pH experimental tratado, considerando la línea horizontal en cero como referencia de una predicción ideal. Se observó que el modelo Gompertz-Arrhenius presentó una mayor dispersión de residuos entre sus extremos fuera de la caja. En contraste, el modelo híbrido Gompertz-MLP mostró una caja más estrecha y residuos más concentrados, indicando una menor variabilidad del error. Sin embargo, la mediana del modelo híbrido se ubicó ligeramente por debajo de cero, lo que sugiere una leve tendencia del modelo a predecir valores de pH superiores a los experimentales en algunos tramos. En conjunto, la figura evidencia que la corrección residual mediante MLP redujo la dispersión del error y mejoró la estabilidad predictiva del modelo bajo el perfil térmico escalonado evaluado.

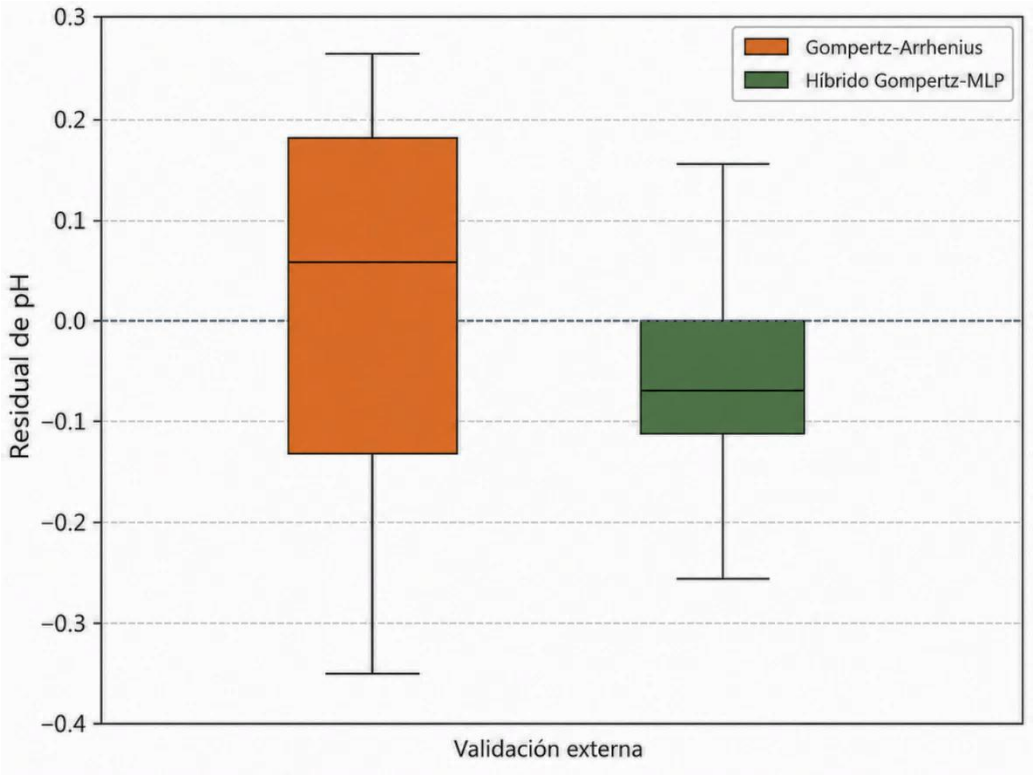

Figura 22. Distribución de residuos en la validación externa ciega para el modelo Gompertz-Arrhenius y el modelo híbrido Gompertz-MLP.

En la figura 23 se muestra el histograma de residuos que permite comparar la distribución del error de predicción durante la validación externa, considerando la línea vertical en cero como referencia de una predicción ideal. Se observa que el modelo Gompertz-Arrhenius presentó una dispersión más amplia, con residuos distribuidos tanto en valores negativos como positivos. En contraste, el modelo híbrido Gompertz-MLP concentró una mayor frecuencia de residuos en un intervalo más estrecho y cercano a cero, indicando menor variabilidad del error. Aunque la distribución del modelo híbrido mostró un ligero desplazamiento hacia valores negativos, este comportamiento representa una leve tendencia a predecir valores de pH superiores a los experimentales en ciertos segmentos. En conjunto, la figura evidencia que la corrección residual mediante MLP redujo la dispersión global del error y mejoró la estabilidad predictiva del modelo bajo el perfil térmico escalonado evaluado.

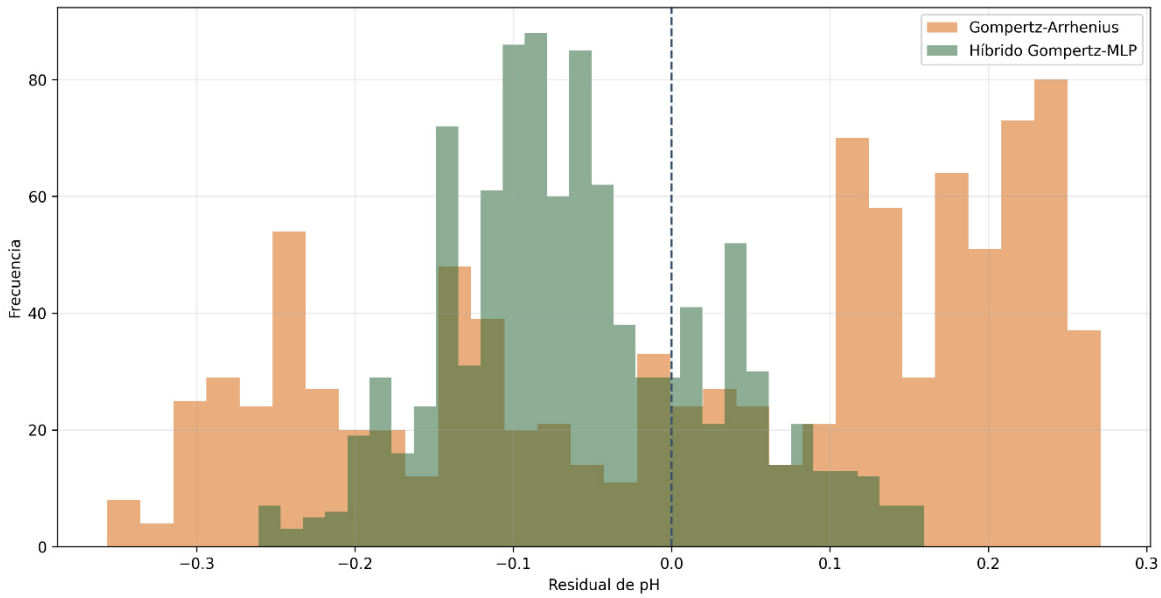

Figura 23. Histograma de residuos en la validación externa de modelos.

Asimismo, se evaluaron las métricas MAE, RMSE y R^2, considerando como referencia el pH experimental tratado del perfil térmico escalonado. El modelo híbrido presentó menores errores de predicción, reduciendo el MAE de 0.166 a 0.087 y el RMSE de 0.185 a 0.102. Asimismo, el R^2 aumentó de 0.876 a 0.962, evidenciando una mejora global en la capacidad predictiva del modelo híbrido frente al modelo Gompertz-Arrhenius. Véase la figura 24.

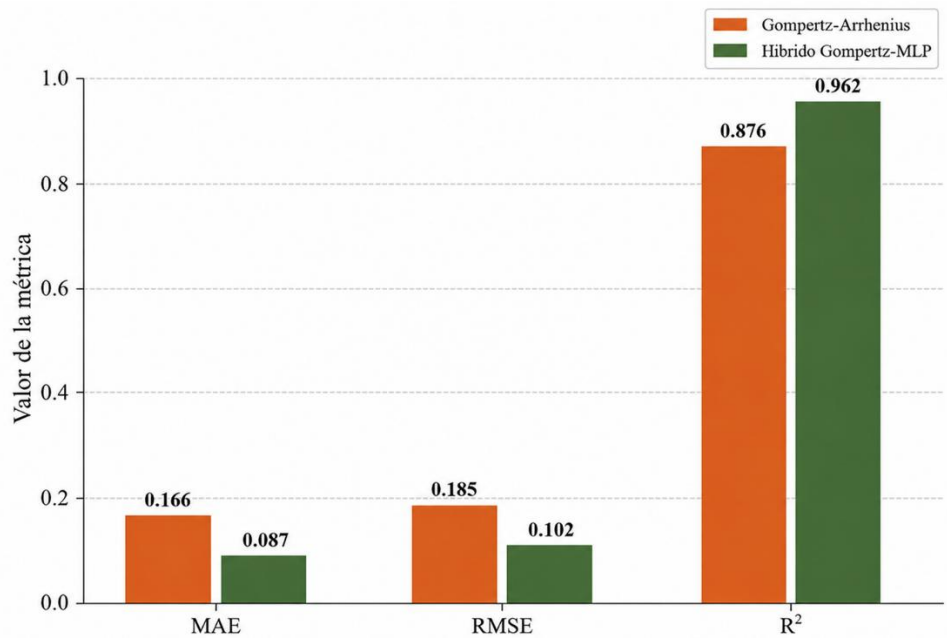

Figura 24. Comparación global del desempeño del modelo Gompertz-Arrhenius y del modelo híbrido Gompertz-MLP durante la validación externa ciega.

En ambas etapas, como se muestra en la figura 25, el modelo híbrido presentó valores superiores de R^2, pasando de 0.918 a 0.998 en entrenamiento y de 0.876 a 0.962 en validación externa. Esta mejora indicó que la corrección residual mediante MLP permitió una mayor cercanía entre el pH predicho y el pH experimental tratado. Además, el desempeño obtenido en validación externa evidenció que el modelo híbrido mantuvo una buena capacidad predictiva frente a un perfil térmico no utilizado durante el entrenamiento.

