



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

UNIDAD ZACATENCO

DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA

**Análisis, diseño e implementación de observadores no lineales en diferentes
modelos biológicos.**

Tesis que presenta:

Rigel Valentín Gómez Acata

Para obtener el grado de

DOCTOR EN CIENCIAS

EN LA ESPECIALIDAD DE BIOTECNOLOGÍA

Director de la Tesis: **Ricardo Aguilar López**

Ciudad de México

Junio, 2016

Agradecimientos

Al **CINVESTAV** y al **CONACyT** por su apoyo en la realización de este proyecto.

A mi familia

A mis amigos

A Sai

Resumen

Una pregunta clave en el diseño de bioprocesos y en particular para un biorreactor, es como monitorear todas sus variables críticas en línea y a bajo costo, con la finalidad de conocer la dinámica de un bioproceso y poder llevarlo al estado de operación deseado (alta productividad y rendimiento) mediante estrategias de control. Algunas de estas variables críticas se pueden monitorear usando sensores en línea, por ejemplo: las concentraciones del oxígeno disuelto y la biomasa, la temperatura, el pH, la presión y el/los flujo(s) de entrada y salida de un biorreactor. Sin embargo, se tiene el problema de que ciertos bioproductos (como los lípidos, pigmentos, proteínas, etc.) sólo se pueden medir fuera de línea (no existen sensores en línea para la mayoría de los bioproductos) y en la mayoría de las veces con tiempos largos de medición, con la desventaja de que alguna perturbación (por ejemplo, cambios en las concentraciones de los sustratos que se alimenten al reactor, inhibición metabólica, *quorum sensing*, etc.) que afecte el desempeño de un biorreactor no se podría detectar a tiempo para corregirse a través de una ley de control.

Para resolver el problema anterior, existen algoritmos matemáticos que pueden estimar el valor de ciertas variables de un bioproceso para las cuales no se cuenta con un sensor. Dichos algoritmos emplean un modelo matemático del bioproceso estudiado y necesitan al menos los datos en tiempo real de alguna variable que si pueda medirse. Estos algoritmos son conocidos como *Sensores virtuales*, *Estimadores de estados* u *Observadores* (Dochain, 2013). Entre los Observadores clásicos en la literatura se pueden mencionar el de Luenberger, modos deslizantes y el de alto orden, que a pesar de su extenso uso presentan la desventaja de no ser robustos a ruido en las mediciones y/o las incertidumbres de modelado o presentar *chattering*, ocasionando inestabilidades en el desempeño de los controladores basados en observadores.

Por lo anterior, es fundamental diseñar nuevos algoritmos de estimación de estados capaces de superar las desventajas mencionadas anteriormente. En este trabajo se diseñaron tres observadores no lineales robustos al ruido en medición y/o las incertidumbres del modelado. La robustez fue demostrada analíticamente a través de la dinámica del error y por simulación al implementarse a tres modelos biológicos reportados en la literatura: un modelo de biorreactor sulfato-reductor, un modelo de transcripción de genes y un modelo del quimiostato. Los tres modelos de manera previa se analizaron con respecto a su observabilidad y en ciertos casos a su dinámica y estabilidad. Finalmente, se comparó el desempeño de las tres propuestas de observadores por simulación, con el observador de Luenberger extendido, el observador de modos deslizantes, el observador de alto orden y el observador tangente hiperbólico, presentando mejores desempeños los nuevos diseños de observadores al disminuir el tiempo de convergencia y los sobresaltos en la estimación de estados.

Abstract

A key question in the design of bioprocesses and in particular for a bioreactor, is how to monitor all critical variables online and at low cost, in order to understand the dynamics of a bioprocess and to take it to the desired operating conditions (high productivity and yield) by control strategies. Some of these critical variables can be monitored using online sensors, for example: the concentration of dissolved oxygen and biomass, temperature, pH, pressure and the bioreactor's input/output flow(s). However, it has the problem that certain bioproducts (such as lipids, pigments, proteins, etc.) can only be determined offline (there are not sensors for many bioproducts) and often with long measurement times, with the disadvantage that any perturbation (eg alterations in the substrate feed concentration to the reactor, metabolic inhibition, quorum sensing, etc.) that affects the performance of a bioreactor could not be detected in time to be corrected through a controller law.

To solve the above problem, there are mathematical algorithms that can estimate the value of certain bioprocess variables for which there is not a sensor. These algorithms use a mathematical description of bioprocess studied and need at least the real time data of some variable measurable. These algorithms are known as virtual sensors, state estimators or observers (Dochain, 2013). Among the classic Observers in literature it is has the Luenberger, sliding mode and high order observer, which despite their widespread use have the disadvantages of not being robust to noise measurements and/or modeling uncertainties or show chattering, causing instabilities in the performance of observed-based controllers.

Therefore, it is necessary to design new algorithms for state estimation which can overcome the disadvantages mentioned above. In this paper three nonlinear observers robust to noise measurement and/or modeling uncertainties were designed. The robustness was demonstrated analytically through the error dynamics proof and by simulation employing three biological models reported in the literature: a sulfate-reducing bioreactor model, a gene transcription model and a chemostat model. The three models were analyzed previously with respect to their observability and in some cases their dynamics and stability. Finally, the performance of the three observers proposed were compared with the extended Luenberger observer, the sliding mode observer, the high order observer and the hyperbolic tangent observer, giving the best performances the new observers designed by decreasing the convergence time and the overshooting in the estimated variables.

CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	I
ÍNDICE DE FIGURAS	II
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. PROCESO Y CLASIFICACIÓN DE LOS MODELOS MATEMÁTICOS EN SISTEMAS BIOLÓGICOS.....	1
1.2. SISTEMA DINÁMICO	4
1.2.1. <i>Espacio de estados</i>	5
1.2.2. <i>Tiempo</i>	5
1.2.3. <i>Operador de evolución</i>	6
1.2.4. <i>Orbitas y retratos fase</i>	6
1.2.5. <i>Sistema lineal</i>	7
1.2.6. <i>Sistema no lineal</i>	8
1.2.7. <i>Linealización de un sistema no lineal</i>	8
1.3. ESTABILIDAD DE UN SISTEMA	11
1.3.1. <i>Primer método de Lyapunov (valores propios)</i>	13
1.3.2. <i>Segundo método de Lyapunov (Funciones de Lyapunov)</i>	14
1.3.3. <i>Clasificación de la estabilidad de sistemas planos</i>	15
1.3.4. <i>Bifurcación</i>	16
2. ANTECEDENTES	19
2.1. EL PROBLEMA DE LA ESTIMACIÓN DE ESTADOS Y PARÁMETROS EN EL CONTROL DE PROCESOS	19
2.2. DEFINICIÓN DE OBSERVADOR	21
2.2.1. <i>Observador de Luenberger</i>	24
2.2.2. <i>Observador de Kalman</i>	26
2.2.3. <i>Observador de Kalman Extendido</i>	28
2.2.4. <i>Observador de Alta-Ganancia</i>	29
2.3. OBSERVABILIDAD	33
2.3.1. <i>Pruebas de Observabilidad</i>	34
2.3.1.1. <i>Matriz de Observabilidad</i>	34
2.3.1.2. <i>Criterio algebraico-diferencial</i>	35
2.3.2. <i>Prueba de detectabilidad</i>	35
2.3.3. <i>Descomposición en valores singulares y número de condición</i>	36
2.3.3.1. <i>Descomposición en Valores Singulares</i>	36
2.3.3.2. <i>Número de condición</i>	36
2.4. ESTIMACIÓN DE ESTADOS EN BIORREACTORES	37
3. JUSTIFICACIÓN	39
4. HIPÓTESIS.....	41
5. OBJETIVOS	42
5.1. OBJETIVO GENERAL.....	42
5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	42

6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	44
7. SISTEMAS DE ESTUDIO.....	45
7.1. BIORREACTOR SULFATO REDUCTOR	45
7.2. MODELO DE TRANSCRIPCIÓN DE GENES	47
7.3. MODELO DE HIDRÓLISIS DE CARBOXIMETILCELULOSA EN UN QUIMIOSTATO	49
7.4. MODELO DE PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS POR MORTIERELLA ISABELLINA	51
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	53
8.1. DISEÑO DE LOS OBSERVADORES	53
8.1.1. <i>Observador robusto a errores de modelado.</i>	53
8.1.2. <i>Observador robusto a ruido en mediciones.</i>	56
8.1.3. <i>Observador robusto a errores de modelado y ruido en medición.</i>	59
8.2. ANÁLISIS DINÁMICO DE LOS SISTEMAS DE ESTUDIO	62
8.2.1. <i>Análisis de la dinámica de un biorreactor sulfato reductor con y sin recirculación de biomasa.</i>	62
8.2.2. <i>Análisis del comportamiento dinámico de un biorreactor con un coeficiente de rendimiento no convencional.</i>	64
8.2.3. <i>Análisis de la productividad de micodiesel en un biorreactor de flujo continuo por Mortierella isabellina.</i>	74
8.3. ANÁLISIS DE OBSERVABILIDAD	77
8.3.1. <i>Análisis de la observabilidad del modelo sulfato reductor</i>	77
8.3.2. <i>Análisis de la observabilidad del modelo de transcripción de genes.</i>	78
8.3.3. <i>Análisis de la observabilidad del modelo de hidrólisis de carboximetilcelulosa en un quimiostato.</i>	82
8.3.4. <i>Análisis de la observabilidad del modelo de micodiesel: análisis de los valores singulares y número de condición de la matriz de observabilidad.</i>	83
8.4. IMPLEMENTACIÓN DE LOS OBSERVADORES	85
8.4.1. <i>Diseño de un sensor virtual robusto para la estimación en línea en un biorreactor sulfato reductor</i>	85
8.4.2. <i>Observador no lineal robusto a incertidumbres de modelado y ruido en medición aplicado a un modelo de transcripción de genes</i>	88
8.4.3. <i>Diseño de un observador no lineal robusto aplicado a un biorreactor continuo de rendimiento celular no convencional con comportamiento oscilatorio</i>	94
8.4.4. <i>Análisis de la estimación de estados durante la síntesis de micodiesel en un biorreactor de flujo continuo considerando condiciones de operación y salidas medibles</i>	97
9. CONCLUSIONES.....	99
10. PERSPECTIVAS	101
11. BIBLIOGRAFÍA	102
12. ANEXO	109
PRODUCTOS DE LA TESIS.....	109
COLABORACIONES	110

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de Estabilidad local. Determinante (Det [J]), Traza (Tr [J]) y Discriminante (Tr [J] – 4Det [J]) de la matriz Jacobiana [J] (Simmons, 1991).	16
Tabla 2. Modelos de crecimiento no estructurado y los parámetros cinéticos obtenidos por (Agarwal et al., 2009) para la hidrólisis de CMC por <i>Cellulomonas cellulans</i> en un biorreactor.	65
Tabla 3. Valores propios y puntos de equilibrio obtenidos para cada modelo cinético de crecimiento a las mismas condiciones iniciales. Restricción: rendimiento celular constante.	67
Tabla 4. Modelos no estructurados en estudio así como su primera derivada con respecto al sustrato (S).	68
Tabla 5. Puntos de equilibrio y sus valores propios para cada modelo cinético de crecimiento celular. Restricción: Rendimiento celular variable.	72
Tabla 6. Condiciones iniciales para el modelo de expresión de genes y para ambos observadores utilizados.	89
Tabla 7. Valores de los parámetros para el modelo de expresión de genes y ambos observadores.	89
Tabla 8. Ganancias utilizadas en la sintonización de los observadores.	90
Tabla 9. Condiciones de operación y ganancias del observador de Luenberger empleadas para la estimación del micodiesel.	97

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación gráfica de los tipos de estabilidad local en un sistema de 2 dimensiones (Simmons, 1991).....	16
Figura 2. El observador como el corazón de los sistemas de control (tomado de Besancón, 2007).	22
Figura 3. Biorreactor con recirculación de biomasa.....	47
Figura 4. Diagramas de bifurcación de un biorreactor sulfato-reductor con y sin recirculación de biomasa (A-D y a-d, respectivamente). Condiciones iniciales y de operación: Biomasa inicial (X_i)=350 mg L ⁻¹ ; Na ₂ SO ₄ inicial (S_i)=1000 mg L ⁻¹ ; Sulfuro inicial (P_i)=600 mg L ⁻¹ ; α =0.1; C=10)	63
Figura 5. Rendimiento de biomasa no lineal como una función tipo Gaussiana.	64
Figura 6. Diagramas de bifurcación (izquierda) y Diagramas de productividad (Pr) (derecha) a S_i , 2, 4, 8 & 12 Kg m ⁻³ ; y Y, 0.61, 0.36, 0.10, 0.07 Kg biomasa KgCMC ⁻¹ respectivamente, donde BP1 (condición de cultivo por lote), BP2 (condición de lavado) y LP (velocidad de dilución máxima) son señalados.	66
Figura 7. Retrato fase para los modelos de Andrew, Haldane, Han-Levenspiel, Luong, Moser y Aiba; a $D=0.09$ h ⁻¹ ; $S_0=8$ Kg m ⁻³ ; $X_0=1.44$ Kg m ⁻³ y $Y=0.10$ Kg biomasa KgCMC ⁻¹	69
Figura 8. Diagramas de bifurcación (izquierda) a S_i , 2, 4, 8 & 12 Kg m ⁻³ ; y Y como una función tipo Gaussiana (Kg biomasa Kg CMC ⁻¹), donde BP1 (condición de cultivo por lote) y BP2 (condición de lavado) y LP (tasa de dilución máxima) fueron señaladas. Los diagramas de productividad (derecha) a las mismas S_i y Y; para los modelos de Aiba, Luong, Han—Levenspiel, Haldane y Aiba.	70
Figura 9. Retrato fase para Andrew, Haldane, Han-Levenspiel, Luong, Moser y Aiba; a $D=0.09$ h ⁻¹ ; $S_i=8$ Kg m ⁻³ ; $X_i=1.44$ Kg m ⁻³ y Y como una función tipo Gaussiana.	71
Figura 10. Diagramas de bifurcación a S_i , 2, 4, 8 & 12 Kg m ⁻³ . donde se muestra la parte imaginaria de los valores propios, la cual indica el intervalo donde el biorreactor tiene un comportamiento oscilatorio. Se señalan únicamente las bifurcaciones de Hopf. El rendimiento celular fue modelado como una función tipo Gaussiana (Kg biomasa Kg CMC ⁻¹)	73
Figura 11. Continuación de la bifurcación de Hopf ($S_i=8$ Kg m ⁻³). A la izquierda se muestra la amplitud de las oscilaciones para CMC y biomasa; a la derecha, el periodo de las oscilaciones entre dos puntos Hopf.	74
Figura 12. Diagrama de bifurcación del modelo matemático de producción de lípidos en un biorreactor por <i>Mortierella isabellina</i> a varias relaciones de Carbono/Nitrógeno (C/N). Puntos de bifurcación: Punto de ramificación (BP); Punto límite (LP); Punto silla (H).	75
Figura 13. Diagrama de bifurcación del modelo de producción de lípidos por <i>Mortierella isabellina</i> a varias relaciones de carbono/nitrógeno (C/N). Variable de respuesta: concentración de sustrato. La tasa de dilución es el parámetro de bifurcación. Puntos de bifurcación: Punto de ramificación (BP); Punto límite (LP); Punto silla (H).	75
Figura 14. Diagrama de bifurcación del modelo de producción de lípidos por <i>Mortierella isabellina</i> a varias relaciones de carbono/nitrógeno (C/N). Variable de respuesta: concentración de Nitrógeno. La tasa de dilución es el parámetro de bifurcación: Punto de ramificación (BP); Punto límite (LP); Punto silla (H).	76
Figura 15. Diagrama de bifurcación del modelo de producción de lípidos por <i>Mortierella isabellina</i> a varias relaciones de carbono/nitrógeno (C/N). Variable de respuesta: concentración de biomasa. La tasa de dilución es el parámetro de bifurcación: Punto de ramificación (BP); Punto límite (LP); Punto silla (H). ..	76