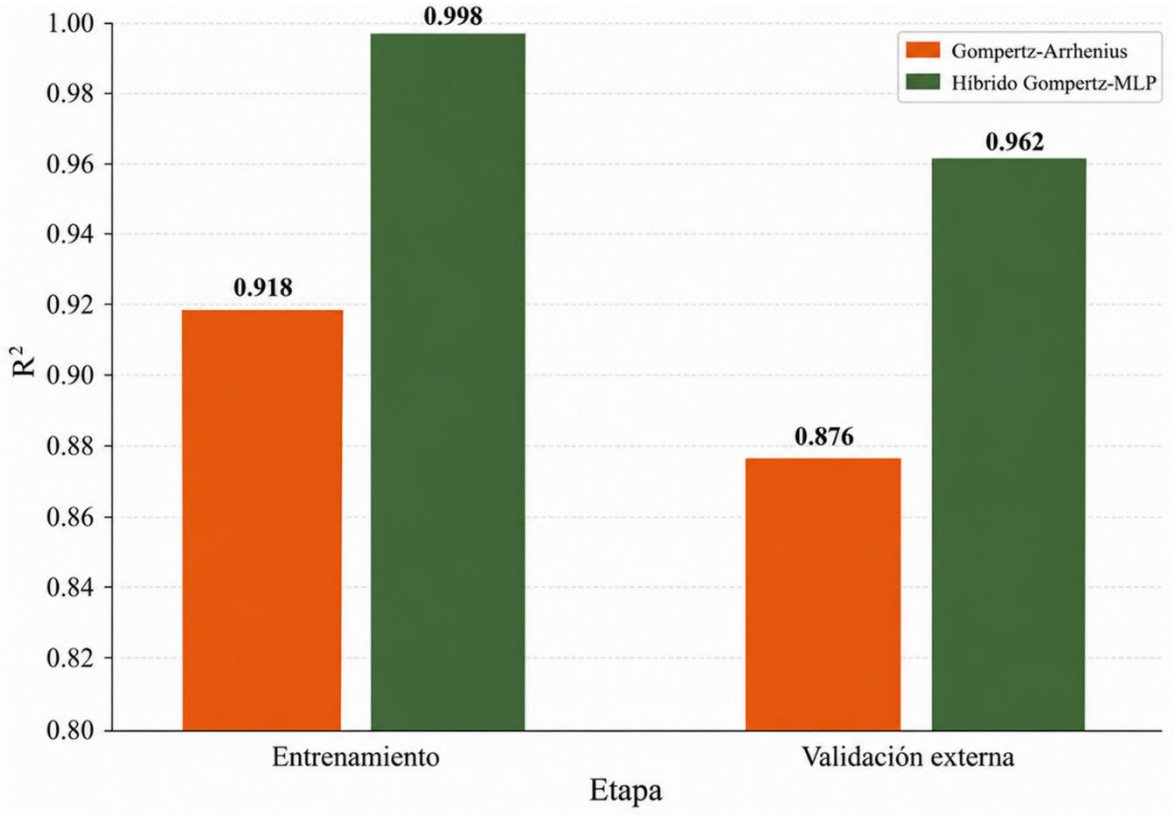

Figura 25. Comparación del coeficiente de determinación global R^2 entre el modelo Gompertz-Arrhenius y el modelo híbrido Gompertz-MLP en las etapas de entrenamiento y validación externa.

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos evidenciaron que la temperatura influyó directamente en la velocidad de descenso del pH durante la elaboración de kéfir de leche. Según la tabla 3, al incrementarse la temperatura de trabajo se redujo el tiempo requerido para alcanzar la zona final de fermentación, a 22.5°C se obtuvo un pH final tratado promedio de 4.36 en 1030 min, mientras que a 31.5°C se alcanzó un pH final tratado promedio de 3.72 en 820 min. Esta tendencia también se observó en las figuras 3, 5 y 7, donde las curvas de pH mostraron una caída más rápida a temperaturas más altas. Este comportamiento fue coherente con la fermentación láctica representada en la ecuación (2) que resume la ruta heteroláctica asociada a la producción de ácido láctico, etanol y CO_2. En ese sentido, el pH fue una variable adecuada para seguir el avance global de la fermentación, como también fue señalado por Leite et al. (2013) y Alves et al. (2021), quienes reportaron el descenso progresivo del pH en kéfir de leche como consecuencia de la actividad del consorcio microbiano.

El descenso de pH observado no presentó una tendencia estrictamente lineal, sino una evolución propia de un proceso biológico con etapas diferenciadas. Las figuras 3 y 5 representaron una etapa inicial de adaptación corta, seguida por una fase de mayor velocidad de fermentación y una fase final de desaceleración donde a la temperatura de 31.5°C se alcanzó en menor tiempo, estas tendencias justificaron el uso del modelo de Gompertz modificado en función del pH, expresado en la ecuación (4), debido a que dicho modelo permitió representar curvas con fase de latencia, velocidad máxima y comportamiento asintótico. Este criterio fue consistente con Zwietering et al. (1990), quien propuso la forma modificada de Gompertz, y con Soukoulis et al. (2007), quien aplicó Gompertz para describir el descenso del pH en fermentaciones lácteas. Asimismo, Gil et al. (2011) señaló que los modelos tipo Gompertz pueden describir adecuadamente respuestas microbianas no lineales.

El ajuste del modelo de Gompertz modificado permitió estimar los parámetros pH_0, pH_∞, V_m y λ, los cuales describieron la evolución de la acidificación en cada temperatura evaluada. De acuerdo con la tabla 4, los ajustes promedio presentaron valores de R^2 superiores a 0.80 en todos los casos, alcanzando 0.917 a 22.5°C, 0.945 a 25.5°C, 0.957 a 28.5°C y 0.975 a 31.5°C. Además, se observó que V_m aumentó de 2.30×10^{-3} a 3.92×10^{-3} pH/min al pasar de 22.5 a 31.5°C, mientras que λ disminuyó de 24 a 7 min. Este resultado evidenció que el incremento térmico aceleró la acidificación y redujo el periodo inicial de adaptación del sistema. Zajšek y Goršek (2010) reportaron una tendencia comparable en

leche fermentada con granos de kéfir, donde el aumento de temperatura incrementó la velocidad máxima del proceso y redujo la fase de latencia. De forma similar, Tarlak et al. (2020) indicaron que, en modelos predictivos microbianos, el incremento de temperatura suele elevar la velocidad del proceso y disminuir la fase de latencia.

Los perfiles térmicos registrados durante las corridas isotérmicas, presentados en las figuras 4 y 6, permitieron verificar el grado de estabilidad térmica alcanzado en cada ensayo. Aunque se observaron pequeñas desviaciones respecto a la temperatura objetivo, principalmente durante la etapa inicial de estabilización a 22.5°C, el sistema mantuvo condiciones suficientemente estables para considerar las corridas como isotérmicas controladas. Por ello, el ajuste del modelo de Gompertz se realizó en función del tiempo y del pH tratado, mientras que la temperatura real promedio se empleó posteriormente para relacionar la velocidad máxima de acidificación con la temperatura mediante la ecuación de Arrhenius.

La relación de Arrhenius permitió vincular la velocidad máxima de fermentación con la temperatura. Según la tabla 5 y la figura 8, la linealización de $\ln(V_m)$ frente a $1/T$, expresada mediante la ecuación (13), presentó un $R^2 = 0.9224$, una energía de activación aparente de 47.45 kJ/mol y un factor preexponencial de 526934.64. Estos resultados indicaron una relación térmica aceptable dentro del intervalo experimental de 22.5 a 31.5°C. Sin embargo, debido a que la relación de Arrhenius fue estimada a partir de cuatro niveles térmicos, la energía de activación obtenida debe interpretarse como aparente y restringida al rango experimental evaluado. Por tanto, su aplicación fuera de este intervalo requeriría una nueva calibración y validación experimental. Este enfoque fue consistente con Zajšek y Goršek (2010), quienes aplicaron Gompertz-Arrhenius para describir la dependencia térmica en fermentaciones con granos de kéfir, y con Laureys et al. (2022), quienes emplearon Arrhenius para cuantificar la dependencia térmica en sistemas fermentativos con kéfir.

La integración de Gompertz con Arrhenius permitió formular el modelo diferencial de acidificación, representado en la ecuación (14). Esta ecuación describió la variación del pH en el tiempo considerando que V_m dependió de la temperatura del sistema. Posteriormente, la resolución numérica mediante Runge-Kutta de cuarto orden permitió obtener la trayectoria teórica $pH_{\text{teórico}}(t)$, utilizando una resolución temporal de 1 minuto. En la figura 17 se observó que el modelo Gompertz-Arrhenius alcanzó un ajuste global de $R^2 = 0.918$, con RMSE = 0.183 y MAE = 0.150, lo que indicó que el modelo matemático representó adecuadamente

la tendencia principal del descenso de pH. Sin embargo, también se observaron desviaciones entre el pH teórico y el pH experimental tratado, especialmente en algunas temperaturas donde el comportamiento experimental presentó fluctuaciones y cambios locales no capturados por la ecuación diferencial, tal como se observa en la figura 11.

Las desviaciones del modelo matemático se explicaron por la complejidad del sistema fermentativo. Aunque la ecuación (14) incorporó la dependencia térmica de V_m, no representó explícitamente fenómenos como la distribución no homogénea de los granos, la sinéresis, la variabilidad de lectura del sensor o la formación de zonas con diferente composición local. En ese sentido, el modelo Gompertz-Arrhenius fue útil como base matemática del proceso, pero sus residuos mostraron que existían desviaciones experimentales propias de un cultivo mixto y de las características del sistema fermentativo que sirvieron como base para el desarrollo del modelo híbrido.

Durante la etapa de entrenamiento, el modelo híbrido fue construido bajo un esquema de corrección residual. Primero se calculó el residual real mediante la ecuación (15), como la diferencia entre el pH experimental tratado y el $pH_{\text{teórico}}(t)$. Luego, la red neuronal MLP aprendió la relación funcional indicada en la ecuación (16), usando como entradas el tiempo, el tiempo normalizado, la temperatura real, el pH teórico y la derivada local del pH teórico. Finalmente, la predicción híbrida se obtuvo mediante la ecuación (17), sumando el pH teórico del modelo Gompertz-Arrhenius y el residual estimado por la MLP. Este planteamiento fue metodológicamente adecuado porque la red neuronal no reemplazó el modelo matemático, sino que corrigió parte del error residual manteniendo la base cinética. Esta estrategia fue consistente con los enfoques híbridos descritos por Moya Almeida et al. (2021) y Bock et al. (2021), donde los modelos matemáticos se complementaron con herramientas computacionales para mejorar la predicción.

Los resultados del entrenamiento mostraron que la corrección residual mediante MLP mejoró el desempeño del modelo base. Según la tabla 8 y la figura 17, el modelo Gompertz-Arrhenius presentó MAE = 0.150, RMSE = 0.183 y R^2 = 0.918, mientras que el modelo híbrido alcanzó MAE = 0.020, RMSE = 0.029 y R^2 = 0.998. A nivel de temperatura, se observó una mejora marcada a 25.5°C, donde el RMSE disminuyó de 0.230 a 0.036 y el R^2 aumentó de 0.823 a 0.996; de igual forma, a 31.5°C el RMSE se redujo de 0.220 a 0.018 y el R^2 aumentó de 0.919 a 0.999. Estos resultados indicaron que la MLP aprendió patrones residuales presentes en las corridas isotérmicas y permitió acercar el valor predicho al pH

experimental tratado. La mejora también fue visible en la figura 10, donde la curva híbrida presentó mayor cercanía con la curva experimental en comparación con el modelo Gompertz-Arrhenius.

El análisis de residuos reforzó la mejora observada en las métricas. En las figuras 11, 12 y 13 se evidenció que los residuos del modelo Gompertz-Arrhenius presentaron mayor dispersión y se alejaron con más frecuencia de la línea cero, especialmente en las temperaturas donde el modelo base mostró mayor desviación que fueron a 25.5 y 31.5°C. En cambio, los residuos del modelo híbrido se concentraron más cerca de cero, lo que indicó una reducción del error. La figura 14 también mostró que los puntos observado-predicho del modelo híbrido se ubicaron con mayor proximidad a la línea ideal, en comparación con el modelo matemático. Este comportamiento no significó que el modelo híbrido fuera perfecto, sino que corrigió parte de la desviación del modelo base. Por ello, la mejora del híbrido fue interpretada como una corrección residual y no como una sustitución de la base Gompertz-Arrhenius.

La validación externa ciega fue la etapa más importante para evaluar la capacidad predictiva del modelo, ya que se utilizó una corrida escalonada independiente que no participó en el ajuste de Gompertz, en la estimación de Arrhenius ni en el entrenamiento de la red neuronal. El perfil térmico real de validación, mostrado en la figura 18, incluyó tramos descendentes y ascendentes de temperatura, lo que permitió evaluar el comportamiento del modelo bajo una condición no isotérmica controlada. Este procedimiento fue coherente con Dolan et al. (2013), quienes señalaron que los modelos cinéticos deben evaluarse bajo condiciones dinámicas y no solo en escenarios constantes. También fue consistente con Dabadé et al. (2022) y Tarlak et al. (2020), quienes validaron modelos predictivos bajo perfiles fluctuantes o no isotérmicos para comprobar su aplicabilidad fuera de la etapa de ajuste inicial.

En la validación externa, el modelo Gompertz-Arrhenius fue resuelto nuevamente mediante RK4 utilizando la temperatura real registrada minuto a minuto. Esta etapa permitió obtener la trayectoria $pH_{\text{teórico}}(t)$ bajo el perfil escalonado. De acuerdo con la tabla 10, el modelo matemático alcanzó MAE = 0.1660, RMSE = 0.1845 y R^2 = 0.8757, valores que cumplieron los criterios establecidos para la validación, pero mostraron una desviación frente al pH experimental tratado. La figura 19 evidenció que la trayectoria teórica capturó la tendencia de fermentación, aunque presentó diferencias en algunos tramos del perfil. Esta

respuesta fue esperable porque el modelo matemático incorporó el efecto térmico sobre la V_m, pero no incluyó de manera explícita todas las variaciones locales del sistema fermentativo.

El modelo híbrido presentó un mejor desempeño en la validación externa ciega. Según la tabla 10, el modelo híbrido obtuvo MAE = 0.0869, RMSE = 0.1016 y R^2 = 0.9623, superando al modelo Gompertz-Arrhenius en las tres métricas. La figura 19 mostró una mayor cercanía de la curva híbrida respecto al pH experimental tratado, mientras que la figura 20 evidenció una mayor concentración de puntos alrededor de la línea ideal observado-predicho. Además, las figuras 21 y 22 mostraron que los residuos del modelo híbrido presentaron menor dispersión que los del modelo matemático. Esta mejora evidenció que la corrección residual aprendida en las corridas isotérmicas conservó capacidad predictiva frente a un perfil térmico distinto, lo cual fortaleció la validez del enfoque híbrido. Este enfoque fue coherente con Di Gennaro et al. (2014), quienes destacaron la utilidad de sensores de bajo costo para sistemas de monitoreo, y con Chong Shin Yee et al. (2025), quienes señalaron que las tecnologías de fermentación inteligente, como biosensores, monitoreo en tiempo real, inteligencia artificial y aprendizaje automático, pueden contribuir a mejorar la consistencia del producto y la eficiencia del proceso en alimentos fermentados tradicionales.

Finalmente, los resultados deben interpretarse dentro del alcance experimental del estudio. El modelo fue desarrollado para kéfir de leche elaborado con una relación grano/leche constante, en el rango de 22.5 a 31.5°C, considerando corridas isotérmicas para la estimación de parámetros y un perfil térmico escalonado externo para la validación. Por ello, no constituyó un modelo universal para cualquier condición de producción de kéfir, sino una metodología de modelamiento y validación aplicable al dominio experimental evaluado.

VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1. Conclusiones

El modelo de Gompertz modificado describió adecuadamente el descenso del pH durante la elaboración isotérmica del kéfir de leche en el rango de 22.5 a 31.5°C, debido a que los ajustes promedio presentaron valores de R^2 superiores a 0.80 en todas las temperaturas evaluadas, con 0.917 a 22.5°C, 0.945 a 25.5°C, 0.957 a 28.5°C y 0.975 a 31.5°C. Además, los parámetros cinéticos obtenidos mostraron coherencia con la respuesta experimental del sistema, ya que la velocidad máxima de acidificación aumentó de 2.30×10^{-3} a 3.92×10^{-3} pH/min al elevarse la temperatura, mientras que el parámetro de latencia disminuyó de 24 a 7 min. Asimismo, los registros experimentales mostraron que el tiempo total de fermentación se redujo de 1030 min a 22.5°C a 820 min a 31.5°C, alcanzándose pH finales tratados de 4.36 y 3.72, respectivamente. En consecuencia, el modelo de Gompertz modificado permitió representar la tendencia experimental del descenso de pH durante la fermentación isotérmica y estimar parámetros cinéticos consistentes con el grado de ajuste obtenido.

La integración del modelo de Gompertz con la relación térmica de Arrhenius permitió representar la dependencia de la velocidad máxima de fermentación con la temperatura y construir el modelo diferencial para evaluar el descenso del pH bajo el perfil térmico escalonado controlado evaluado. La linealización de Arrhenius presentó un $R^2 = 0.9224$, una energía de activación aparente de 47.45 kJ/mol y un factor preexponencial de 526934.64, evidenciando una relación térmica aceptable dentro del intervalo experimental trabajado. A partir de esta relación, el modelo Gompertz-Arrhenius resuelto mediante el método numérico de Runge-Kutta de cuarto orden permitió estimar trayectorias teóricas del pH en las corridas isotérmicas, incorporando la temperatura real registrada en el tiempo (t) como variable del sistema y los parámetros determinados mediante la relación térmica de Arrhenius, obteniendo así un grado de ajuste global de 0.918 y unas métricas de error globales de RMSE = 0.183 y MAE = 0.150 siendo estos resultados obtenidos en la etapa isotérmica con adecuados indicadores para el entrenamiento de la red neuronal. En la etapa de validación con una condición externa ciega de tipo escalonada, la trayectoria de pH de igual manera se determinó mediante la resolución de la ecuación diferencial y los parámetros necesarios se obtuvieron de la relación térmica de Arrhenius, donde posteriormente se comparó el modelo matemático teórico respecto a la trayectoria experimental y se alcanzó un grado de ajuste de

R^2 = 0.8757 y unas métricas de error de RMSE = 0.1845 y MAE = 0.1660, cumpliendo los criterios establecidos para la segunda hipótesis específica; sin embargo, sus desviaciones frente al pH experimental evidenciaron que, aunque el modelo fue válido como base cinética, todavía requería una corrección adicional para mejorar su precisión predictiva.

La red neuronal de tipo perceptrón multicapa residual permitió mejorar el desempeño del modelo matemático al aprender parte de las desviaciones entre el pH experimental tratado y el pH teórico Gompertz-Arrhenius. Durante el ajuste interno de las corridas isotérmicas, el modelo híbrido redujo los errores en todas las temperaturas evaluadas destacando los resultados obtenidos a 25.5°C donde el RMSE disminuyó de 0.230 a 0.036 y el R^2 aumentó de 0.823 a 0.996, mientras que a 31.5°C el RMSE se redujo de 0.220 a 0.018 y el R^2 aumentó de 0.919 a 0.999. En la evaluación global se obtuvo un ajuste interno de R^2 = 0.998 y unas métricas de RMSE = 0.029 y MAE = 0.020. Esta mejora también se mantuvo durante la validación externa ciega, donde el modelo híbrido respecto al modelo matemático redujo el MAE de 0.166 a 0.087 y el RMSE de 0.185 a 0.102, además de incrementar el R^2 de 0.876 a 0.962. Estos resultados demostraron que la corrección residual mediante MLP fortaleció la capacidad predictiva del modelo sin reemplazar la base cinética Gompertz-Arrhenius.