Figura 16. Diagrama de bifurcación del modelo de producción de lípidos por <i>Mortierella isabellina</i> a varias relaciones de carbono/nitrógeno (C/N). Variable de respuesta: productividad de lípidos. La tasa de dilución es el parámetro de bifurcación: Punto de ramificación (BP); Punto límite (LP); Punto silla (H)..	77
Figura 17. Valores singulares de la matriz de observabilidad, considerando como salida medible la biomasa (C1) y la pareja biomasa + sustrato (C1+C2).	84
Figura 18. Número de condición de la matriz de observabilidad a diferentes tasas de dilución y para la biomasa como salida medible (C1) o para biomasa-sustrato (C1+C2). Escala logarítmica.....	84
Figura 19. Convergencia de la trayectoria del sulfato estimado con el sulfato medible.	86
Figura 20. Desempeño del observador propuesto comparado con el observador de modos deslizantes y el observador de modos deslizantes de alto orden (HOSM). Dinámica de la biomasa.	86
Figura 21. Desempeño del observador propuesto comparado con el observador de modos deslizantes y el observador de modos deslizantes de alto orden (HOSM). Dinámica del sulfuro.....	87
Figura 22. Comparación de las trayectorias estimadas para el observador propuesto, el observador de modos deslizantes y el observador de modos deslizantes de alto orden.	87
Figura 23. Dinámica de la estimación del error para la biomasa y el sulfuro.	88
Figura 24. Series de tiempo del mRNA y las tres proteínas, valores reales y estimados. La señal del mRNA fue corrompida por ruido aleatorio. Además, en el modelo fueron consideradas incertidumbres en los valores nominales de las constantes en las velocidades de reacción.	91
Figura 25. Proyección de la trayectoria real y las estimadas para el mRNA, proteína 1 y 2.	91
Figura 26. Proyección de la trayectoria real y las estimadas para las tres proteínas.	92
Figura 27. Error de estimación del mRNA y las tres proteínas.....	92
Figura 28. Error de estimación de las proteínas 1 y 2.	93
Figura 29. Error de estimación global de ambos observadores.....	93
Figura 30. Dinámica real y estimada para la concentración de CMC.....	95
Figura 31. Dinámica real y estimada para la concentración de biomasa.....	95
Figura 32. Retrato fase-tiempo de las trayectorias estimadas y la real del modelo del quimiostato.	96
Figura 33. Dinámica del error para la propuesta de observador comparado con el observador de Luenberger.	96
Figura 34. Estimación de las variables de estado para el modelo de producción de micodiesel por <i>Mortierella isabellina</i> usando el observador de Luenberger y considerando a la biomasa o el par biomasa-sustrato como salidas medibles del sistema. El observador de Luenberger parte de una condición inicial diferente a la del modelo de la planta. Azúcares hidrolizados (S), Nitrógeno amoniacal (N), Biomasa (X) y Lípidos (L).	98
Figura 35. Índice de desempeño (ITSE) del observador de Luenberger para una salida medible (biomasa) y múltiples salidas medibles (biomasa-sustrato).	98

1. INTRODUCCIÓN

1.1. PROCESO Y CLASIFICACIÓN DE LOS MODELOS MATEMÁTICOS EN SISTEMAS BIOLÓGICOS

Un proceso, sea físico, químico o biológico, se puede estudiar como un sistema, estableciendo su frontera y por lo tanto cuáles son sus alrededores. Una clasificación de un proceso, los cataloga con base en su modo de operación en: lote, semicontinuo y continuo. Un proceso en lote opera como un sistema cerrado; un proceso en semicontinuo (también llamado lote alimentado en el caso de fermentadores), es un sistema abierto, que permite entrada de masa pero no salida; un proceso en continuo, es un sistema abierto, ya que presenta flujos de entrada y salida de masa (Villadsen, Nielsen, Lidén, & Nielsen, 2011).

1.1.1. *Bioproceso*

Un proceso biológico es aquel, en el cual intervienen microorganismos o parte de estos y también es conocido como bioproceso. Las aplicaciones de los bioprocesos las podemos dividir en general en: producción de un metabolito de interés o la remoción de contaminantes. El corazón de un bioproceso es el biorreactor (Doran, 2013), debido a que esta es la etapa del proceso donde se lleva a cabo la bioconversión. Lo preceden las etapas de la preparación de la materia prima, formulación del medio de cultivo, esterilización y la preparación del inóculo o la enzima a utilizar; y lo suceden



las etapas de separación y/o purificación, esta última en el caso de que se produzcan metabolitos (Vogel & Todaro, 2014).

Un biorreactor es un aparato controlado dentro del cual se llevan a cabo transformaciones bioquímicas por la acción de enzimas o células vivas (Dutta, 2008). Los biorreactores han sido intensamente estudiados tanto experimentalmente, como teóricamente, con la principal finalidad de mejorar su desempeño, es decir, aumentar su productividad y rendimiento. Durante su estudio, se han reportado casos de comportamientos llamados complejos, por ejemplo: multiplicidad de estados estacionarios (Kim, Song, Sunkara, Lali, & Ramkrishna, 2012; A. Namjoshi, Kienle, & Ramkrishna, 2003; A. A. Namjoshi, Hu, & Ramkrishna, 2003; L. Zhang, Pan, & Rempel, 2015), histéresis y oscilaciones en las concentraciones de sustrato y productos que pueden afectar el desempeño del biorreactor. Estos comportamientos dependen del microorganismo, siendo *Zimomonas mobilis* (A. Ajbar & Fakeeha, 2002; Garhyan, Elnashaie, Al-Haddad, Ibrahim, & Elshishini, 2003; McLellan, Daugulis, & Li, 1999; Mustafa, Elkamel, Lohi, Ibrahim, & Elnashaie, 2014; Sridhar, 2011; Wang, Zhang, Qiu, Zhao, & Chen, 2014; Wang et al., 2013) y *Saccharomyces cerevisiae* (Beuse, Bartling, Kopmann, Diekmann, & Thoma, 1998; Beuse, Kopmann, Diekmann, & Thoma, 1999; Kourdis & Goussis, 2013; Shen, Zhao, Ge, & Bai, 2009; Wittmann, Hans, van Winden, Ras, & Heijnen, 2005) entre los más reportados; las condiciones y modo de operación del biorreactor y las perturbaciones (cambios de pH, temperatura, concentración del sustrato alimentado, etc.)

1.1.2. Variables de un proceso

Es necesario clasificar las variables de un proceso de acuerdo a si estas simplemente proporcionan información acerca de las condiciones del proceso, o si estas son capaces de influenciar la evolución del proceso.

Las *variables de entrada* son aquellas que independientemente estimulan el sistema y pueden además inducir cambios en las condiciones internas del proceso; las *variables de salida* son aquellas por las cuales se obtiene información acerca del estado interno del proceso; y las *variables de estado* son reconocidas como el mínimo conjunto de variables esenciales para la completamente describir el estado interno (condición) de un proceso (Ogata, 2010).

Se debe señalar que las variables de entrada y salida cuyos valores están disponibles por medición directa en línea son clasificadas como *variables medibles*. Sin embargo, algunas variables de salida



son medibles solamente fuera de línea (no se tiene el sensor instalado en el proceso) y pueden llevar tiempos largos de cuantificación, por lo que para fines de diseño de sistemas de control son usualmente consideradas como *variables no medibles* (Doran, 2013; Ogunnaike & Ray, 1994).

1.1.3. Modelado matemático de sistemas biológicos

Desde los orígenes de la ciencia, el hombre ha tratado de entender y explicar los fenómenos de la naturaleza. Se ha encontrado que los fenómenos están en constante cambio y se propuesto comprender el cómo y el porqué de estos movimientos. Una forma rigurosa de explicar este comportamiento es a través de ecuaciones diferenciales ordinarias (EDO) o sistemas de EDO's.

Desde los 1950's, se han construido diferentes tipos de modelos matemáticos empleando EDO's para representar el comportamiento de distintos sistemas biológicos, ya sea a nivel microscópico o acoplados a los balances de masa de un proceso. Los sistemas biológicos a nivel microscópico también son conocidos como *biosistemas*, como por ejemplo: el crecimiento celular, la síntesis de DNA, reacciones enzimáticas, apoptosis, quorum sensing, etc.

Particularmente el crecimiento celular se ha modelado mediante balances de materia por especie, por ejemplo, un balance de masa para la biomasa, el consumo del sustrato limitante y la generación de algún producto (Blanch & Clark, 1996). En forma más reciente, los modelos de crecimiento celular incorporan los balances de masa de las rutas metabólicas (Schügerl & Bellgardt, 2000; Young, Henne, Morgan, Konopka, & Ramkrishna, 2008), incluyendo las enzimas clave de la biorreacción, conocidos como modelos cibernéticos (Kompala, Ramkrishna, Jansen, & Tsao, 1986; Ramkrishna, Ramkrishna, & Konopka, 1996; D. Ramkrishna, 1983; Doraiswami Ramkrishna & Song, 2012; Song & Ramkrishna, 2011; Song et al., 2013; Young & Ramkrishna, 2007).

El crecimiento celular puede modelarse matemáticamente de forma sencilla si sólo se considera a la biomasa como una especie química. Sin embargo, se vuelve complicado de modelar si se toman en cuenta todas las numerosas y complicadas redes de reacciones bioquímicas y fenómenos de transporte, las cuales envuelven múltiples fases y componentes, la apoptosis, la división celular, regulación metabólica, etc. (Dorofeev & Panikov, 1991; Fujimoto, 1963; Jannasch & Egli, 1993; Koutinas et al., 2011; Kovarova-Kovar & Egli, 1998; Panikov, 2002). (Esser, Leveau, & Meyer, 2015; Law, Robertson, Dunker, & Button, 1975; Pavlou & Fredrickson, 1989; Resat, Bailey, McCue, & Konopka, 2012; Tan, Wang, & Marshall, 1998). Además, mientras más factores sean



incluidos en el modelo matemático de crecimiento celular, éste contendría muchos parámetros imposibles de determinar con precisión (Lee, 1992).

La más simple clasificación de los modelos matemáticos que describen el crecimiento celular los divide en modelos no estructurados y estructurados (Villadsen et al., 2011). Los modelos no estructurados no toman en consideración la estructura interna de la célula, tampoco la compleja red de reacciones bioquímicas de las diferentes rutas metabólicas ni la cadena respiratoria, es decir, la célula es representada como un solo componente. En cambio, los modelos estructurados describen a la célula tomando en cuenta las rutas metabólicas, por ejemplo, la glicólisis, el ciclo de Krebs, el ciclo de las pentosas, la β -oxidación, etc. Los modelos de crecimiento celular también se clasifican en distribuidos o segregados, con base en si el cultivo es uniformemente distribuido o forman una mezcla heterogénea, respectivamente (Lee, 1992; Schügerl & Bellgardt, 2000).

1.2.SISTEMA DINÁMICO

Formalmente, un sistema puede ser definido como un conjunto de elementos interactuantes, así un sistema es una cantidad de materia o una región del espacio seleccionado para su estudio (Doran, 2013). La masa o el espacio afuera del sistema son llamados los alrededores del sistema. La superficie real o imaginaria que separa al sistema de sus alrededores es conocida como la frontera, ésta puede ser fija o móvil y de grosor mayor o igual a cero (Çengel, 2008).

Los sistemas pueden clasificarse de diversas formas, dependiendo de la característica que se tome en cuenta, así, una de estas clasificaciones los divide en: abiertos si hay transferencia de masa y energía con los alrededores; cerrados si sólo hay transferencia de energía y aislados si no hay transferencia de masa ni energía con los alrededores (Bird, Stewart, & Lightfoot, 2002). Otra clasificación los agrupa en sistemas lineales y no lineales, dependiendo de si están sujetos al principio de superposición, como se explicará más adelante. Finalmente los sistemas también se pueden clasificar en autónomos si no dependen explícitamente de la variable independiente tiempo, y no autónomos cuando el sistema depende explícitamente del tiempo.