En síntesis, la investigación demostró que la integración de un modelo cinético interpretable con una corrección computacional residual permitió desarrollar y validar un modelo híbrido matemático-computacional capaz de predecir el descenso del pH en la elaboración de kéfir de leche bajo un perfil térmico escalonado controlado. El enfoque propuesto combinó datos experimentales continuos de pH y temperatura, ajuste Gompertz, relación térmica de Arrhenius, resolución numérica mediante Runge-Kutta de cuarto orden y una red neuronal de tipo perceptrón multicapa residual, logrando mejorar el desempeño del modelo matemático individual tanto en el ajuste interno como en la validación externa ciega. Al alcanzar en la validación externa un R^2 = 0.962 y un RMSE = 0.102, el modelo híbrido evidenció una mejora respecto a los criterios establecidos en la hipótesis general y mostró que puede emplearse como una herramienta para anticipar la evolución del pH dentro del rango experimental evaluado y bajo condiciones similares a las trabajadas en esta investigación.

7.2. Recomendaciones

Se recomienda realizar nuevas validaciones externas con perfiles térmicos escalonados diferentes al trabajado en esta investigación, incluyendo secuencias ascendentes, descendentes y mixtas. Esto permitiría evaluar con mayor solidez la capacidad predictiva del modelo híbrido frente a condiciones térmicas distintas y comprobar si la corrección residual mediante una red neuronal de tipo perceptrón multicapa mantiene un desempeño adecuado.

Se recomienda profundizar el desarrollo computacional del modelo híbrido mediante la comparación sistemática de distintas configuraciones de redes neuronales residuales. Futuros trabajos podrían evaluar otras arquitecturas de tipo perceptrón multicapa como funciones de activación, parámetros de regularización y estrategias de validación interna, manteniendo siempre separada la validación externa. Esto permitiría seleccionar modelos híbridos más robustos sin perder la interpretación cinética aportada por Gompertz-Arrhenius.

Se recomienda incorporar variables fisicoquímicas y microbiológicas complementarias al pH, como acidez titulable, ácido láctico, lactosa residual, biomasa de granos, viscosidad, sinéresis y recuento microbiológico. Estas variables permitirían relacionar con mayor profundidad los cambios más precisos del sistema fermentativo y ampliar el alcance del modelo hacia una descripción más integral.

Se recomienda evaluar, en estudios posteriores, el efecto de condiciones operativas adicionales como la relación grano/leche, el tipo de leche utilizada y la agitación controlada. Estas variables influyen en la velocidad de acidificación, la estabilidad de las lecturas del sensor, la formación de sinéresis y el tiempo requerido para alcanzar la zona asintótica de fermentación, por lo que su incorporación permitiría construir modelos predictivos más completos y aplicables a diferentes condiciones de elaboración.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agharafeie, R., Ramos, J. R. C., Mendes, J. M., & Oliveira, R. (2023). From Shallow to Deep Bioprocess Hybrid Modeling: Advances and Future Perspectives. *Fermentation*, *9*(10), 922. https://doi.org/10.3390/fermentation9100922

Alves, E., Ntungwe, E. N., Gregório, J., Rodrigues, L. M., Pereira-Leite, C., Caleja, C., Pereira, E., Barros, L., Aguilar-Vilas, M. V., Rosado, C., & Rijo, P. (2021). Characterization of kefir produced in household conditions: Physicochemical and nutritional profile, and storage stability. *Foods, 10*(5), 1057. https://doi.org/10.3390/foods10051057

AOAC International. (2005). pH of acidified foods (Official Method 981.12). En Official methods of analysis of AOAC International (18th ed.). AOAC International.

Barão, C. E., Klososki, S. J., Pinheiro, K. H., Marcolino, V. A., Valarini Junior, O., Cruz, A. G., Silva, T. T., & Pimentel, T. C. (2019). Growth kinetics of kefir biomass: Influence of the incubation temperature in milk. Chemical Engineering Transactions, 75, 499-504. https://doi.org/10.3303/CET1975084

Bock, F. E., Keller, S., Huber, N., & Klusemann, B. (2021). Hybrid Modelling by Machine Learning Corrections of Analytical Model Predictions towards High-Fidelity Simulation Solutions. Materials (Basel, Switzerland), 14(8), 1883. https://doi.org/10.3390/ma14081883

Bourrie, B. C. T., Willing, B. P., & Cotter, P. D. (2016). The microbiota and health promoting characteristics of the fermented beverage kefir. *Frontiers in Microbiology, 7*, 647. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00647

Chong Shin Yee, C. S. Y., Zahia-Azizan, N. A., Abd Rahim, M. H., Mohd Zaini, N. A., Raja-Razali, R. B., Ushidee-Radzi, M. A., Ilham, Z., & Wan-Mohtar, W. A. Q. I. (2025). *Smart fermentation technologies: Microbial process control in traditional fermented foods*. Fermentation, 11(6), 323. https://doi.org/10.3390/fermentation11060323

Córdova, H. J. (2018). Propuesta de un proceso de planeamiento y control de la producción, basado en la gestión por procesos y estandarización del proceso de desuerado para mejorar la productividad de las MYPE del sector lácteo [Tesis de licenciatura, Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas]. Repositorio Académico UPC

Dabadé, D.S., Zannou, O., Azokpota, P. et al. Modeling the growth of H_2S-producing bacteria in tropical brackish water shrimp under fluctuating temperature regimes. Discov Food **2**, 32 (2022). https://doi.org/10.1007/s44187-022-00035-3

Dallas, D. C., Citerne, F., Tian, T., Silva, V. L., Kalanetra, K. M., Frese, S. A., Robinson, R. C., Mills, D. A., & Barile, D. (2016). Peptidomic analysis reveals proteolytic activity of kefir microorganisms on bovine milk proteins. Food chemistry, 197(Pt A), 273–284. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.116

Dey, A., Bokka, V., & Sen, S. (2020). Dependence of bacterial growth rate on dynamic temperature changes. IET systems biology, 14(2), 68–74. https://doi.org/10.1049/iet-syb.2018.5125

Di Gennaro, S. F., Matese, A., Mancin, M., Primicerio, J., & Palliotti, A. (2014). An Open-Source and Low-Cost Monitoring System for Precision Enology. *Sensors*, *14*(12), 23388-23397. https://doi.org/10.3390/s141223388

Dimitreli, G., Exarhopoulos, S., Apidopoulou, P., Groztidou, O., Georgiou, D., Kalogianni, E. P., & Goulas, A. (2025). Effect of final fermentation pH and pre-drying storage temperature on properties of kefir powder produced by kefir grains. Applied Sciences, 15(5), 2509. https://doi.org/10.3390/app15052509

Dolan, K. D., Valdramidis, V. P., & Mishra, D. K. (2013). Parameter estimation for dynamic microbial inactivation: Which model, which precision? Food Control, 29(2), 401–408. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.05.042

Dougherty, D. P., Breidt, F., McFeeters, R. F., & Lubkin, S. R. (2002). Energy-based dynamic model for variable temperature batch fermentation by *Lactococcus lactis*. *Applied and Environmental Microbiology,* *68*(5), 2468–2478. https://doi.org/10.1128/AEM.68.5.2468-2478.2002

Franco Guzmán, M., Romero Romo, M. A., Palomar Pardavé, M. E., Cobos Murcia, J. Á., Álvarez Romero, G. A., & Hernández Ramírez, D. (2022). De neuronas biológicas a neuronas artificiales, el fascinante mundo de las redes neuronales. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. https://www.uaeh.edu.mx/divulgacion-ciencia/redes-neuronales/

Gamba, R. R., Ibáñez, A., Sampaolesi, S., Mobili, P., & Golowczyc, M. A. (2025). Fermentation Strategies to Improve Argentinian Kefir Quality: Impact of Double

Fermentation on Physicochemical, Microbial, and Functional Properties. Fermentation, 11(10), 584. https://doi.org/10.3390/fermentation11100584

Garrote, G. L., Abraham, A. G., & De Antoni, G. L. (1998). Characteristics of kefir prepared with different grain:milk ratios. *Journal of Dairy Research, 65*(1), 149–154. https://doi.org/10.1017/S0022029997002677

Gil, M. M., Miller, F. A., Brandão, T. R. S., & Silva, C. L. M. (2011). On the use of the Gompertz model to predict microbial thermal inactivation under isothermal and non-isothermal conditions. *Food Engineering Reviews, 3*, 17–25. https://doi.org/10.1007/s12393-010-9032-2

Gloria. (2018). *Leche Gloria UHT entera*. https://www.gloria.com.pe/site/producto/leche-gloria-uht-entera

Grand View Research. (2024). Kefir Market Size, Share And Trends Analysis Report, 2025 - 2030. https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/kefir-market

Gülbandılar, E., Özmen Akyol, S., Gülbandılar, A., Özcan, G., & Karakuş, N. (2019). Investigation of Yeast Cells Life Cycle Parameters by Using Multi-Layer Perceptron Artificial Neural Network. Afyon Kocatepe University Journal of Science and Engineering, 19(3), 662–668. https://doi.org/10.35414/akufemubid.535991

Hi-Fi SAC Perú. (sin fecha). PH-4502C Liquid pH Sensor with BNC PH Electrode Probe For Arduino. Recuperado el 29 de marzo de 2026, de https://hifisac.com/en/shop/ph-4502c-ph-4502c-liquid-ph-sensor-with-bnc-ph-electrode-probe-for-arduino-3499#attr=

Huang, L. (2013). Optimization of a new mathematical model for bacterial growth. *Food Control, 32*(1), 283–288. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.019

Justel, MA, Outeiriño, EB y Guerra, NP (2026). Producción de kéfir y bebidas similares: Aspectos fundamentales, avances y retos futuros. Processes, 14 (1), 73. https://doi.org/10.3390/pr14010073

Laureys, D., Leroy, F., Vandamme, P., & De Vuyst, L. (2022). *Backslopping time, rinsing of the grains during backslopping, and incubation temperature influence the water kefir fermentation process*. Frontiers in Microbiology, 13, 871550. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.871550

Lee, D., Jayaraman, A., & Kwon, J. S. (2020). Development of a hybrid model for a partially known intracellular signaling pathway through correction term estimation and neural network modeling. *PLOS Computational Biology, 16*(12), e1008472. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1008472

Lee, D. S., Vanrolleghem, P. A., & Park, J. M. (2005). Parallel hybrid modeling methods for a full-scale cokes wastewater treatment plant. Journal of Biotechnology, 115(3), 317–328. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2004.09.001

Leite, A. M. O., Leite, D. C. A., Del Aguila, E. M., Alvares, T. S., Peixoto, R. S., Miguel, M. A. L., Silva, J. T., & Paschoalin, V. M. F. (2013). Microbiological and chemical characteristics of Brazilian kefir during fermentation and storage processes. *Journal of Dairy Science, 96*(7), 4149–4159. https://doi.org/10.3168/jds.2012-6263

Liu, D., & Xiong, W. (2014). Fermentation process modeling with Levenberg–Marquardt algorithm and Runge–Kutta method on ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae*. *Mathematical Problems in Engineering, 2014*, 289492. https://doi.org/10.1155/2014/289492

Magalhães, R. da S., Palma, E. C. T., Procópio, R. da S., & Racowski, I. (2023). Estudo comparativo de ativação dos grãos de kefir sob temperatura ambiente para a produção de leite fermentado. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, 78(2), 73–84. https://doi.org/10.14295/2238-6416.v78i2.933

Malma Villalobos, C. M. (2020). Proceso homofermentativo de kéfir con bacterias probióticas (Lactobacillus rhamnosus) y determinación de su tiempo de vida útil [Tesis de grado, Universidad Nacional del Callao]. Repositorio Institucional UNAC.