Es importante conocer las anteriores clasificaciones de un sistema para poder comprender en donde se encuentran los sistemas biológicos utilizados y los observadores de estados desarrollados en este proyecto.



Por otra parte, el futuro y pasado del estado de un sistema ya sea físico, químico o biológico, puede ser predicho conociendo su estado presente y las leyes que gobiernan su evolución. Si estas leyes no cambian con el tiempo, el comportamiento de dicho sistema puede ser considerado como completamente definido por su estado inicial. Por lo tanto, el concepto de sistema dinámico incluye un conjunto de sus posibles estados (espacio de estados) y una ley de la evolución del estado con el tiempo (Kuznetsov, 2004).

A continuación se describen algunos conceptos empleados en el estudio de sistemas, necesarios para entender el lenguaje usado en el modelado matemático de sistemas y el diseño de observadores de estados.

1.2.1. Espacio de estados

Todos los posibles estados de un sistema son caracterizados por los puntos de algún conjunto, a este conjunto X , se le llama el *espacio de estados* del sistema. De hecho, la especificación de un punto $x \in X$ debe ser suficiente no sólo para describir la actual posición del sistema, sino también para determinar su evolución. Es común encontrar que el espacio de estados es llamado *espacio fase*, siguiendo la tradición de la mecánica clásica (Kuznetsov, 2004).

El espacio de estados tiene una estructura que permite la comparación entre diferentes estados. Más específicamente, una distancia ρ entre dos estados es definida, haciendo estos conjuntos *espacios métricos*. La *norma Euclidiana* puede ser usada para medir la distancia entre dos estados parametrizados por los puntos $x_1, x_2 \in \mathfrak{R}^n$ (Simmons, 1991).

1.2.2. Tiempo

La evolución de un sistema dinámico significa un cambio en el estado del sistema a un tiempo $t \in T$, donde T es un conjunto de números. Se pueden considerar dos tipos de sistemas dinámicos, aquellos de tiempo continuo (real) $T = \mathfrak{R}^1$ y aquellos de tiempo discreto (entero) $T = \mathbb{Z}$. Sistemas del primer tipo son llamados sistemas dinámicos de tiempo continuo, mientras que los segundos son denominados sistemas dinámicos de tiempo discreto (Borrelli & Coleman, 2004).

Los biorreactores son modelados generalmente como sistemas de tiempo continuo, empleando ecuaciones diferenciales ordinarias o parciales (Riet & Tramper, 1991).



1.2.3. Operador de evolución

La ley de evolución es el principal componente de un sistema dinámico y es aquella que determine al estado x_t del sistema al tiempo t , siempre que el estado inicial x_0 es conocido. La forma más general para especificar la evolución es asumir que para una $t \in T$ un mapa φ^t es definido en el espacio de estados X ,

$$\varphi^t: X \rightarrow X \quad (1.1).$$

El cual transforma un estado inicial $x_0 \in X$ en algún estado $x_t \in X$ a un tiempo t :

$$x_t = \varphi^t x_0 \quad (1.2)$$

El mapa φ^t es frecuentemente llamado el *operador de evolución* de un sistema dinámico, este debe ser conocido explícitamente; aunque, en muchos casos, es definido indirectamente y puede ser computado sólo aproximadamente. En el caso del tiempo continuo, la familia $\{\varphi^t\}_{t \in T}$ de los operadores de evolución es llamada un *flujo*.

Obsérvese que φ^t puede no estar definido para todos los pares $(x, t) \in X, T$. Los sistemas dinámicos con un operador de evolución φ^t definido para ambos $t \geq 0$ y $t < 0$ son llamados *invertibles*. En dichos sistemas el estado inicial x_0 define completamente los estados futuros del sistema y su comportamiento pasado (Kuznetsov, 2004).

1.2.4. Órbitas y retratos fase

La evolución de un sistema puede verse mediante la representación gráfica de sus órbitas en un retrato fase. Un retrato fase es una representación geométrica de todas las trayectorias de un sistema dinámico no plano. Cada curva representa una condición inicial diferente.

Definición 1: Una órbita comenzando en x_0 es un subconjunto ordenado del espacio de estados X ,

$$Or(x_0) = \{x \in X: x = \varphi^t x_0 \text{ para todo } t \in T \text{ tal que } \varphi^t x_0 \text{ es definida}\}.$$

Las órbitas de un sistema en tiempo continuo con un operador de evolución continua son curvas en el espacio de estados X parametrizados por el tiempo t y orientada por su dirección de incremento. Las órbitas de un sistema en tiempo-discreto son secuencias de puntos en el espacio de estados X enumerados por enteros incrementándose.



Las orbitas seguidas son llamadas trayectorias. Si $y_0 = \varphi^{t_0} x_0$ para algún t_0 , los conjuntos $Or(x_0)$ y $Or(y_0)$ coinciden. Las más simples orbitas son los *puntos de equilibrio* (Véase Sección 1.3.3) (Borrelli & Coleman, 2004; Kuznetsov, 2004).

1.2.5. Sistema lineal

Existen dos propiedades básicas que caracterizan el comportamiento de un sistema lineal:

I. El principio de superposición:

Si la respuesta de un proceso a una entrada I_1 es R_1 , y la respuesta a I_2 es R_2 , entonces de acuerdo al principio de superposición, la respuesta $(I_1 + I_2)$ es $(R_1 + R_2)$ si el sistema es lineal.

En general, este principio establece que la respuesta de un sistema lineal a una suma de N entradas es la misma que la suma de las respuestas de las entradas individuales. Como resultado de este principio, por ejemplo, la respuesta de un sistema lineal a un cambio de paso de magnitud P es exactamente el mismo como P veces la unidad de paso de respuesta del sistema. Lo mismo es verdadero para otros tipos de funciones de entrada.

II. Independencia del carácter de la respuesta dinámica y condiciones del proceso

La respuesta del proceso a un cambio en la entrada, tiene una dinámica que es independiente de las condiciones de operación específicas al tiempo de implementar el cambio de entrada, si el sistema es lineal. En otras palabras, cambios de entrada idénticos implementados a diferentes condiciones de operación en estado estacionario dará cambios en la salida de idéntica magnitud y carácter dinámico.

El principio de superposición también significa que a partir de la misma condición inicial en estado estacionario, el cambio en la salida observada en respuesta a cierto cambio positivo en la entrada será una perfecta imagen espejo de la salida observada en respuesta a un cambio negativo en la entrada de la misma magnitud. De acuerdo a esta propiedad, la respuesta escalón de un sistema lineal, por ejemplo, es el mismo, independientemente del valor real inicial de la variable de salida o de entrada, o para el caso, la dirección del cambio de entrada, “la bajada” dando lugar a una perfecta imagen espejo de la respuesta de “subida”. En particular la respuesta final del sistema lineal a una función de entrada senoidal no es una perfecta función de salida senoidal (Ogunnaike & Ray, 1994).



1.2.6. Sistema no lineal

Todos los procesos físicos en la naturaleza exhiben cierto comportamiento no lineal. Cuando un proceso muestra un comportamiento fuertemente no lineal, un modelo lineal puede ser inadecuado, un modelo no lineal será más realista. Desafortunadamente, esta mejora en la cercanía a la realidad conlleva un alto costo, la conveniencia y simplicidad ofrecida por el modelo lineal es sacrificada. Un sistema no lineal no exhibe las propiedades de los sistemas lineales mencionados anteriormente; la respuesta a la suma de las entradas no es igual a la suma de las respuestas individuales; la respuesta a un cambio de paso de magnitud P no es igual a P veces la respuesta escalón unitario; la magnitud y carácter dinámico de la respuesta escalón son dependientes de las condiciones iniciales del estado estacionario; una respuesta de bajada no es una imagen respuesta de una respuesta de subida; y lo que es verdadero para una función de entrada escalón es verdadero para todas las demás funciones de entrada (Ogunnaike & Ray, 1994).

1.2.7. Linealización de un sistema no lineal

En muchas ocasiones para poder estudiar el comportamiento de un sistema no lineal, como lo son en su mayoría los sistemas biológicos, es necesario transformarlo a una versión lineal. En otras palabras, el comportamiento cualitativo de un sistema no lineal cercano a una condición de estado estacionario (es decir, cuando las características del sistema no varían con el tiempo), conocido también como punto de equilibrio, puede ser determinado vía *linealización* con respecto a ese punto (Meyer, 2000). A continuación se explica cómo llevar a cabo la transformación de un sistema no lineal a uno lineal para una condición de equilibrio.

Permita a $q = (q_1, q_2)$ ser un punto de equilibrio del siguiente sistema no lineal:

$$\dot{x}_1 = f_1(x_1, x_2) \quad (1.3)$$

$$\dot{x}_2 = f_2(x_1, x_2) \quad (1.4)$$

Suponga que las funciones f_1 y f_2 son continuamente diferenciables. Expandiendo el lado derecho de las ecuaciones (1.3)-(1.4) en series de Taylor cerca del punto (q_1, q_2) , se obtiene:

$$\dot{x}_1 = f_1(q_1, q_2) + a_{11}(x_1 - q_1) + a_{12}(x_2 - q_2) + T.O.M. \quad (1.5)$$

$$\dot{x}_2 = f_2(q_1, q_2) + a_{21}(x_1 - q_1) + a_{22}(x_2 - q_2) + T.O.M \quad (1.6)$$

Donde:



$$a_{11} = \left. \frac{\partial f_1(x_1, x_2)}{\partial x_1} \right|_{x_1=q_1, x_2=q_2}$$

$$a_{12} = \left. \frac{\partial f_1(x_1, x_2)}{\partial x_2} \right|_{x_1=q_1, x_2=q_2}$$

$$a_{21} = \left. \frac{\partial f_2(x_1, x_2)}{\partial x_1} \right|_{x_1=q_1, x_2=q_2}$$

$$a_{22} = \left. \frac{\partial f_2(x_1, x_2)}{\partial x_2} \right|_{x_1=q_1, x_2=q_2}$$

T. O. M. denota *términos de orden mayor* en la expansión, que son, términos de la forma $(x_1 - q_1)^2$, $(x_2 - q_2)^2$, $(x_1 - q_1) \times (x_2 - q_2)$ y así sucesivamente. Desde que (q_1, q_2) es un punto de equilibrio, se tiene que:

$$f_1(q_1, q_2) = f_2(q_1, q_2) = 0 \quad (1.7)$$

Además, partiendo del interés en las trayectorias cerca de (q_1, q_2) se define:

$$y_1 = (x_1 - q_1) \text{ y } y_2 = (x_2 - q_2) \quad (1.8)$$

Reescribiendo las ecuaciones de estado tenemos:

$$\dot{y}_1 = \dot{x}_1 = a_{11}y_1 + a_{12}y_2 + T.O.M. \quad (1.9)$$

$$\dot{y}_2 = \dot{x}_2 = a_{21}y_1 + a_{22}y_2 + T.O.M. \quad (1.10)$$

Si se restringe la atención a una vecindad lo suficientemente pequeña del punto de equilibrio tal que los T.O.M. son despreciables, entonces podemos dejar esos términos y aproximar las ecuaciones de estado no lineales por ecuaciones de estado lineales:

$$\dot{y}_1 = a_{11}y_1 + a_{12}y_2 \quad (1.11)$$

$$\dot{y}_2 = a_{21}y_1 + a_{22}y_2 \quad (1.12)$$

Reescribiendo las ecuaciones en forma vectorial, se obtiene:

$$y = Jy \quad (1.13)$$

Donde:

$$J = \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} \\ a_{21} & a_{22} \end{bmatrix} = \left. \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_1} & \frac{\partial f_1}{\partial x_2} \\ \frac{\partial f_2}{\partial x_1} & \frac{\partial f_2}{\partial x_2} \end{bmatrix} \right|_{x=q} = \left. \frac{\partial f}{\partial x} \right|_{x=q} \quad (1.14)$$



La matriz $\left[\frac{\partial f}{\partial x}\right]$ es llamada la matriz Jacobiana de $f(x)$, y J es la matriz Jacobiana evaluada en el punto de equilibrio q (Khalil, 1996).

Cualquier matriz puede caracterizarse por su determinante y rango, información muy útil en los análisis de observabilidad, controlabilidad y sensibilidad paramétrica.

La definición general del determinante de una matriz se menciona a continuación:

Definición 1. (Determinante de una matriz). Para una matriz $A = [a_{ij}]$ de $n \times n$, el determinante de A es definido como el escalar:

$$\det(A) = |A| = \sum_p \sigma(p) a_{1p_1} a_{2p_2} \dots a_{np_n} \quad (1.15)$$

Donde la suma es tomada sobre las $n!$ permutaciones $p = p_1, p_2, \dots, p_n$ de $(1, 2, \dots, n)$. Observe que cada término $a_{1p_1} a_{2p_2} \dots a_{np_n}$ en la ecuación (1.15) contiene exactamente una entrada de cada fila y cada columna de A (Meyer, 2000). El determinante de una matriz no cuadrada no está definido.

Además:

$$\sigma(p) = \begin{cases} +1 & \text{si } p \text{ puede ser restaurado a su orden natural por un número par de intercambios} \\ -1 & \text{si } p \text{ puede ser restaurado a su orden natural por un número impar de intercambios} \end{cases}$$

Por ejemplo, cuando A es 2×2 hay $2! = 2$ permutaciones de $(1, 2)$, denominados, $[(1, 2) (2, 1)]$, por lo tanto, el $\det(A)$ contiene dos términos:

$$\sigma(1, 2) a_{11} a_{22} \quad \text{y} \quad \sigma(2, 1) a_{12} a_{21}.$$

Desde que $\sigma(1, 2) = +1$ y $\sigma(2, 1) = -1$, se obtiene la siguiente fórmula familiar:

$$\begin{vmatrix} a_{11} & a_{12} \\ a_{21} & a_{22} \end{vmatrix} = a_{11} a_{22} - a_{12} a_{21} \quad (1.16)$$

Una matriz $A_{n \times n}$ es no singular si y sólo si el $\det(A) \neq 0$ o equivalentemente, una matriz $A_{n \times n}$ es singular si y sólo si $\det(A) = 0$.

De lo anterior mencionado, se puede tener la idea de que el $\det(A)$ es una medida de que tan cerca A puede ser singular. Las matrices casi singulares no necesitan tener determinantes de magnitud

pequeña. Por ejemplo, $A_n = \begin{pmatrix} n & 0 \\ 0 & 1/n \end{pmatrix}$ es casi singular cuando n es grande, pero el $\det(A_n) = 1$



para toda n . Además, determinantes pequeños no indican necesariamente matrices casi singulares.

Por ejemplo:

$$A_n = \begin{pmatrix} 0.1 & 0 & \dots & 0 \\ \vdots & 0.1 & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & \dots & 0.1 \end{pmatrix}_{n \times n}$$

no está cerca de ninguna matriz singular, pero el $\det(A_n) = (0.1)^n$ es extremadamente pequeño para grandes n .

Un determinante menor de $A_{m \times n}$ es definido como cualquier $k \times k$ submatriz de A . Por ejemplo:

$$\begin{vmatrix} 1 & 2 \\ 4 & 5 \end{vmatrix} = -3 \text{ y } \begin{vmatrix} 2 & 3 \\ 8 & 9 \end{vmatrix} = -6 \text{ son } 2 \times 2 \text{ determinantes menores de } A = \begin{pmatrix} 1 & 2 & 3 \\ 4 & 5 & 6 \\ 7 & 8 & 9 \end{pmatrix}.$$

Una entrada individual de A puede ser considerada como un determinante menor 1×1 , y el $\det(A)$ por sí mismo es considerado un determinante menor de A de 3×3 (Meyer, 2000).

Definición 2. (Rango de una matriz). El rango de (A) es el tamaño del más largo determinante menor de A con valor diferente de cero, es decir, es el tamaño mayor de una submatriz de A no singular (Hespanha, 2009).

1.3. ESTABILIDAD DE UN SISTEMA

Una propiedad cualitativa que caracteriza a todo sistema dinámico es su estabilidad (posiblemente la propiedad más importante), es de suma importancia sobre todo en el área de control automático y análisis de sistemas. Los conceptos de estabilidad e inestabilidad están presentes en la vida cotidiana (estado de salud, bolsa de valores, estructuras en construcción como puentes y edificios, etc.), de ahí la importancia de definir un concepto usado frecuentemente.

La palabra estable (del latín *stabilis*) significa constante, permanente. Como concepto físico se introdujo por primera vez en la mecánica donde se utilizó aplicado a una posición de equilibrio de un cuerpo. Tal posición de equilibrio se denomina estable si el cuerpo retorna a esa posición original después de moverlo separándolo ligeramente del mismo.

Muchos eminentes matemáticos y físicos del siglo XIX se ocuparon de cuestiones de estabilidad, tal es el caso de Lagrange, Routh, Kelvin, Poincaré y Shukovskii, entre otros. Sin embargo, un



tratamiento completo y satisfactorio de la estabilidad, sólo fue dado por Aleksandr Mijáilovich Lyapunov (1857-1918) en 1892, en su famosa monografía “Problema general de la estabilidad del movimiento”, que fue su tesis doctoral (Liapunov & Fuller, 1992),.

Es muy importante en el trabajo de Lyapunov la propia definición de estabilidad, no se refiera ya al movimiento de un cuerpo material, sino en general, a una ecuación diferencial, además, no se trata de la estabilidad de un equilibrio sino de una solución cualquiera de la ecuación.

Una definición más rigurosa de *estabilidad* nos dice que es “la resistencia que presenta un sistema dinámico a perturbaciones lo suficientemente pequeñas, dando como resultado el mismo retrato fase en un cierto dominio” (Kuznetsov, 2004)

Lyapunov definió clases de funciones escalares para probar la estabilidad, la estabilidad asintótica o la inestabilidad de cualquier sistema, lineal o no lineal, autónomo o no autónomo (Giesl & Hafstein, 2015; Lakshmikantham, Matrosov, & Sivasundaram, 1991) conocidas como funciones de Lyapunov. Las funciones de Lyapunov son una herramienta esencial en el análisis de estabilidad de sistemas dinámicos, tanto en la teoría y aplicaciones. Estas proporcionan condiciones suficientes para la estabilidad de los equilibrios o conjuntos invariantes más generales, así como de su cuenca de atracción (Haddad & Chellaboina, 2008; Udwadia, Weber, & Leitmann, 2004).

Para sistemas lineales, existen resultados que nos indican si el sistema es estable y a qué tipo de estabilidad nos referimos. Estos resultados no se pueden aplicar directamente a los sistemas no lineales (como es el caso de la mayoría de los sistemas biológicos), sin embargo se puede llegar a conocer su comportamiento mediante sistemas linealizados asociados a éstos, a esta estrategia se le denomina primer método de Lyapunov.

En el análisis de Lyapunov se permite estudiar la estabilidad alrededor de un punto de equilibrio de sistemas no lineales, por medio de una función a la que se le llama función de Lyapunov (segundo método de Lyapunov). La dificultad que guarda el segundo método de Lyapunov es la identificación de estas funciones, ya que no existe un procedimiento sistemático general que permita dar a conocer una función en sentido de Lyapunov.



1.3.1. Primer método de Lyapunov (valores propios)

El método indirecto de Lyapunov, mediante la linealización de un sistema no lineal, determina la estabilidad local del sistema original. Considérese el siguiente sistema en su forma vectorial dependiente del tiempo:

$$\dot{x} = f(x, t) \quad (1.17).$$

Con $f(0, t) = 0$ para todo $t \geq 0$. Definiendo,

$$J(t) = \left. \frac{\partial f(x, t)}{\partial x} \right|_{x=0} \quad (1.18).$$

Como la matriz Jacobiana de $f(x, t)$ con respecto a x , evaluado en el origen. Esto sigue que para cada punto t , el residuo,

$$f_1(x, t) = f(x, t) - A(t)x \quad (1.19).$$

Se aproxima a cero conforme x se aproxima a cero. Como sea el caso, el residuo no puede aproximarse a cero uniformemente. Para que esto sea verdadero, requerimos satisfacer la siguiente condición,

$$\lim_{\|x\| \rightarrow 0} \sup_{t \geq 0} \frac{\|f_1(x, t)\|}{\|x\|} = 0 \quad (1.20).$$

Si la expresión anterior se mantiene, entonces el sistema,

$$\dot{x} = Jx(t) \quad (1.21).$$

Es referido como la (uniforme) linealización de la ecuación: $\dot{x} = f(x, t)$; $x(t_0) = x_0$; $x \in \mathbb{R}^n$; cerca del origen. Cuando la linealización existe, su estabilidad determina la estabilidad local de la ecuación no lineal original (Khalil, 1996).

Teorema 1. (Estabilidad por linealización). Considere el sistema representado en la ecuación (1.17) y asuma,

$$\lim_{\|x\| \rightarrow 0} \sup_{t \geq 0} \frac{\|f_1(x, t)\|}{\|x\|} = 0 \quad (1.22).$$

Además permita a $J(t)$ definida en la ecuación (1.18), estar acotada. Si \dot{x} es un punto de equilibrio de la ecuación (1.21), entonces este es un punto de equilibrio de la ecuación (1.17) uniforme y localmente asintóticamente estable.



El teorema 1 requiere estabilidad uniforme y asintótica del sistema linealizado para probar estabilidad uniforme y asintótica del sistema no lineal.

Si el sistema representado en la ecuación (1.21) es invariante en el tiempo, entonces el método indirecto dice que si los valores propios de:

$$J(t) = \left. \frac{\partial f(x,t)}{\partial x} \right|_{x=0} \quad (1.23).$$

Están en la mitad izquierda abierta del plano complejo, entonces el origen es asintóticamente estable. Este teorema prueba que la estabilidad global uniforme y asintótica de la linealización implica estabilidad local uniforme y asintótica del sistema no lineal original (Ogunnaike & Ray, 1994).

1.3.2. Segundo método de Lyapunov (Funciones de Lyapunov)

Considere que la ecuación (1.17) tiene un punto de equilibrio $\dot{x} = 0$. El equilibrio es globalmente asintóticamente estable si una función $V(x)$ existe y cumple con las siguientes propiedades:

1. $V(x)$ y $\nabla V(x)$ son continuas,
2. $V(x)$ es definida positiva, por ejemplo, estrictamente positiva excepto a $x = 0$,
3. $\dot{V}(x) < [\nabla V(x)]^T f(x)$ es definida negativa,
4. $\lim_{\|x\| \rightarrow \infty} V(x) = \infty$

Generalmente debe ser difícil de encontrar una adecuada función de Lyapunov $V(x)$. Para un sistema lineal $\dot{x} = Jx(t)$, una función de Lyapunov puede ser obtenida como una forma cuadrática:

$$V(x) = x^T \vartheta x \quad (1.24).$$

Con una matriz positiva definida ϑ . La derivada respecto al tiempo es

$$\dot{V}(x) = \dot{x}^T \vartheta x + x^T \vartheta \dot{x} \quad (1.25).$$

Usando la transpuesta de la ecuación de estado $\dot{x}^T = x^T J^T$, se obtiene:

$$\dot{V}(x) = x^T [J^T \vartheta + \vartheta^T J] x \quad (1.26).$$



La cual es nuevamente una forma cuadrática, la cual tiene que ser definida negativa para una estabilidad asintótica.

Entonces, se debe definir una matriz positiva Q que satisfaga la ecuación de la matriz de Lyapunov:

$$[J^T \vartheta + \vartheta^T J] = -Q \quad (1.27).$$

De la aplicación de la teoría de Lyapunov se obtiene lo siguiente: si el punto de equilibrio $\dot{x} = 0$ es asintóticamente globalmente estable, existe para cada matriz Q definida positiva una matriz positiva definida ϑ , la cual satisface la ecuación de la matriz de Lyapunov. Es posible definir una matriz positiva definida Q , resolver la ecuación de Lyapunov para ϑ y checar la estabilidad probando si ϑ es definida positiva. La estabilidad asintótica global significa que todos los valores propios de J tienen partes reales negativas (Khalil, 1996; W. S. Levine, 1996).

1.3.3. Clasificación de la estabilidad de sistemas planos

Un punto de equilibrio en teoría de sistemas satisface $dx/dt = 0$; también es llamado estado estacionario, punto estacionario o punto crítico. Los puntos de equilibrio de un sistema pueden clasificarse en función de la dirección de sus órbitas y su *estabilidad*. Para un sistema de segundo orden (sistema plano), se puede verificar los tipos de estabilidad posibles, tomando como criterio el cálculo de los valores propios de un sistema como lo indica el primer método de Lyapunov.

De acuerdo con los resultados del primer método de Lyapunov, la parte real de los valores propios de la matriz Jacobiana evaluada en un punto de equilibrio (x_s), determina su estabilidad. El punto de equilibrio (x_s) es asintóticamente estable si la parte real de todos los valores propios es negativa. Si un valor propio tiene una parte real positiva entonces el punto de equilibrio es inestable.

Mientras la estabilidad de (x_s) depende del signo de la parte real de los valores propios, la naturaleza de la solución (x_s) alrededor del punto de equilibrio depende de la naturaleza de los valores propios. Los diferentes casos correspondientes a la naturaleza del punto de equilibrio son presentados en la tabla 1 para un sistema de dos dimensiones, para el cual hay dos variables de estado (x_1, x_2) y dos valores propios (λ_1, λ_2) (Abdelhamid Ajbar & Alhumaizi, 2012).



Tabla 1. Clasificación de Estabilidad local. Determinante ($Det [J]$), Traza ($Tr [J]$) y Discriminante ($Tr[J]^2 - 4Det[J]$) de la matriz Jacobiana $[J]$ (Simmons, 1991).

$Tr [J]$	$Det [J]$	$Tr[J]^2 - 4Det[J]$	Valores propios ($\lambda_{1,2}$)	Naturaleza y tipo de estabilidad
-	+	+	Real, ambos (-)	Nodo estable
-	+	-	Complejo, parte real (-)	Foco (espiral) estable
0	+	-	Imaginario, parte real =0	Bifurcación Hopf (centro)
+	+	-	Complejo, parte real (+)	Foco (espiral) inestable
+	+	+	Real, ambos (+)	Nodo inestable
\pm	0	+	Uno cero, uno (-) o (+)	Bifurcación nodo-silla
\pm	-	+	Real, uno (-) uno (+)	Punto silla
0	0	0	Ambos cero	Punto de bifurcación doble cero

Gráficamente los casos presentados en la tabla 1 son mostrados en la figura 1, donde se pueden apreciar la naturaleza de las orbitas de los diferentes puntos de equilibrio.