Moimenta, A. R., Minebois, R., Henriques, D., Querol, A., & Balsa-Canto, E. (2025). *Temperature-dependent kinetic modeling of nitrogen-limited batch fermentation by yeast species. Mathematics, 13*(9), 1373. https://doi.org/10.3390/math13091373

Montgomery, D. C. (2020). Design and analysis of experiments (10.ª ed.). John Wiley & Sons.

Mordor Intelligence. (2025). Kefir Market - Size, Share, Trends & Forecast 2025 - 2030. https://www.mordorintelligence.com

Moya Almeida, V., Diezma Iglesias, B., & Correa Hernando, E. C. (2021). Artificial neural networks and Gompertz functions for modelling and prediction of solvents produced by the *S. cerevisiae* Safale S04 yeast. *Fermentation*, *7*(4), 217. https://doi.org/10.3390/fermentation7040217

Naylamp Mechatronics. (sin fecha). Sensor de Temperatura Digital DS18B20 Compatible. Recuperado el 29 de marzo de 2026, de https://naylampmechatronics.com/sensores-temperatura-y-humedad/16-sensor-de-temperatura-digital-ds18b20-compatible.html

Pérez, J. (2025). *Elaboración de kéfir de agua y kombucha a escala semi-industrial* (Trabajo de Fin de Máster, Universitat Rovira i Virgili). Repositori URV. https://repositori.urv.cat/repositori/getDocument/TFM:1175

Puentes, C., Girardeau, A., Passot, S., Fonseca, F., & Trelea, I.-C. (2021). Dynamic modeling of Carnobacterium maltaromaticum CNCM I-3298 growth and metabolite production and model-based process optimization. Foods, 10(8), 1922. https://doi.org/10.3390/foods10081922

Ritonja, J., Goršek, A., Pečar, D., Andriukaitis, D., & Polajžer, B. (2023). Practical approaches to the control of milk fermentation with kefir grains. In *Updates on Fermentation*. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.110755

Ritonja, J., Goršek, A., Pečar, D., Petek, T., & Polajžer, B. (2021). Dynamic modeling of the impact of temperature changes on CO_2 production during milk fermentation in batch bioreactors. *Foods, 10*(8), 1809. https://doi.org/10.3390/foods10081809

Rodas Huamán, D. S. (2019). Efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en la elaboración de una bebida funcional [Tesis de título profesional, Universidad Nacional José María Arguedas]. Repositorio Institucional UNAJMA.

Sainz Molestina, I. de. (2019). Producción de kéfir y determinación de la cinética de crecimiento de los granos de kéfir utilizados en su elaboración (Proyecto de graduación, Universidad de Costa Rica). Repositorio Institucional UCR.

Scikit-learn developers. (2026). MLPRegressor. Scikit-learn. Recuperado el 21 de mayo de 2026, de https://scikit-learn.org/stable/modules/generated/sklearn.neural_network.MLPRegressor.html

Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú (SENAMHI). (2026). Boletín informativo: Monitoreo y umbrales de la temperatura del aire en lima – mayo 2026. https://www.senamhi.gob.pe/?&p=boletines

Setoodeh, P., Khademi, M. H., & Jahanmiri, A. (2012). Modeling, control and optimization of a bioreactor using a hybrid neural network approach. *Biochemical Engineering Journal*. https://doi.org/10.1016/j.ces.2012.06.031

Solano-Cornejo, M. A., & Vidaurre-Ruiz, J. M. (2017). Aplicación de modelos cinéticos no estructurados en el modelamiento de la fermentación láctica de subproductos de pesca. Scientia Agropecuaria, 8(4), 367–375. https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.04.08

Soukoulis, C., Panagiotidis, P., Koureli, R., & Tzia, C. (2007). Industrial yogurt manufacture: Monitoring of fermentation process and improvement of final product quality. *Journal of Dairy Science, 90*(6), 2641–2654. https://doi.org/10.3168/jds.2006-802

Tarlak, F., Ozdemir, M., & Melikoglu, M. (2020). Predictive modelling for the growth kinetics of Pseudomonas spp. on button mushroom (Agaricus bisporus) under isothermal and non-isothermal conditions. Food research international (Ottawa, Ont.), 130, 108912. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108912

Teleken, J. T., Galvão, A. C., & Robazza, W. S. (2018). Use of modified Richards model to predict isothermal and non-isothermal microbial growth. Brazilian Journal of Microbiology, 49(3), 614-620. https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.01.005

Triwibowo, B., et al. (2020). The effect of kefir grain concentration and fermentation duration on characteristics of cow milk-based kefir. Journal of Physics: Conference Series, 1444(1), 012001. https://doi.org/10.1088/1742-6596/1444/1/012001

Van Impe, J. F., Nicolaï, B. M., Martens, T., De Baerdemaeker, J., & Vandewalle, J. (1992). Dynamic mathematical model to predict microbial growth and inactivation during food processing. *Applied and Environmental Microbiology, 58*(9), 2901–2909.

Virtanen, P., Gommers, R., Oliphant, T. E. *et al.* SciPy 1.0: algoritmos fundamentales para computación científica en Python. *Nat Methods* 17, 261–272 (2020). https://doi.org/10.1038/s41592-019-0686-2

Yamunaque, I. (2025). *Lamuuú: De vender leche en un cooler a distribuir sus productos lácteos por todo Lima*. Infomercado. https://infomercado.pe/emprendimientos-lamuuu-a-distribuir-sus-productos-lacteos-en-todo-lima-emprendedores-peru/

Yumasir, N. A. (2009). Runge Kutta 4th order method and matlab in modeling of biomass growth and product formation in batch fermentation using differential equations [Tesis de pregrado, Universiti Malaysia Pahang]. UMPSA-IR.

Zajšek, K., & Goršek, A. (2010). Mathematical modelling of ethanol production by mixed kefir grains yeast population as a function of temperature variations. *Biochemical Engineering Journal, 49*(1), 7–12. https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.11.004

Zhao, M., Zhao, S., & Liu, F. (2023). Semi-supervised hybrid modeling of the yeast fermentation process. Machines, 11(1), 63. https://doi.org/10.3390/machines11010063

Zwietering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M., & Van't Riet, K. (1990). Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology, 56*(6), 1875–1881. https://doi.org/10.1128/aem.56.6.1875-1881.1990

IX. ANEXO

Anexo A. Matriz de consistencia.

Título: Desarrollo y validación de un modelo híbrido matemático-computacional para predecir el descenso del pH en la elaboración de kéfir de leche bajo un perfil térmico escalonado controlado.