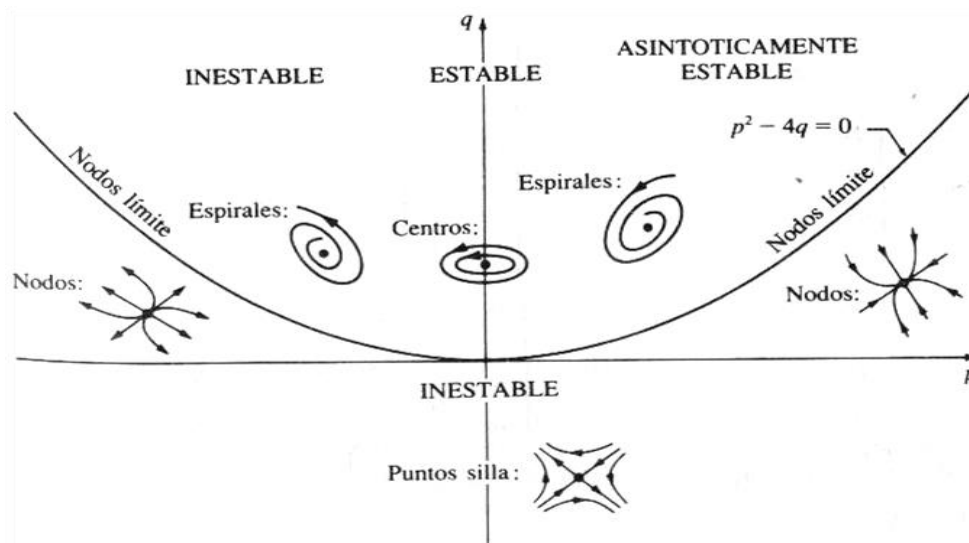


Figura 1. Representación gráfica de los tipos de estabilidad local en un sistema de 2 dimensiones (Simmons, 1991).

1.3.4. Bifurcación

Durante el análisis de los puntos de equilibrio de un sistema, puede darse el caso de que un punto de equilibrio aparezca, desaparezca o se divida cuando cambia un parámetro. Lo anterior es conocido como bifurcación. Desde el punto de vista de las ecuaciones diferenciales ordinarias, la palabra bifurcación ha significado cualquier cambio marcado en las estructuras de las órbitas de un sistema cuando un parámetro pasa por un valor crítico.

Para una definición más rigurosa de bifurcación considere un sistema dinámico que depende de sus parámetros. En el caso de un sistema de tiempo continuo podemos expresar el sistema como:



$$\dot{x} = f(x, \alpha), \quad (1.28).$$

Mientras que en el caso de tiempo discreto puede ser escrito como:

$$x \rightarrow f(x, \alpha), \quad (1.29).$$

Donde $x \in \mathbb{R}^n$ y $\alpha \in \mathbb{R}^m$ representan las variables de estado y los parámetros, respectivamente. Cuando se varían los parámetros de un modelo existen dos posibilidades, que el sistema se mantenga topológicamente equivalente al original o que su topología cambie. Esta idea de topología equivalente se puede explicar con el siguiente ejemplo; un triángulo es topológicamente lo mismo que una circunferencia, ya que podemos transformar uno en otra de forma continua, sin romper ni pegar. Pero una circunferencia no es lo mismo que un segmento, ya que habría que partirla (o pegarla) por algún punto. De igual forma una taza es topológicamente igual a una rosquilla, ya que se puede estirar y retorcer para transformar la taza en rosquilla. En topología está permitido doblar, estirar, encoger, retorcer, etc., los objetos, pero siempre que se haga sin romper ni separar lo que estaba unido, ni pegar lo que estaba separado

Definición 3. La aparición de un retrato fase topológicamente no equivalente bajo la variación de sus parámetros es llamado bifurcación (Kuznetsov, 2004).

Entonces, una bifurcación es un cambio en la topología del sistema, cuando alguno de los parámetros del modelo matemático que lo describe, pasa por un valor (crítico) de bifurcación.

Definición 4. Un diagrama de bifurcación de un sistema dinámico es una estratificación de su espacio de parámetros inducidos por la equivalencia topológica, junto con retratos fase representativos de cada estrato (Kuznetsov, 2004).

En otras palabras, el retrato paramétrico junto con sus retratos fase característicos constituyen un diagrama de bifurcación.

El objetivo de la *teoría de bifurcación* es caracterizar los cambios en el comportamiento cualitativo de un sistema tanto lineal como no lineal al variar algún parámetro clave (parámetro de bifurcación). En un modelo matemático de un biorreactor operado en continuo, es común utilizar a la tasa de dilución como parámetro de bifurcación. Fenómenos tales como multiplicidad de estados estacionarios, histéresis e incluso caos son difíciles de encontrar en los modelos matemáticos de biorreactores mediante simulaciones ordinarias, pero pueden ser descubiertas fácilmente a través del análisis de bifurcación; además, es una forma de validar si un modelo



matemático de un biorreactor representa el estado estacionario y el comportamiento transitorio observado experimentalmente. Este análisis también puede ser usado para encontrar un conjunto de parámetros que permitan condiciones óptimas de operación del biorreactor y caracterizar la estabilidad de sus puntos de equilibrio (Abdelhamid Ajbar & Alhumaizi, 2012; Kuznetsov, 2004; Y. Zhang & Henson, 2001).

La bifurcación ocurre cuando alguno de los valores propios, para cierto punto de equilibrio, se aproxima al eje de los números imaginarios en el plano complejo. Las más simples bifurcaciones tomando como ejemplo un sistema de dos dimensiones están asociadas cuando uno de los valores propios toma el valor de cero ($\lambda_1 = 0$), llamada bifurcación tipo *Fold*, como es el caso del punto de ramificación (**BP**) y punto límite (**LP**) o cuando un par de valores propios conjugados cruzan el eje imaginario ($\lambda_{1,2} = \pm i\gamma$, $\gamma > 0$), llamada bifurcación de *Hopf* (**H**). Las bifurcaciones *Fold* son usualmente la causa de multiplicidad de estados estacionarios y de histéresis. Las bifurcaciones *Hopf* son responsables de la aparición y desaparición de soluciones periódicas (Garhyan et al., 2003; Kuznetsov, 2004; A. Namjoshi et al., 2003).



2. ANTECEDENTES

2.1. EL PROBLEMA DE LA ESTIMACIÓN DE ESTADOS Y PARÁMETROS EN EL CONTROL DE PROCESOS

Los biorreactores emplean biocatalizadores (organismos vivos o partes de estos) para la síntesis de un bioproducto o la remoción de un compuesto, la dinámica de estos biocatalizadores debe estar bien caracterizada para lograr la reproducibilidad de los experimentos y con fines de modelado matemático, diseño de biorreactores y su escalamiento. (Schügerl & Bellgardt, 2000; Villadsen et al., 2011).

En la operación de bioprocesos y en particular para un biorreactor, es fundamental monitorear en tiempo real sus variables críticas del proceso, con la dificultad de que no todas las variables críticas del biorreactor están disponibles para su medición directa y en línea (Goffaux & Vande Wouwer, 2005). Por ejemplo, la concentración de oxígeno disuelto en biorreactores, la temperatura en reactores no isotérmicos y los flujos de alimentación están disponibles para su medición en línea, mientras que los valores de la concentración de productos, reactantes y/o biomasa son difíciles de cuantificar por la especificidad requerida de los sensores, costos altos o limitaciones tecnológicas (P. A. López Pérez, Yescas, Gomez Acata, Caballero, & López, 2013). Una alternativa para cuantificar las variables para las que no se cuenta con sensores, por ejemplo, carotenoides, lípidos



neutros, antibióticos, plásmidos, etc., es mediante su estimación mediante algoritmos matemáticos conocidos como observadores de estados (Bastin & Dochain, 1990; Y. Zhang & Henson, 2001).

En terminología de control, un sensor virtual para la estimación de las variables de estado es llamado *observador de estados* (o simplemente observador) mientras para la estimación de parámetros del modelo internos, es llamado *estimador paramétrico* (Bastin & Dochain, 1990).

Luenberger (Luenberger, 1966) y Kalman (Zarchan & Musoff, 2000) introdujeron los primeros observadores en 1960's. La investigación sobre el diseño de los observadores ha continuado con la finalidad de incrementar su precisión y desempeño, haciendo frente a problemas tales como disturbios, desajustes y fallas en los procesos. Muchos de los observadores son modificaciones del observador de Luenberger y el filtro de Kalman (Dochain, 2003; Goffaux & Vande Wouwer, 2005; Thijssen, 2008).

Recientemente, (Mohd Ali, Ha Hoang, Hussain, & Dochain, 2015), realizó una revisión de los observadores aplicados en procesos químicos desde el año 2000 hasta la actualidad, y los clasificó en seis clases llamados: observadores basados en el observador de Luenberger, sistemas de observadores de dimensión finita, estimadores Bayesianos, observadores de detección de fallas y perturbaciones, observadores basados en inteligencia artificial y observadores híbridos.

Los observadores basados en el observador de Luenberger son versiones extendidas del observador clásico de Luenberger. El observador extendido de Luenberger, el observador de modos deslizantes, el observador de estado adaptativo. Este tipo de observadores es adecuado para para sistemas lineales poco complejos (Dochain, 2003; Spurgeon, 2008).

Los observadores de dimensión finita, incluyen: a). el observador de orden reducido, b). el observador de bajo orden, c). el observador de alta ganancia, d). el observador asintótico y e). el observador exponencial. Estos observadores son empleados para procesos químicos donde su dinámica es representada por ecuaciones diferenciales ordinarias, además de que se ajustan a sistemas con poca información de la cinética de reacción, con la desventaja de que la precisión de la convergencia es incierta (Bastin & Dochain, 1990).

Los observadores bayesianos proveen una aproximación basada en la estimación de la probabilidad de la distribución de las variables de estado utilizando la información disponible del sistema. Estos observadores asumen que todas las variables son estocásticas en la naturaleza, y por lo tanto, la distribución de las variables de estado es alcanzable basada en las variables medidas. Son altamente



apropiados para una rápida estimación. Sin embargo, la complejidad computacional envuelta al usar esta aproximación la hace inalcanzables para sistemas de alta dimensión (varias ecuaciones de estado). Ejemplos de este tipo de observadores son el filtro de Kalman extendido, filtro de partículas y estimador de movimiento horizontal (Kupinski, Edwards, Giger, & Metz, 2001).

Los observadores de detección de fallas y de perturbaciones son aplicados para estimar irregularidades en el sistema, ya sean por fallas o perturbaciones, lo cual provee de una temprana advertencia a los operadores antes de causar una interrupción en el proceso. Los observadores de detección de fallas también son aplicados para estimar parámetros para el diagnóstico de fallas en procesos químicos. Entre los ejemplos de este tipo de observadores tenemos al observador de perturbaciones, al observador de perturbaciones modificado y al observador no lineal de entradas desconocidas (J. Levine & Marino, 1986).

Los observadores de inteligencia artificial son basados en métodos de lógica difusa, redes neuronales artificiales, sistemas expertos y algoritmos genéticos. Son adecuados para sistemas con la estructura del modelo incompleto y con poca información del sistema. Sin embargo son difíciles de implementar y conlleva mucho tiempo (Venkateswarlu, 2004).

Los observadores híbridos son combinaciones de más de un observador para mejorar la estimación de estados. Un ejemplo de estos sistemas es el observador de Luenberger combinado con el observador asintótico, el primero provee una buena convergencia mientras el segundo estima los parámetros con poca o nula información de la cinética de reacción. La desventaja de estos observadores es que escoger la combinación adecuada puede ser tediosa y tardada (Aguilar-Lopez, Lopez-Perez, Neria-Gonzalez, & Dominguez-Bocanegra, 2010; Aguilar-Lopez, Neria-Gonzalez, Martinez-Guerra, & Mata-Machuca, 2014; López-Pérez, Cuevas-Ortiz, Gómez-Acata, & Aguilar-López, 2015; P. López Pérez, Neria González, & Aguilar López, 2013; P. A. López Pérez et al., 2013).

2.2.DEFINICIÓN DE OBSERVADOR

Los observadores de estados, son algoritmos matemáticos que reconstruyen la evolución en el tiempo del vector de estados real de un sistema, sobre la base de mediciones relacionadas las cuales son más fácilmente accesibles, y empleando un modelo matemático del sistema de interés (Besançon, 2007; Dochain, 2003).



En simples palabras, los observadores son programas de computadora que a partir de las mediciones obtenidas por varios sensores físicos, realizan una estimación de las variables del proceso que no se pueden medir en tiempo real. El programa reproduce el sistema observado dándole la información de cuáles son los estímulos (entradas) que recibe el proceso real. Una segunda fuente de información útil para el observador son los datos que recibe del monitoreo de los resultados del sistema (salidas) (Mohd Ali et al., 2015).

Frecuentemente, muchas de las variables de un biorreactor, tales como las concentraciones de biomasa, sustratos y metabolitos, generalmente necesitan ser determinadas a través de análisis de laboratorio. El costo y duración de estos análisis limitan la frecuencia del muestreo. Además, a pesar de que existen sensores en línea para biomasa y algunos metabolitos, estos no son lo suficientemente robustos para aplicaciones industriales rutinarias (Dochain, 2003; Goffaux & Vande Wouwer, 2005; Nijmeijer & Fossen, 1999).

Esta necesidad de adquirir información interna de un sistema se puede usar en modelado (identificación), monitoreo (detección de fallas), o regulación (control). Lo anterior puede ejemplificarse en la figura 2:

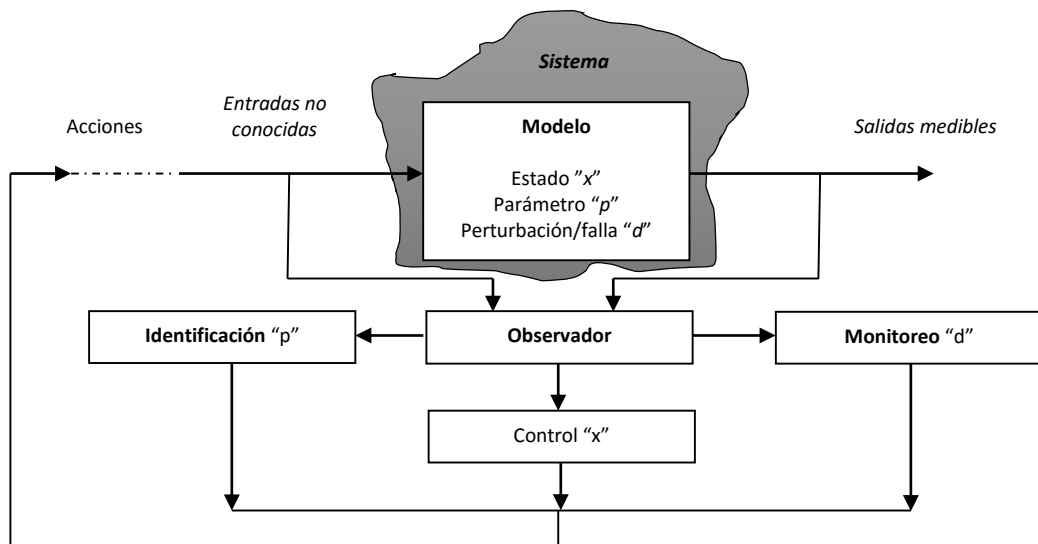


Figura 2. El observador como el corazón de los sistemas de control (tomado de Besancón, 2007).

El problema del diseño de observadores para control de sistemas lineales fue introducido por vez primera por David Luenberger, 1966 (Luenberger, 1966); y para control de sistemas no lineales fue propuesto por Thau, 1973 (Thau, 1973). Durante los últimos cuarenta años se ha tenido mucho interés en la construcción de observadores para el control de sistemas no lineales, considerando diferentes clases de sistemas bajo ciertas hipótesis relacionadas a los parámetros del sistema y la



información disponible (Besançon, 2007; Gauthier & Kupka, 1994; Korovin & Fomichev, 2009; Misawa & Hedrick, 1989; Nijmeijer & Fossen, 1999).

Un sistema autónomo no lineal con entradas y salidas medibles puede ser representado en espacio de estados de la siguiente forma:

$$\dot{x}(t) = f(x(t), u(t)) \quad (2.1).$$

$$y(t) = h(x(t)) \quad (2.2).$$

Donde x denota el vector de estados, el cual toma valores de un conjunto X de dimensión n , u denota el vector de entradas externas conocidas, tomando valores de algún subconjunto abierto $U \in \mathbb{R}^q$, por último y denota el vector de salidas medibles que toman valores de algún subconjunto abierto $Y \in \mathbb{R}^p$.

El siguiente sistema auxiliar es un observador para el sistema de ecuaciones (2.1)-(2.2):

$$\dot{\hat{x}}(t) = g(x(t), u(t), y(t)) \quad (2.3).$$

Tal que:

$$(i) \quad \hat{x}(0) = x(0) \Rightarrow \hat{x}(t) = x(t), \forall t \geq 0;$$

$$(ii) \quad \|\dot{\hat{x}}(t) - \dot{x}(t)\| \rightarrow 0, \text{ conforme } t \rightarrow \infty,$$

Si (ii) se mantiene para cualquier $\hat{x}(0)$, $\hat{x}(0)$, el observador es global.

Si $\hat{x}(t)$ converge asintóticamente a $x(t)$ entonces el observador se conoce como asintótico. .

Si el vector de estados estimado cumple con $\|\dot{\hat{x}}(t) - \dot{x}(t)\| \leq h_0 \|\hat{x}(0) - x(0)\| e^{-\gamma t}$, donde las constantes $\gamma > 0$ y $h_0 > 0$, entonces el observador es exponencial (Besançon, 2007; Korovin & Fomichev, 2009).

Si (ii) se mantiene con una velocidad de convergencia la cual puede ser ajustable, el observador es sintonizable (mediante las ganancias del observador).

La diferencia entre $\hat{x} - x$ es llamada error de observación. Usualmente se desea que la distancia $\hat{x}(t) - x(t)$ tienda a cero conforme t tiende a infinito. La construcción de observadores para



sistemas no lineales es muy interesante y existen varios métodos disponibles (Misawa & Hedrick, 1989).

A continuación se presenta algunos observadores clásicos en teoría de control, ampliamente usados en bioprocesos, estos son: el observador de Luenberger, el filtro de Kalman, el filtro de Kalman extendido, el observador de alta ganancia y el observador de modos deslizantes.

2.2.1. Observador de Luenberger

El observador de Luenberger es un estimador de estado para sistemas dinámicos lineales. La idea en la cual se basa este observador es en generar un sistema "clon" del original, al cual sí se le pueda medir el estado interno. Si el sistema original y su clon son sometidos a los mismos estímulos (la misma entrada), se puede esperar que, a medida que pase el tiempo, se comiencen a comportar del mismo modo debido a que sus estados internos tienden a ser idénticos (lo anterior funciona siempre que el sistema original y su clon sean estables). De este modo, el estado interno del clon se puede usar como una aproximación del estado interno del sistema original (Besancon, 2006).

Para acelerar la convergencia del estado del sistema clon al estado del sistema original, se puede estimular al clon con una entrada corregida, que consiste en la misma entrada que el sistema original más la diferencia entre la salida de los dos sistemas multiplicada por una constante. De este modo, se logra modificar la dinámica del sistema clon de modo que logre estimar el estado del sistema original en un tiempo arbitrariamente pequeño (al menos en teoría) (W. S. Levine, 1996). Es decir, el clon es capaz de observar tanto la entrada del sistema original como la diferencia entre su salida y la del sistema original, lo que le permite converger más rápido. A continuación se presenta una explicación más rigurosa de lo anterior:

Considere un sistema autónomo lineal con entradas y salidas como sigue:

$$\dot{x}(t) = Ax(t) + Bu(t) \quad (2.4).$$

$$y(t) = Cx(t); x(0) = x_0 \neq 0 \quad (2.5).$$

en el que $x \in \mathbb{R}^n$ es el vector de estados, $u \in \mathbb{R}^q$ es el vector de entradas, $y \in \mathbb{R}^m$ es el vector de salidas medibles continuo y diferenciable y C es la matriz de mediciones. Las matrices $(A; B; C)$ son perfectamente conocidas.



El estimador de estados está compuesto por una reproducción del sistema más un término adicional de corrección. La arquitectura del observador es:

$$\dot{\hat{x}}(t) = A\hat{x}(t) + Bu(t) + L(y(t) - C\hat{x}(t)) \quad (2.6).$$

Donde L es la matriz de ganancias del observador. El observador reproduce la entrada y la salida del sistema y además corrige la ecuación dinámica con un término que es proporcional al error entre la salida del sistema real ($y(t)$) y la salida estimada ($C\hat{x}(t)$).

Definiremos el error entre los estados reales del sistema y los estimados como: $e(t) = x(t) - \hat{x}(t)$.

Entonces, la dinámica del error ($\dot{e}(t)$) será:

$$\dot{e}(t) = \dot{x}(t) - \dot{\hat{x}}(t) = A(x(t) - \hat{x}(t)) - LC(x(t) - \hat{x}(t)) = (A - LC)e(t) \quad (2.7).$$

Y entonces, $\dot{e}(t) \rightarrow 0$ si los valores propios de la matriz $A - LC$ son todos estables, es decir si están en el semiplano izquierdo. La solución de la ecuación $\dot{e}(t) = (A - LC)e(t)$ es:

$$e(t) = \exp^{(A-LC)t} e_0; e_0 = (\hat{x}(0) - x(0)) \quad (2.8).$$

De modo que, si los autovalores de $A - LC$ tienen todas partes reales negativas, el error ($e(t)$) tiende a cero sin importar su condición inicial (Besançon, 2007). Lo que quiere decir que, el observador de Luenberger, bajo la suposición del conocimiento de la velocidad de reacción del sistema, a medida que pasa el tiempo, mejora asintóticamente la estimación de los estados.

Es importante notar que un problema importante durante el diseño de un estimador de estados es la determinación de una ganancia del observador L tal que los valores propios de la matriz $A - LC$ estén todos en el semiplano izquierdo (es decir, que todos tengan parte real negativa). Los valores propios están dados por las raíces del polinomio característico:

$$r(s) = |sI - A + LC| = s^n + \tilde{a}_{n-1}s^{n-1} + \dots + \tilde{a}_1s + \tilde{a}_0 \quad (2.9).$$

Para la ubicación de los polos (s) del observador se debe tomar en cuenta que estos deben estar más a la izquierda en el semiplano izquierdo que los polos del sistema con realimentación de estados, esto es, que la dinámica del observador debe ser más rápida que la del sistema que debe observar si queremos tener un estimado de los estados adecuado.



En una primera etapa de la estimación de estados (monitoreo virtual), las variables reales del proceso y las respectivas variables que están siendo estimadas no convergen completamente. Esto es muy semejante a cuando se resuelve una ecuación algebraica utilizando un método numérico como el de Newton-Raphson. Para poder resolver la ecuación se necesita de hacer una suposición de cuál sería el resultado de la ecuación. Posteriormente el algoritmo del método reporta el resultado real. Así entonces, para un observador es necesario programar cual es el que se supone el valor de la variable real del proceso. No es necesario de que esta suposición sea cierta, una cualidad del observador es que después de un tiempo esté reportando el valor real. A esta cualidad se le llama *convergencia del observador*.

Una característica deseable de un observador es que tenga una rápida convergencia. Esta velocidad de convergencia puede ser *sintonizable* o ajustable mediante la ganancia. No siempre una velocidad de convergencia demasiado alta es deseable ya que la dinámica del observador puede caer en inestabilidad. Esto es muy semejante a cuando se está buscando en la televisión un buen programa que sea de interés. Si se cambia de canal tan rápidamente que no se da tiempo suficiente para evaluar el contenido por canal, nunca se llegará a elegir un canal en específico.

El observador de Luenberger puede ser usado tanto en tiempo continuo como en tiempo discreto. La selección de la ganancia del observador es un parámetro libre y es importante para lograr que la dinámica del error tenga un comportamiento asintótico. Normalmente se realiza un diseño mediante ubicación de polos para la sintonización de las ganancias. Entre las desventajas de este observador se encuentra en que se basa en la estructura perfectamente conocida del modelo y puede tener error en la estimación debido al ruido en las mediciones (Dochain, 2003; Luenberger, 1966).

2.2.2. Observador de Kalman

El filtro de Kalman u observador de Kalman, fue publicado en 1959, es el estimador óptimo para modelos de sistemas lineales con ruido blanco aditivo. Debido a que la mayoría de los sistemas son no lineales, este observador fue adaptado mediante expansiones de series de Taylor multivariables, para linealizar un modelo alrededor de un punto de equilibrio (Thijssen, 2008; Zarchan & Musoff, 2000).

Considere un sistema lineal variante en el tiempo (LTV) de la siguiente forma:

$$\dot{x}(t) = A(t)x(t) + B(t)u(t)$$



$$y(t) = C(t)x(t) \quad (2.10)$$

Con $A(t)$, $C(t)$ uniformemente acotadas.

Para este tipo de sistemas se tiene el siguiente teorema:

Teorema 2. Si el sistema (2.10) es uniformemente completamente observable, entonces existe un observador de la forma:

$$\dot{\hat{x}}(t) = A(t)\hat{x}(t) + B(t)u(t) - K(t)(C(t)\hat{x}(t) - y(t)) \quad (2.11)$$

Con $K(t)$ dado por:

$$K(t) = M(t)C^T(t)W^{-1} \quad (2.12)$$

$$\dot{M}(t) = A(t)M(t) + M(t)A^T(t) - M(t)C^T(t)W^{-1}C(t)M(t) + V + \delta M(t) \quad (2.13).$$

$$M(0) = M_0 = M_0^T > 0, W = W^T > 0 \quad (2.14).$$

Con cualquiera $\delta > 2\|A(t)\|$ para todo t , o $V = V^T > 0$, donde V y W son matrices de varianza.

Es importante mencionar que:

1. la velocidad de convergencia puede ser sintonizada ya sea con δ o V .
2. Para $\delta = 0$, se obtiene el observador clásico de Kalman, la usual condición de convergencia, siendo que (A, V) son uniformemente, completamente observables.
3. La ganancia del observador también puede ser calculada como: $K(t) = S^{-1}(t)C^T W^{-1}$ donde S es la solución de:

$$\dot{S}(t) = -A^T(t)S(t) - S(t)A(t) + C^T(t)W^{-1}C(t) - \delta S(t) - S(t)VS(t) \quad (2.15)$$

$$S(0) = S^T(0) > 0$$

La cual la hace una ecuación lineal en S siempre que V sea escogido igual a cero.

El resultado del Teorema 2 se puede establecer al mostrar que:

- a.) $\exists \alpha_1, \alpha_2, t_0$ tal que $\forall t \geq t_0: 0 < \alpha_1 I \leq M^{-1}(t) \leq \alpha_2 I$ básicamente a partir de la condición observabilidad completa y uniforme.



b.) $V(e, t) = e^T(t)M^{-1}(t)e(t)$ donde $e := \hat{x} - x$ es una función de Lyapunov para la ecuación del error de observación, la cual decae exponencialmente con una velocidad de decaimiento ajustable vía δ o el valor propio mínimo de V .

Esto puede ser visto ya sea cuando $V = 0$ y $\delta > 2\|A(t)\|$, o cuando $V = V^T > 0$ y $\delta = 0$.

Sobre la base del Teorema 2, una extensión se puede derivar de forma intuitiva para sistemas no lineales que dependen de su aproximación de primer orden a lo largo de las trayectorias estimadas, y es conocido como Kalman Filtro Extendido (Besançon, 2007).

2.2.3. Observador de Kalman Extendido

El Filtro de Kalman Extendido (EKO), es la versión no lineal del filtro de Kalman el cual linealiza alrededor de una estimación de la media actual y la covarianza, en el caso de modelos de transición bien definidos. Este observador es considerado el estándar en la teoría de la estimación de estados no lineal (Gauthier & Kupka, 1994; Misawa & Hedrick, 1989; Nijmeijer & Fossen, 1999).