	Problema	Objetivo	Hipótesis	Variables	Procedimiento metodológico	Indicadores
General	¿Qué modelos se deben emplear para predecir el descenso del pH debido a variaciones de temperatura dentro de un perfil térmico escalonado controlado durante la elaboración de kéfir de leche?	Desarrollar y validar un modelo híbrido matemático-computacional para predecir el descenso del pH durante la elaboración de kéfir de leche bajo un perfil térmico escalonado controlado.	La aplicación de herramientas metodológicas basadas en el modelo Gompertz-Arrhenius y en una red neuronal artificial de tipo perceptrón multicapa permitirá predecir el descenso del pH ante variaciones de temperatura dentro de un perfil térmico escalonado controlado entre 22.5 y 31.5°C, con métricas de validación de R^2 superiores a 0.80 y RMSE inferiores a 0.20.	**Independiente:** temperatura real registrada durante el proceso. **Dependiente:** pH del medio fermentativo. **Controladas:** concentración de inóculo, volumen de sustrato, tipo de leche, tipo de cultivo y frecuencia de registro.	Registro continuo de pH y temperatura; ajuste del modelo Gompertz; integración de la ecuación diferencial Gompertz-Arrhenius mediante Runge-Kutta de cuarto orden usando la temperatura real registrada; entrenamiento de una red neuronal multicapa perceptrón como corrector residual; y validación externa bajo el perfil térmico escalonado controlado.	Temperatura real registrada, tiempo de fermentación, pH experimental tratado, pH teórico Gompertz-Arrhenius, pH híbrido, residuos, R^2 y RMSE.
Específica 1	¿Qué modelo matemático resulta válido para describir el descenso del pH y estimar los parámetros cinéticos durante la elaboración de kéfir bajo condiciones isotérmicas controladas?	Determinar la validez del modelo de Gompertz modificado para describir el descenso del pH y estimar los parámetros cinéticos durante la elaboración de kéfir bajo condiciones isotérmicas controladas.	El ajuste del modelo de Gompertz mediante regresión no lineal permitirá describir el descenso del pH bajo condiciones isotérmicas de 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5°C, obteniendo parámetros cinéticos de acidificación con métricas de validación de R^2 superiores a 0.80.	**Independiente:** temperatura objetivo del medio de fermentación. **Dependiente:** pH experimental tratado. **Controladas:** concentración de inóculo, volumen de sustrato, tipo de leche, tipo de cultivo y frecuencia de registro.	Ejecución de corridas isotérmicas a 22.5, 25.5, 28.5 y 31.5 °C. Tratamiento de datos de pH y ajuste del modelo de Gompertz modificado para estimar los parámetros cinéticos de fermentación.	pH experimental tratado, pH inicial, pH final, velocidad máxima de fermentación, fase de latencia, R^2 y RMSE.
Específica 2	¿De qué manera un modelo matemático diferencial permite evaluar el comportamiento del pH frente a cambios de temperatura dentro de un perfil térmico escalonado controlado durante la elaboración de kéfir?	Evaluar el comportamiento del pH bajo cambios de temperatura dentro de un perfil térmico escalonado controlado durante la elaboración de kéfir mediante la integración del modelo Gompertz-Arrhenius.	La integración del modelo diferencial Gompertz-Arrhenius permitirá describir el comportamiento del pH bajo un perfil térmico escalonado controlado entre 22.5 y 31.5°C, alcanzando métricas de validación con R^2 superior a 0.80 y RMSE inferior a 0.20.	**Independiente:** temperatura real registrada durante el perfil térmico escalonado controlado. **Dependiente:** pH teórico estimado por el modelo Gompertz-Arrhenius. **Controladas:** concentración de inóculo, volumen de sustrato, tipo de leche, tipo de cultivo, frecuencia de registro.	Relación de la velocidad máxima de fermentación con la temperatura promedio real de las corridas isotérmicas mediante la ecuación de Arrhenius para determinación de la energía de activación aparente. Luego se utilizó el modelo diferencial Gompertz-Arrhenius, integrando numéricamente mediante Runge-Kutta de cuarto orden la ecuación de velocidad del pH y actualizando el parámetro Vm con la temperatura real registrada durante el perfil térmico escalonado controlado, para estimar el pH teórico. Finalmente se realizó la validación del modelo teórico.	Temperatura promedio real isotérmica, temperatura registrada del perfil escalonado, $1/T$, $ln(V_m)$, energía de activación aparente, constante preexponencial, $V_m(T)$, pH teórico Gompertz-Arrhenius, R^2 y RMSE.
Específica 3	¿Cuál es el nivel de precisión de la capacidad predictiva de un modelo matemático-computacional frente a variaciones de temperatura dentro de un perfil térmico escalonado controlado?	Validar la capacidad predictiva del algoritmo matemático-computacional basado en Gompertz-Arrhenius, incorporando una red neuronal artificial de tipo perceptrón multicapa como corrector residual.	La implementación de una red neuronal artificial de tipo perceptrón multicapa como corrector residual permitirá mejorar la precisión del modelo matemático computacional para describir el comportamiento del pH bajo un perfil térmico escalonado controlado entre 22.5 y 31.5°C, con métricas de validación de R^2 superior a 0.90 y RMSE inferior a 0.15.	**Independiente / entradas del modelo híbrido:** tiempo de fermentación, temperatura real registrada, pH teórico Gompertz-Arrhenius y derivada local del pH teórico. **Dependiente:** pH predicho por el modelo híbrido. **Controladas:** concentración de inóculo, volumen de sustrato, tipo de leche, tipo de cultivo, frecuencia de registro.	Entrenamiento de una red neuronal perceptrón multicapa utilizando como salida el residual entre el pH experimental tratado y el pH teórico Gompertz-Arrhenius. Posteriormente, el residual estimado fue sumado al pH teórico base para obtener el pH híbrido y evaluar su desempeño en la validación externa.	Residuo del modelo Gompertz-Arrhenius, temperatura registrada del perfil escalonado, residuo corregido, pH híbrido, R^2 y RMSE.

Anexo B. Figuras del proceso experimental.



Figura 26. Activación inicial de los granos en un medio lácteo.



Figura 27. Granos de kéfir en el medio lácteo.



Figura 28. Inoculación previa a la experiencia a diferentes concentraciones.

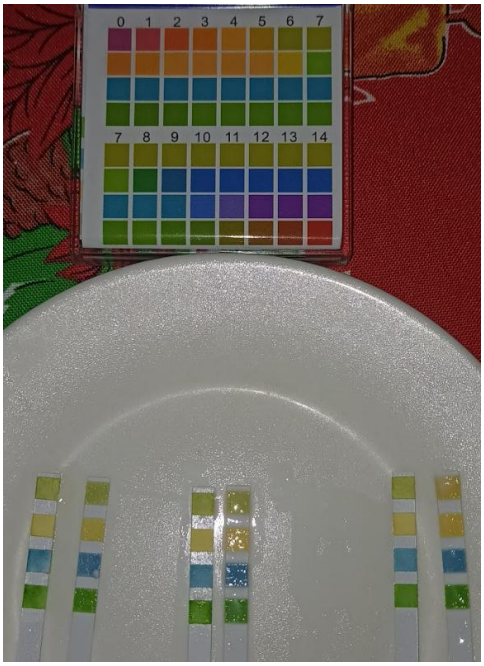

Figura 29. Evaluación del pH con tiras de color a diferentes concentraciones en el tiempo.



Figura 30. Materiales e insumos utilizados en la etapa de inoculación.



Figura 31. Materiales de vidrio utilizados en la experiencia.



Figura 32. Soluciones y materiales utilizados en la calibración del sensor de pH.

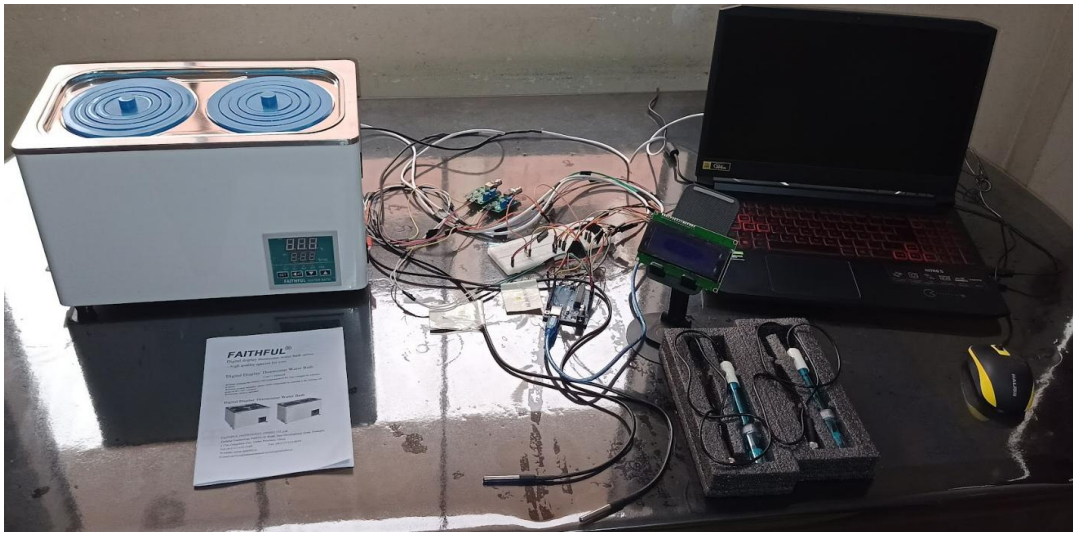

Figura 33. Baño maría, sensores de temperatura, sensores de pH y laptop utilizada.

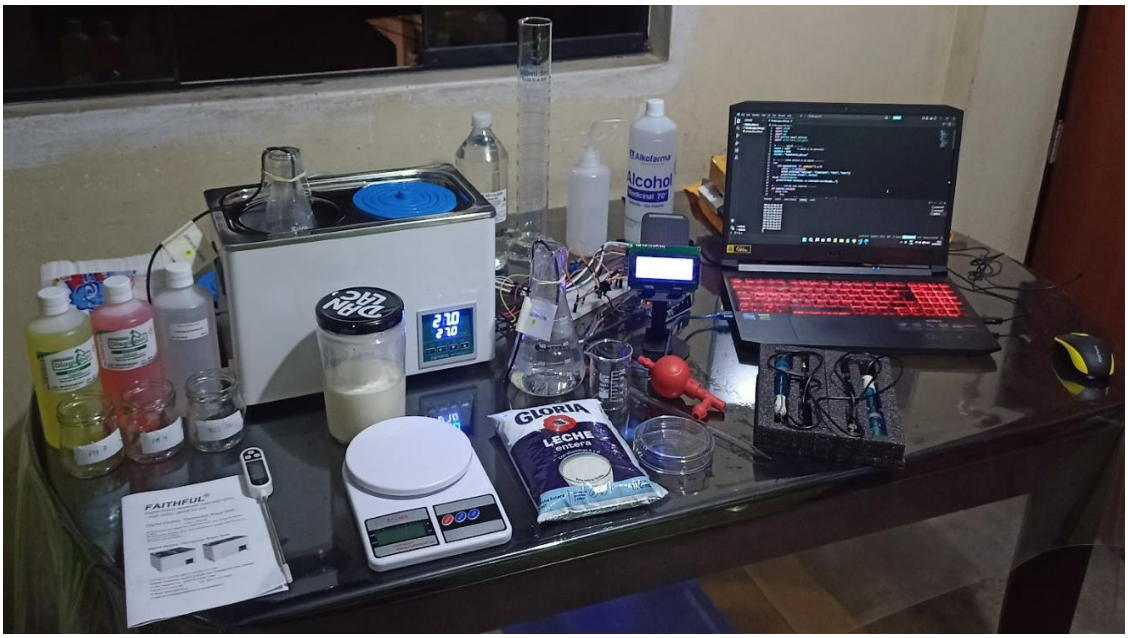

Figura 34. Equipos, materiales e insumos en el área de trabajo.

```
// -------- pH --------
const int pinPh1 = A0;
const int pinPh2 = A1;

void setup() {
  Serial.begin(9600);

  lcd.init();
  lcd.backlight();

  lcd.setCursor(0,0);
  lcd.print(" ");
  delay(2000);

  Serial.println("Voltaje_pH1(V),Voltaje_pH2(V)");
}

void loop() {

  // -------- LECTURA --------
  int lectura1 = analogRead(pinPh1);
  int lectura2 = analogRead(pinPh2);

  float V1 = lectura1 * (5.0 / 1023.0);
  float V2 = lectura2 * (5.0 / 1023.0);

  float mV1 = V1 * 1000;
  float mV2 = V2 * 1000;
```

Figura 35. Código para la lectura de voltaje en Arduino para la calibración de sensores de pH con las soluciones buffer de pH 4 y 7.