Considere el siguiente sistema no lineal de la forma:

$$\dot{x}(t) = f(x(t), u(t))$$

$$y(t) = h(x(t)) \tag{2.16}$$

El correspondiente Filtro de Kalman Extendido está dado por:

$$\dot{\hat{x}}(t) = f(\hat{x}(t), u(t)) - K(t)(h(\hat{x}(t)) - y(t)) \tag{2.17}$$

Donde $K(t)$ está dado como en el observador de Kalman (2.12) con:

$$A(t) := \frac{\partial f}{\partial x}(\hat{x}(t), u(t)), C(t) := \frac{\partial h}{\partial x}(\hat{x}(t)) \tag{2.18}.$$

Esto produce un candidato para un diseño de observación sistemática en frente de un sistema no lineal, pero en general no se garantiza la convergencia, excepto bajo condiciones de estructura específica. La selección $K(\hat{x})$ debe lograr minimizar el índice de error $\int_0^t e^T e dt$. La solución del problema de optimización lleva a la ecuación diferencial matricial de Riccati. Este observador tiene la desventaja de que se basa en el conocimiento de la estructura perfecta del modelo, y que debe linealizarse el modelo en un punto de operación para ser aplicado, además de que debe



resolverse la ecuación de Riccati. Si el estimado inicial del estado es incorrecto, o si el proceso es modelado incorrectamente, el observador puede diverger rápidamente, debido a su linealización. Otro problema con el estimador extendido de Kalman es que la matriz de covarianza estimada tiende a subestimar la matriz de covarianza real y por lo tanto los riesgos inconsistentes estadísticamente sin la adición de ruido de estabilización (Khalil & Praly, 2014). Todo lo anterior ha motivado a la inspección de estructuras no lineales más específicas para el diseño de observadores como las que se describen seguidamente.

2.2.4. Observador de Alta-Ganancia

El observador de alta ganancia fue introducido por vez primera por (Khalil, 1996; Khalil & Praly, 2014) para el diseño de un controlador por retroalimentación debido a su habilidad para estimar de forma robusta los estados no medidos mientras las perturbaciones se atenúan asintóticamente. Los observadores de alta ganancia son muy populares en aplicaciones debido a su sencilla implementación con una ganancia del observador constante. En la práctica, la ganancia es usualmente escogida basada en la colocación de los valores propios suficientemente lejos en el plano complejo a la izquierda, donde la convergencia del observador no lineal es verificada por simulación. Aunque esta estrategia funciona bien en muchas aplicaciones, la selección exacta de la ganancia del observador es más complicada. En particular, los métodos de colocación existentes, seguido resultan en una restricción de la máxima constante de Lipschitz permitida. En muchos casos, estas acotaciones sobre la constante de Lipschitz son muy conservadoras.

Considere el siguiente sistema de la forma:

$$\dot{x} = A_0x + \varphi(x, u)$$

$$y = C_0x$$

Con:

$$A_0 = \begin{pmatrix} 0 & 1 & & 0 \\ & & \ddots & \\ & & & 1 \\ 0 & & & 0 \end{pmatrix}, \quad C_0 = (1 \quad 0 \quad \dots \quad 0) \quad (2.19).$$

Donde el sistema tiene una parte lineal (A_0x) y otra no lineal $\varphi(x, u)$.



La idea es ponderar una ganancia sobre la base de la parte lineal a fin de hacer que la dinámica lineal del error de observación domine sobre la dinámica del error no lineal.

Teorema 3. Si φ es globalmente Lipschitz con respecto a x , y uniformemente con respecto a u y tal que:

$$\frac{\partial \varphi_i}{\partial x_j}(x, u) = 0 \text{ para } j \geq i + 1, 1 \leq i, j \leq n$$

El sistema 2.15 admite un sistema de la forma:

$$\dot{\hat{x}} = A_0 \hat{x} + \varphi(\hat{x}, u) - \begin{pmatrix} \lambda & & 0 \\ & \ddots & \\ 0 & & \lambda^n \end{pmatrix} K_0 (C_0 \hat{x} - y) \quad (2.20).$$

Con K_0 tal que $A_0 - K_0 C_0$ sea estable, y λ suficientemente grande.

Este diseño es conocido como el observador de alta ganancia, ya que depende de la elección del parámetro de ajuste λ que sea lo suficientemente grande, es decir, mientras más grande el valor de λ , la convergencia es más rápida.

El observador de alta ganancia también puede extenderse a sistemas no lineales de la forma:

$$\dot{x}(t) = f(x(t), u(t)), y(t) = C_0 x(t) \quad (2.21).$$

Donde: $\frac{\partial f_i}{\partial x_i} = 0$ para $j > i + 1$ y $\frac{\partial f_i}{\partial x_{i+1}} \geq \alpha_1 > 0$ para todo x, u .

El resultado del Teorema 3 puede ser establecido al mostrar que $V(e) = e^T P(\lambda) e$ es una función de Lyapunov para la ecuación de error del observador, exponencialmente decreciente con una velocidad de decaimiento ajustable vía λ , donde:

$$e = \hat{x} - x \quad \text{y} \quad P(\lambda) = \begin{pmatrix} \lambda & & 0 \\ & \ddots & \\ 0 & & \lambda^n \end{pmatrix}^{-1} P_0 \begin{pmatrix} \lambda & & 0 \\ & \ddots & \\ 0 & & \lambda^n \end{pmatrix}^{-1} \quad (2.22).$$

Con P_0 tal que:

$$P_0(A_0 - K_0 C_0) + (A_0 - K_0 C_0)^T P_0 = -I \quad (\text{Besançon, 2007}).$$



Este observador hace una partición de la dinámica del sistema en lineal y no lineal. El diseño del observador se realiza de tal forma que la parte lineal de la dinámica domine sobre la parte no lineal. Se utiliza la geometría diferencial, y en particular álgebra de Lie, para realizar las transformaciones necesarias. Presenta la desventaja de que al aumentar la ganancia del observador baja el error en la estimación y se rechaza mejor la incertidumbre del modelo, pero aumentan las oscilaciones en la respuesta. Si la ganancia es muy alta aumenta la sensibilidad al ruido y el observador puede volverse inestable. No todos los modelos del proceso se pueden llevar a la forma canónica necesaria y por lo tanto las aplicaciones son restringidas (Goffaux & Vande Wouwer, 2005; Ibrir, 2006; Nijmeijer & Fossen, 1999).

2.2.5. Observador de Modos deslizantes

Este tipo de observador es muy útil y fue desarrollado por muchas razones:

- a. Para trabajar con la dinámica del error de los observadores de orden reducido.
- b. Por la posibilidad de obtener un diseño paso a paso.
- c. Para una convergencia a tiempo finito de todos los estados observados.
- d. Para diseñar, bajo algunas condiciones, observadores no suaves.
- e. Robustez bajo variación de parámetros es posible, si la condición es verificada.

Entre las ventajas de este observador se encuentra que es robusto contra incertidumbres en el modelo y sus parámetros, es decir, la posibilidad de diseñar un observador para un sistema con una estructura no exacta, variable pero acotada. La mayor desventaja consiste en el efecto de “chattering”, que es debido al rápido cambio de señales.

Considere el siguiente ejemplo de un observador de modos deslizantes:

Permita a Σ ser el sistema:

$$\dot{x}_1 = x_2$$

$$\dot{x}_2 = f(x_1, x_2)$$

$$y = x_1 \tag{2.23}.$$

Donde $x \in \mathbb{R}^2$ y $y \in \mathbb{R}$ es la salida; la función $f(x_1, x_2)$ está acotada ($f(x_1, x_2) < B$), pero no es necesariamente suave, por lo tanto (2.23), es un caso particular de dinámica de estructura variable.



Se desea observar el estado x_1 con la restricción adicional para obtener el valor real de x_2 en un tiempo finito. Para lograr lo anterior, se utiliza el clásico observador de modos deslizantes, completado con un nuevo componente \tilde{x}_2 .

$$\dot{\hat{x}}_1 = \hat{x}_2 + \lambda_1 \text{sgn}(x_1 - \hat{x}_1)$$

$$\dot{\hat{x}}_2 = f(x_1, \tilde{x}_2) + E_1 \lambda_2 \text{sgn}(\tilde{x}_2 - \hat{x}_2)$$

$$\hat{y} = \hat{x}_1$$

$$\dot{\tilde{x}}_2 = \hat{x}_2 + E_1 \lambda_1 \text{sgn}(x_1 - \hat{x}_1) \quad (2.24).$$

Donde \hat{x} representa el valor estimado de x y $E_1 = 1$ si $x_1 = \hat{x}_1$ de otro modo $E_1 = 0$; sgn indica la función signo. Se puede definir el error de observación como $e = x - \hat{x}$.

A partir de las ecs. (2.23) y (2.24) la dinámica del error de observación es:

$$\dot{e}_1 = e_2 - \lambda_1 \text{sgn}(e_1)$$

$$\dot{e}_2 = f(x_1, x_2) - f(x_1, \tilde{x}_2) - E_1 \lambda_2 \text{sgn}(\tilde{x}_2 - \hat{x}_2) \quad (2.25).$$

Considere el colector no vacío $S = \{e/e_1 = 0\}$ y la función de Lyapunov $V = \frac{1}{2}e_1^2$, se demuestra la atractividad de S a continuación:

$$\dot{V} = e_1 e_2 - \lambda_1 e_1 \text{sig}(e_1) \quad (2.26).$$

La cual verifica la desigualdad $\dot{V} < 0$, cuando λ_1 es escogido tal que $\lambda_1 > |e_2|_{\max}$ (donde $|e|_{\max}$ indica el máximo valor de e , $\forall t \in [0, \infty]$).

A medida que se utiliza una función sgn y tanto la función de Lyapunov V es decreciente, se obtiene la convergencia a la superficie deslizante $S = 0$ en un tiempo finito t_0 (y además, se tiene $|e|_{\max} = |e|_{\max}^{t_0}$ y $|e|_{\max}^{t_0}$ es el máximo valor de e , $\forall t \in [0, \infty]$). En consecuencia, $\lambda_1 > |e_2|_{\max}$, \hat{x}_1 converge a x_1 en tiempo finito y permanece igual a x_1 para $t > t_0$.

Por consiguiente, se tiene también que $\dot{e}_1 = 0 \forall t > t_0$ por lo tanto, a partir de (2.25):

$$e_2 = \lambda_1 \text{sgn}(e_1) \quad (2.27).$$



Por lo tanto, la salida del observador, $\tilde{x}_2 = \hat{x}_2 + \lambda_1 \text{sgn}(e_1)$ es igual a $x_2 \forall t > t_0$. Se ha demostrado para el sistema (2.23) que el observador (2.24) es adecuado para dar los valores de los estados en tiempo finito.

Es importante resaltar que, el observador de modos deslizantes presentado anteriormente, no considera ningún ruido en la medición, aunque esta dificultad se puede superar parcialmente mediante la modificación de la función signo o empleando un observador de modos deslizantes de alta ganancia.

La condición $\lambda_1 > |e_2|_{max}$ sólo puede ser verificada si e_2 tiene dinámica estable, la cual se cumple después de t_0 para $\lambda_2 > 0$, donde se tiene que:

$$\dot{e}_2 = f(x_1, x_2) - f(x_1, \tilde{x}_2) - E_1 \lambda_2 \text{sgn}(\tilde{x}_2 - \hat{x}_2) \quad (2.28).$$

Con $\tilde{x}_2 = \hat{x}_2$ y $E_1 = 1$ entonces,

$$\dot{e}_2 = -\lambda_2 \text{sgn}(e_2) \quad (2.29).$$

Por lo tanto, se obtiene $|e_2|_{max}^{t_0}$, el cual es acotado a la vez que t_0 y $f(x_1, x_2)$ están acotados. El observador (2.20) con las hipótesis $\lambda_1 = |e_2|_{max}^{t_0}$ y $\lambda_2 > 0$ asegura una convergencia a tiempo finito de (e_1, e_2) a $(0,0)$ (Perruquetti & Barbot, 2002).

2.3.OBSERVABILIDAD

La implementación de las leyes de control requiere información de los estados del sistema en tiempo real. En la práctica, obtener señales de todos los estados es una tarea que puede resultar en costos elevados debido a la necesidad de usar sensores para medir cada uno de los estados del sistema o en el peor de los casos la variable no puede ser medida. Para resolver este problema se ha planteado como solución la construcción de observadores de estado, como se mencionó anteriormente. Es importante recordar que la implementación de un observador de estado solo funcionará sí y solo sí el sistema es observable (Aguilar-Lopez, Mata-Machuca, & Martinez-Guerra, 2010).



Definición 5. Se define como Observabilidad a la propiedad que tienen los sistemas para que a partir de la medición de al menos uno de sus estados y un modelo matemático del sistema, es posible reconstruir el vector de estados real completo (Hespanha, 2009).

2.3.1. Pruebas de Observabilidad

2.3.1.1. Matriz de Observabilidad

Considera el sistema representado por las ecuaciones (2.4) y (2.5). Siendo los conjuntos finitos $\Psi = (\mathbf{y}, \mathbf{y}', \mathbf{y}'', \mathbf{y}''' \dots)^T \in \mathbb{R}^m$ y $\mathbf{X} = (\mathbf{x}_1, \mathbf{x}_2, \mathbf{x}_3, \mathbf{x}_4 \dots)^T \in \mathbb{R}^n$ relacionados con el vector de salidas del sistema y el vector de estados, respectivamente. Por lo tanto es posible construir el siguiente sistema lineal dinámico:

$$\begin{bmatrix} \mathbf{y} \\ \mathbf{y}' \\ \mathbf{y}'' \\ \vdots \\ \mathbf{y}^{n-1} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} C\mathbf{x} \\ CA\mathbf{x} \\ CA^2\mathbf{x} \\ \vdots \\ CA^{n-1}\mathbf{x} \end{bmatrix} \quad (2.30).$$

O en forma vectorial:

$$\Psi = O\mathbf{X} \quad (2.31).$$

Donde la matriz de observabilidad es definida por:

$$O := \begin{bmatrix} C \\ CA \\ CA^2 \\ \vdots \\ CA^{(n-1)} \end{bmatrix} \quad (2.32).$$

La matriz de observabilidad debe ser invertible para poder reconstruir el vector de estados, tal que el vector \mathbf{X} es observable con respecto a la salida medible Ψ :

$$\mathbf{X} = O^{-1}\Psi \quad (2.33).$$

Teorema 4. (Prueba de la Matriz de Observabilidad). El sistema anterior es observable si y sólo si el rango de $O = n$ (Aguilar-Lopez, Mata-Machuca, et al., 2010; Hespanha, 2009).