Figura 36. Calibración de los sensores de pH con los buffers de pH 7 y pH 4 previo a la experiencia.



Figura 37. Proceso de filtrado de los granos previo a la etapa de inoculación.

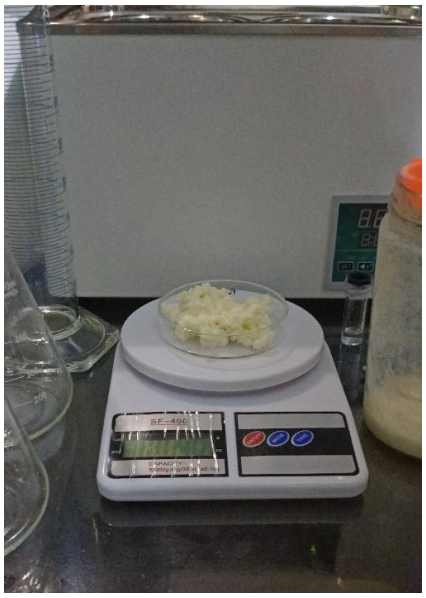

Figura 38. Proceso de pesado de los granos previo a la etapa de inoculación.



Figura 39. Acondicionamiento de los granos en los recipientes esterilizados previo a la etapa de inoculación.



Figura 40. Comparación de la temperatura registrada por el baño maría con la del sensor local de temperatura.

```
#include <LiquidCrystal_I2C.h>
#include <OneWire.h>
#include <DallasTemperature.h>

// -------- LCD --------
LiquidCrystal_I2C lcd(0x27, 16, 2);

// -------- pH --------
const int pinPh1 = A0;
const int pinPh2 = A1;

// -------- Temperatura --------
#define ONE_WIRE_BUS 2
OneWire oneWire(ONE_WIRE_BUS);
DallasTemperature sensors(&oneWire);

// -------- TIEMPOS --------
unsigned long t_lcd = 0;
unsigned long t_registro = 0;

const unsigned long intervalo_lcd = 1000;
const unsigned long intervalo_registro = 60000;

// -------- CONTADOR --------
unsigned long contador = 0;

// -------- CALIBRACIÓN (SIMULADA) --------
float m1 = -5.882352941;
float b1 = 30.44117647;

float m2 = -5.769230769;
float b2 = 30.25;
```

Figura 41. Código para la lectura de temperatura y pH con los sensores en Arduino.

```python
import serial
import time
import csv
import os
from datetime import datetime

# -------- CONFIGURACIÓN --------
PUERTO = "COM5"
BAUDRATE = 9600
ARCHIVO = "datos_fermentacion_22_5.csv"

CABECERA = ["Horario", "Tiempo(min)", "T1", "pH1", "T2", "pH2"]


# -------- CREAR ARCHIVO --------
if not os.path.exists(ARCHIVO):
    with open(ARCHIVO, "w", newline="") as f:
        writer = csv.writer(f)
        writer.writerow(CABECERA)
    print(f"Archivo creado: {ARCHIVO}")
else:
    print(f"Continuando registro en: {ARCHIVO}")


# -------- ÚLTIMO TIEMPO REGISTRADO --------
def obtener_siguiente_tiempo():
    if not os.path.exists(ARCHIVO):
        return 0

    with open(ARCHIVO, "r", newline="") as f:
        reader = list(csv.reader(f))

    if len(reader) <= 1:
        return 0
```

Figura 42. Código en Python para el almacenamiento de datos leídos por Arduino.



Figura 43. Monitoreo y seguimiento constante durante la fermentación y registro de datos por los sensores de pH y temperatura.

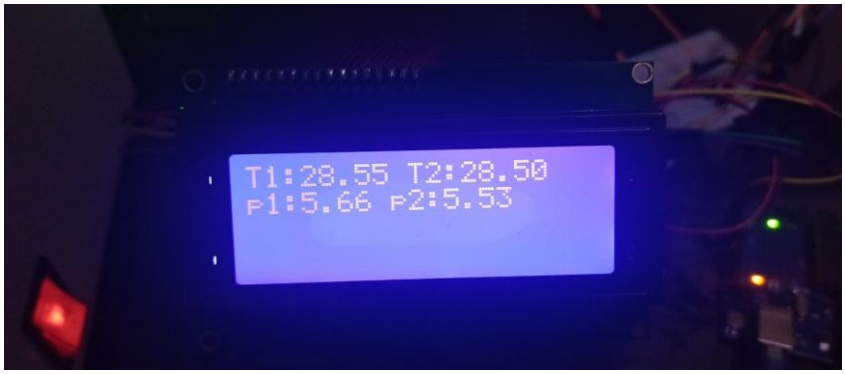

Figura 44. Visualización de los datos registrados en tiempo real en una pantalla LCD.



Figura 45. Matraces inoculados durante el proceso de fermentación en el baño maría.



Figura 46. Aspecto del sistema en el matraz durante la fermentación.



Figura 47. Aspecto del sistema por sobrefermentación.



Figura 48. Aspecto del ensuciamiento del electrodo posterior a la fermentación.

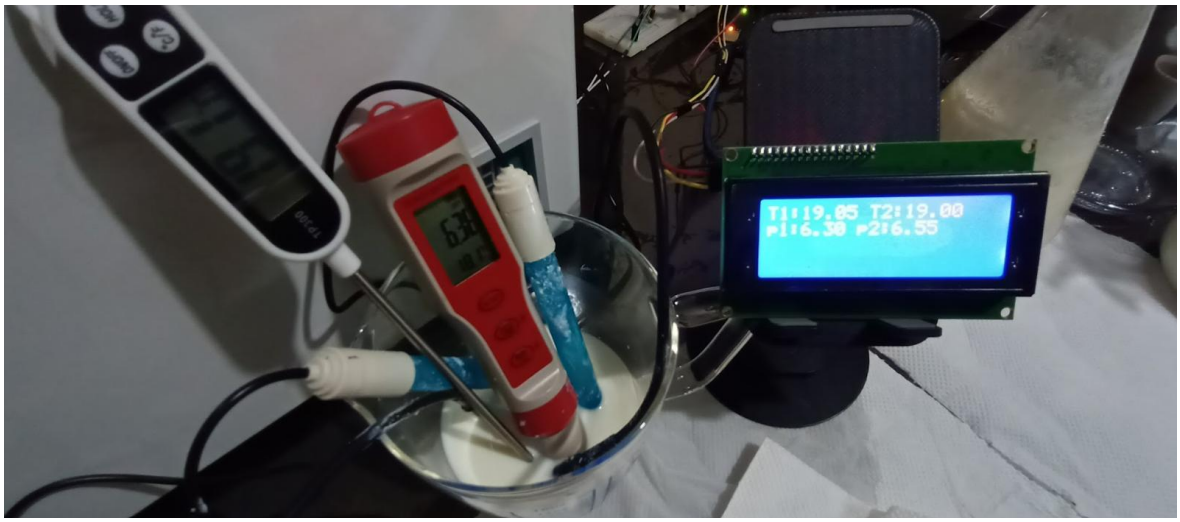

Figura 49. Comparación del registro de pH de los sensores en tiempo real y el sensor de pH local. Comparación del registro de temperaturas de los sensores en tiempo real y el sensor de temperatura local.



Figura 50. Evaluación de la lectura de pH del sustrato lácteo con el sensor local.

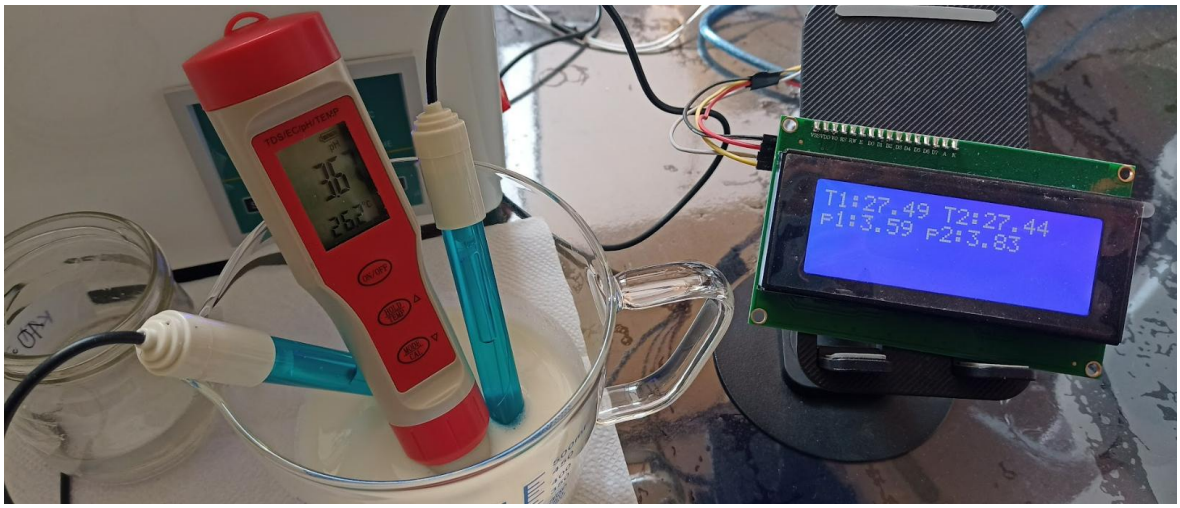

Figura 51. Comparación del registro de pH de los sensores calibrados en tiempo real y el sensor de pH local.



Figura 52. Comparación de valores de pH y temperatura de los sensores locales y sensores en tiempo real posterior a la etapa de fermentación en una solución de pH 7.



Figura 53. Valores registrados en la pantalla LCD de los sensores de pH y temperatura de la solución de pH 7.

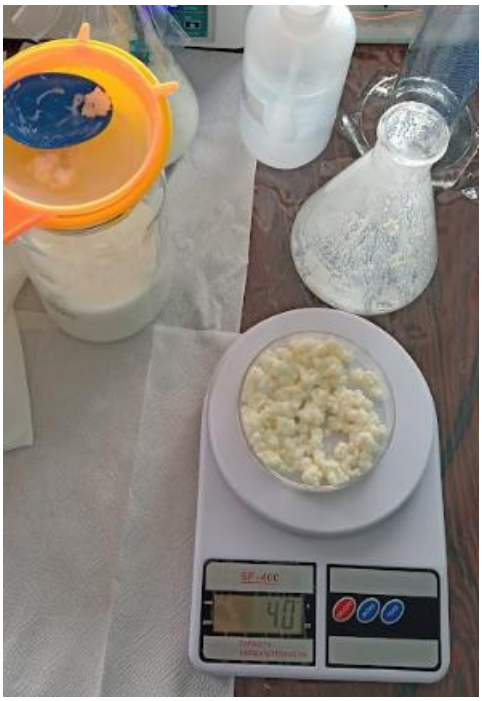

Figura 54. Filtrado y pesado consecutivo entre fermentaciones.

```
from pathlib import Path
import warnings
import unicodedata
import re
import json
import joblib

warnings.filterwarnings("ignore")

import numpy as np
import pandas as pd
import matplotlib.pyplot as plt

from sklearn.pipeline import Pipeline
from sklearn.preprocessing import StandardScaler
from sklearn.neural_network import MLPRegressor
from sklearn.metrics import mean_absolute_error, mean_squared_error, r2_score
```

Figura 55. Librerías utilizadas en el código de entrenamiento en Python.

```python
# ============================================================
# 1. CONFIGURACIÓN FINAL GANADORA
# ============================================================

ARCHIVOS_POSIBLES_ENTRENAMIENTO = [
    "entrenm_datos.xlsx",
    "entrenm_datos(6).xlsx",
    "entrenm_datos(5).xlsx",
]

CARPETA_SALIDA = Path("resultados_entrenamiento_final_mlp_ganadora")
CARPETA_GRAFICAS = CARPETA_SALIDA / "graficas"
CARPETA_MODELOS = CARPETA_SALIDA / "modelos"

CARPETA_SALIDA.mkdir(exist_ok=True)
CARPETA_GRAFICAS.mkdir(exist_ok=True)
CARPETA_MODELOS.mkdir(exist_ok=True)

RANDOM_STATE = 42

FEATURE_COLS = [
    "t_min",
    "t_norm",
    "T_real_C",
    "pH_rk4_arh",
    "dpH_rk4_dt",
]

CAPAS_MLP = (8, 4)
ACTIVACION = "tanh"
ALPHA = 0.005
LEARNING_RATE = 0.0005
MAX_ITER = 6000
N_ITER_NO_CHANGE = 100
```

```python
    # Variable objetivo de la MLP.
    df["residual_real"] = df["pH_lowess"] - df["pH_rk4_arh"]
```

Figura 56. Diseño de la red MLP en Python en la etapa de entrenamiento.

```python
# ============================================================
# 4. ENTRENAMIENTO DIRECTO DE LA MLP
# ============================================================

def construir_modelo_ganador():
    return Pipeline(
        steps=[
            ("scaler", StandardScaler()),
            ("mlp", MLPRegressor(
                hidden_layer_sizes=CAPAS_MLP,
                activation=ACTIVACION,
                solver="adam",
                alpha=ALPHA,
                learning_rate_init=LEARNING_RATE,
                max_iter=MAX_ITER,
                early_stopping=True,
                validation_fraction=0.15,
                n_iter_no_change=N_ITER_NO_CHANGE,
                random_state=RANDOM_STATE,
            ))
        ]
    )
```

Figura 57. Construcción de la red MLP en Python en la etapa de entrenamiento.

```python
def entrenar_modelo_final(df_all):
    X = df_all[FEATURE_COLS].to_numpy(dtype=float)
    y = df_all["residual_real"].to_numpy(dtype=float)

    modelo = construir_modelo_ganador()
    modelo.fit(X, y)

    pred = df_all.copy()
    pred["residual_mlp"] = modelo.predict(X)
    pred["pH_hibrido"] = pred["pH_rk4_arh"] + pred["residual_mlp"]

    pred["residual_rk4"] = pred["pH_lowess"] - pred["pH_rk4_arh"]
    pred["residual_hibrido"] = pred["pH_lowess"] - pred["pH_hibrido"]

    pred["error_abs_rk4"] = np.abs(pred["residual_rk4"])
    pred["error_abs_hibrido"] = np.abs(pred["residual_hibrido"])

    return modelo, pred
```

Figura 58. Entrenamiento de la red MLP en Python.



Figura 59. Control térmico en el baño maría en el descenso de temperatura durante el registro de datos para la validación externa.

```
42  from pathlib import Path
43  import warnings
44  import unicodedata
45  import re
46  import json
47  import joblib
48
49  warnings.filterwarnings("ignore")
50
51  import numpy as np
52  import pandas as pd
53  import matplotlib.pyplot as plt
54
55  from sklearn.metrics import mean_absolute_error, mean_squared_error, r2_score
```

Figura 60. Librerías utilizadas en el código de validación externa ciega en Python.

```python
# ============================================================
# 1. CONFIGURACIÓN GENERAL
# ============================================================

ARCHIVOS_POSIBLES_VALIDACION = [
    "valida_ext_datos.xlsx",
    "valida_ext_datos(5).xlsx",
    "valida_ext_datos(4).xlsx",
    "validacion_externa.xlsx",
]

MODELOS_POSIBLES = [
    Path("resultados_entrenamiento_final_mlp_ganadora") / "modelos" / "modelo_hibrido_mlp_ganador_final.joblib",
    Path("modelos") / "modelo_hibrido_mlp_ganador_final.joblib",
    Path("modelo_hibrido_mlp_ganador_final.joblib"),
]

CARPETA_SALIDA = Path("resultados_validacion_externa_mlp_ganadora")
CARPETA_GRAFICAS = CARPETA_SALIDA / "graficas"

CARPETA_SALIDA.mkdir(exist_ok=True)
CARPETA_GRAFICAS.mkdir(exist_ok=True)

FEATURE_COLS = [
    "t_min",
    "t_norm",
    "T_real_C",
    "pH_rk4_arh",
    "dpH_rk4_dt",
]
```

Figura 61. Diseño del código para la validación externa ciega en Python.

```python
# ============================================================
# 4. APLICACIÓN DEL MODELO ENTRENADO
# ============================================================

def aplicar_modelo_externo(modelo, df_ext):
    faltantes = [c for c in FEATURE_COLS if c not in df_ext.columns]
    if faltantes:
        raise ValueError(f"Faltan columnas necesarias para la MLP: {faltantes}")

    X_ext = df_ext[FEATURE_COLS].to_numpy(dtype=float)

    pred = df_ext.copy()
    pred["residual_mlp"] = modelo.predict(X_ext)
    pred["pH_hibrido"] = pred["pH_rk4_arh"] + pred["residual_mlp"]

    pred["residual_rk4"] = pred["pH_lowess"] - pred["pH_rk4_arh"]
    pred["residual_hibrido"] = pred["pH_lowess"] - pred["pH_hibrido"]

    pred["error_abs_rk4"] = np.abs(pred["residual_rk4"])
    pred["error_abs_hibrido"] = np.abs(pred["residual_hibrido"])

    return pred
```

Figura 62. Aplicación de la red entrenada sobre los datos de ingreso y salida del pH híbrido y residuos del modelo híbrido y matemático.

Anexo C. Carpeta digital con datos, códigos y modelo entrenado.

Como parte del desarrollo de la presente investigación, se organizó una carpeta digital con los archivos utilizados durante el tratamiento de datos y el modelamiento matemático-computacional. Esta carpeta se incluyó como material de respaldo, con la finalidad de dejar constancia de los archivos de trabajo empleados y facilitar su revisión.

En la carpeta digital se incluyeron las bases de datos experimentales en formato Excel, los códigos desarrollados en Arduino y Python, y el modelo entrenado de la red neuronal perceptrón multicapa. Los resultados, tablas y figuras obtenidos a partir de estos archivos fueron presentados en el cuerpo principal de la tesis.

El acceso a la carpeta digital se encuentra disponible mediante el siguiente enlace: https://drive.google.com/drive/folders/1zwKADqEiD81HJAHRkQtO-uIemVgsQdiF?usp=drive_link

Fecha de actualización: 25/06/2026

Carpeta	Contenido	Descripción
01_Archivos_Excel	Archivos de datos experimentales y hojas de cálculo	Contiene los registros de pH y temperatura, los datos tratados y los cálculos empleados para el ajuste Gompertz, la relación de Arrhenius y la resolución por Rungue Kutta de cuarto orden obteniendo el pH teórico.
02_Codigos_Python_Arduino	Códigos de registro procesamiento y modelamiento	Incluye los códigos utilizados para la calibración de los sensores de pH, registro de datos, el entrenamiento de la red MLP, la validación externa y la obtención de métricas.
03_Modelo_MLP	Modelo computacional entrenado	Contiene el archivo del modelo híbrido entrenado, empleado para la corrección residual mediante perceptrón multicapa.

La carpeta digital se presentó únicamente como material de respaldo de la tesis. Por ello, no reemplazó la descripción metodológica desarrollada en el documento principal, sino que sirvió para conservar los archivos empleados en el tratamiento de datos, el ajuste del modelo Gompertz-Arrhenius, el entrenamiento del modelo híbrido y la validación externa ciega.