Para sistemas no lineales, es necesaria una transformación a sistema lineal para poder aplicar el Teorema 4. Esta transformación es vía series de Taylor y es válida para un punto de equilibrio y su vecindad, como lo estipula el teorema de Grobman-Hartman.

2.3.1.2. Criterio algebraico-diferencial

El criterio de observabilidad algebraico-diferencial es relativamente una nueva metodología basada en técnicas algebraico-diferenciales. Esta aproximación de la determinación de la observabilidad sugiere que el sistema es observable si y sólo si todos los estados del modelo pueden ser expresados en términos de las salidas medibles y un número finito de sus derivadas.

Teorema 5. (Observabilidad algebraico-diferencial). Un estado x , es algebraicamente observable, si satisface un polinomio P , en términos de u (entradas), y (salidas) y un número finito de sus derivadas respecto al tiempo (Aguilar-Lopez, Mata-Machuca, et al., 2010; Byrnes, Martin, American Mathematical Society., United States. National Aeronautics and Space Administration., & North Atlantic Treaty Organization., 1980; Hermann, 1974; Martinez-Guerra, Aguilar, & Poznyak, 2004; MartinezGuerra & deLeonMorales, 1996):

$$P \left(x_i, u, \frac{du}{dt}, \frac{d^2u}{dt^2}, \frac{d^3u}{dt^3}, \dots, y, \frac{dy}{dt}, \frac{d^2y}{dt^2}, \frac{d^3y}{dt^3} \dots \right) = 0 \quad (2.34).$$

2.3.2. Prueba de detectabilidad

En el caso de sistemas que no sean completamente observables ($\text{rango}(M) < n$), un análisis de detectabilidad se puede realizar con la finalidad de conocer si es subespacio no observable es estable. Este análisis está condensado en el siguiente teorema:

Teorema 6. (Detectabilidad local vía Popov-Belevitch-Hautus). Un sistema lineal continuo en el tiempo CA es detectable si y sólo si:

$$\text{rank} \begin{bmatrix} A - \lambda I \\ C \end{bmatrix} = n \quad (2.35).$$

Donde λ contiene los valores propios de la matriz A , I es la matriz de identidad (Hespanha, 2009).



2.3.3. Descomposición en valores singulares y número de condición

La matriz de observabilidad/detectabilidad puede analizarse además, a partir de sus valores singulares y su número de condición. Por lo cual es conveniente definir estos dos parámetros.

2.3.3.1. Descomposición en Valores Singulares

La *descomposición en valores singulares* (DVS) es una técnica usada para factorizar (descomponer) una matriz en tres matrices componentes. Tal que para una matriz $\Theta \in \mathbb{R}^{m \times n}$, con rango r , hay dos matrices ortogonales $V_{m \times m}$, $W_{n \times n}$ y una matriz diagonal $D_{r \times r} = \text{diag}(\omega_1, \omega_2, \dots, \omega_r)$ tal que:

$$\Theta = V \begin{pmatrix} D & 0 \\ 0 & 0 \end{pmatrix}_{m \times n} W^T \quad \text{con } \omega_1 \geq \omega_2 \geq \dots \geq \omega_r \geq 0 \quad (2.36).$$

Los ω_i 's son llamados los valores singulares de Θ (con valores distintos a cero). Cuando $r < p = \min\{m, n\}$, se dice que Θ tiene $p - r$ valores singulares adicionales de cero. Las columnas V y W son llamados vectores singulares a la izquierda y la derecha de Θ , respectivamente. Los valores singulares también pueden ser determinados como las raíces cuadradas de los valores propios de $\Theta^T \Theta$. Los valores singulares pueden dar el rango de la matriz estudiada y caracterizar la singularidad de una matriz (Meyer, 2000).

2.3.3.2. Número de condición

A partir de la DVS un importante índice de la controlabilidad u observabilidad puede obtenerse, el llamado *número de condición del sistema* (NC). Este número de condición es el radio entre el valor singular más alto ω_1 y el más pequeño ω_n . El NC mide la sensibilidad en la solución de un sistema lineal de ecuaciones a errores en los datos; indica la precisión de los resultados a partir de la inversión de la matriz y la solución de la ecuación lineal. Valores en el NC cercanos a uno indican una matriz bien condicionada. Para una matriz no singular $\Theta_{n \times n}$ teniendo los valores singulares $\omega_1 \geq \omega_2 \geq \dots \geq \omega_n$ y una DVS $\Theta = VDW^T$; siendo $D = \text{diag}(\omega_1, \omega_2, \dots, \omega_n)$ la imagen de una 2-esfera unitaria es un elipsoide cuyo k^{th} semieje es dado por $\omega_k V_{*k}$. Además, V_{*k} es un punto en la esfera unitaria tal que $\Theta W_{*k} = \omega_k V_{*k}$. En particular:



$$\omega_1 = \|\Theta W_{*1}\|_2 = \max_{\|x\|_2=1} \|\Theta x\|_2 = \|\Theta\|_2 \quad (2.37).$$

$$\omega_n = \|\Theta W_{*n}\|_2 = \max_{\|x\|_2=1} \|\Theta x\|_2 = 1/\|\Theta^{-1}\|_2 \quad (2.38).$$

El grado de distorsión de la esfera unitaria bajo una transformación por Θ es medido por la 2-norma del número de condición:

$$NC = \frac{\omega_1}{\omega_n} = \|B\|_2 \|B^{-1}\|_2 \geq 1 \quad (2.39).$$

Nótese que el $NC = 1$ si y sólo si Θ es una matriz ortogonal.

La cantidad de distorsión de una esfera unitaria bajo la transformación por Θ , determina el grado al cual las incertidumbres en un sistema lineal $\Theta x = e$ puede ser magnificada (Hespanha, 2009).

2.4. ESTIMACIÓN DE ESTADOS EN BIORREACTORES

El diseño y la aplicación de los observadores de estado en bioprocesos ha sido un área activa en las últimas décadas. Una dificultad importante cuando se aplican los observadores de estados a los bioprocesos es debida a la dificultad para describir matemáticamente la velocidad de reacción, debido a lo anterior, dos clases de observadores de estados se pueden encontrar en la literatura (Dochain, 2003).

La primera clase de los observadores (incluidos los observadores clásicos como Luenberger y los observadores de Kalman, y los observadores no lineales) se basan en la perfecta descripción matemática de la velocidad de reacción. Observadores clásicos, como el filtro de Kalman, han encontrado aplicaciones en algunos procesos (bio) químicos. En particular, el filtro de Kalman extendido, que permite el uso de modelos dinámicos de tiempo continuo en conjunto con mediciones en tiempo discreto, además de que toma en cuenta ruidos en la medición. Las no linealidades del proceso son tratadas de una manera aproximada, a través de una linealización a lo largo de la trayectoria del estado estimado. Los ruidos en las mediciones son asumidas que se distribuyen normalmente (Bastin & Dochain, 1990; Meurer, Graichen, & Gilles, 2005).

Un problema con lo anterior es que la teoría de los observadores extendidos de Luenberger y Kalman, además de los observadores no lineales se ha desarrollado bajo un perfecto conocimiento de los parámetros de la cinética de reacción d bioproceso, con frecuencia el valor de los parámetros



presenta cierta incertidumbre lo que puede generar sesgos en la estimación de los estados no medidos (Besancon, 2006).

Una segunda clase de observadores, llamada observadores asintóticos se basa en la idea de que la incertidumbre en los modelos de (bio) procesos radica en el modelado e identificación paramétrica de la cinética del proceso. Por lo que los observadores asintóticos están basados en una transformación de estado eliminando las cinéticas de reacción de las ecuaciones del modelo. El diseño de estos observadores se basa en balances de masa y energía pero sin exigir el conocimiento de la cinética de reacción del proceso (Bastin & Dochain, 1990; Dochain, 2003; Mohd Ali et al., 2015). El inconveniente potencial de estos observadores asintóticos es la tasa de convergencia del estimador, de la cual depende totalmente la funcionalidad de dicho observador, la velocidad de convergencia asintótica es determinada por las condiciones de operación del proceso (Meurer et al., 2005).



3. JUSTIFICACIÓN

Uno de los principales retos del bioingeniero es la implementación de estrategias eficientes para el monitoreo en línea y el control de bioprocesos. En muchos bioprocesos, es frecuente que sólo las concentraciones de algunos componentes críticos relacionados con el control de calidad, están disponibles para su medición en línea por razones de costo, restricciones tecnológicas, tiempos largos de análisis de la muestra, etc. Por ejemplo, la concentración de oxígeno disuelto en un biorreactor, temperatura en reactores no isotérmicos y velocidades de flujo en líquidos y gases están disponibles para su medición en línea empleando, un sensor de oxígeno disuelto, un termopar y un rotámetro, respectivamente, mientras que, las concentraciones de algunos productos, reactantes y/o biomasa no son medibles en tiempo real. La falta de sensores para todas las variables críticas de un bioproceso, justifica el uso de un observador de estados, que mediante las mediciones en tiempo real disponibles de un bioproceso, puede predecir sus variables no medibles en línea, obteniendo un aproximado global de la información interna del bioproceso.

Entre los Observadores clásicos en la literatura se pueden mencionar el de Luenberger, modos deslizantes y el de alto orden (Besançon, 2007; Dochain, 2003; Goffaux & Vande Wouwer, 2005; Ibrir, 2006; Mohd Ali et al., 2015; Spurgeon, 2008), que a pesar de su extenso uso presentan la



desventaja de no ser robustos a ruido en las mediciones y/o las incertidumbres de modelado, ocasionando bajos desempeños en los controladores basados en observadores.

Por lo anterior, es fundamental diseñar nuevos algoritmos de estimación de estados capaces de superar las desventajas mencionadas anteriormente. En este trabajo se diseñarán tres observadores no lineales robustos al ruido en medición y/o las incertidumbres del modelado que serán probados en tres modelos biológicos reportados en la literatura: un modelo de biorreactor sulfato-reductor (Neria-Gonzalez, Figueroa-Estrada, Cruz-Diaz, & Aguilar-Lopez, 2011), un modelo de transcripción de genes (Zhdanov, 2012) y un modelo de hidrólisis de carboximetilcelulosa en biorreactor (Gómez-Acata, 2015).



4. HIPÓTESIS

- Los modelos matemáticos de los sistemas biológicos de estudio: un sistema sulfato reductor, un sistema de transcripción de genes y un sistema de hidrólisis de carboximetilcelulosa, un sistema de producción de biodiesel, serán al menos, parcialmente observables.
- Los nuevos diseños de observadores no lineales presentarán una mayor velocidad de convergencia, menos sobresaltos y menor o nulo “*chattering*”, comparado con observadores clásicos en literatura como el observador de Luenberger o el observador de modos deslizantes. Los nuevos observadores serán aplicados en la estimación de las variables no medibles en tiempo real, en el caso de un modelo sulfato reductor, se estimará la producción de sulfato, en un modelo de expresión de genes se estimará la concentración de una proteína sintetizada y para un modelo de hidrólisis de celulosa, se estimará la concentración de biomasa.



5. OBJETIVOS

5.1.OBJETIVO GENERAL

Analizar, diseñar e implementar nuevos algoritmos de observación, como un método para estimar los estados no medidos, debido a la falta de sensores no adecuados para todas las variables involucradas en un sistema biológico.

5.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Diseñar tres nuevas estructuras de observadores de tipo no lineal, robustos a ruido de medición y/o errores de modelado.
2. Seleccionar tres modelos matemáticos de sistemas biológicos reportados en literatura, de bajo orden y de interés biotecnológico, para corroborar el funcionamiento de los nuevos observadores.
3. Analizar teóricamente y/o numéricamente la dinámica de los tres modelos matemáticos seleccionados en el objetivo particular 2, mediante el segundo criterio de Lyapunov sobre estabilidad y/o técnicas de bifurcación.



4. Analizar teóricamente y/o numéricamente la observabilidad de los tres modelos matemáticos seleccionados en el objetivo particular 2
5. Implementar los tres nuevos diseños de observadores no lineales a los modelos matemáticos del objetivo particular 2 y comparar su desempeño con el observador de Luenberger así como otros observadores de la literatura.



6. MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos de implementación de los observadores, observabilidad y estabilidad fueron realizados *in silico* utilizando el software matemático MATLAB® v7.8, debido a la versatilidad de trabajo en diferentes plataformas, la fácil implementación de algoritmos, su amigable interface gráfica de usuario, su poder de cálculo, su gran paquetería de aplicaciones a la ingeniería principalmente, sus tutoriales en línea, su menú de ayuda y su amplio menú de edición de gráficos (Chonacky & Winch, 2005a, 2005b).

Para el análisis dinámico de un modelo de biorreactor sulfato-reductor (Neria-Gonzalez et al., 2011); un modelo de hidrólisis de carboximetilcelulosa en biorreactor (Gómez-Acata, 2015) y un modelo de producción de lípidos en biorreactor por el hongo oleaginoso *Mortierella isabellina* (Economou, Aggelis, Pavlou, & Vayenas, 2011), se empleó Matcont, un software numérico gratuito desarrollado en Matlab por Willy Govaerts y Yuri Kuznetsov en el 2003 (Bindel, Friedman, Govaerts, Hughes, & Kuznetsov, 2014; Dhooge, Govaerts, & Kuznetsov, 2003; Dhooge, Govaerts, Kuznetsov, Meijer, & Sautois, 2008; Dhooge, Sautois, Govaerts, & Kuznetsov, 2005). MATCONT es un software para el análisis de bifurcación numérico de sistemas dinámicos representado por ecuaciones diferencias ordinarias. Es capaz de construir curvas de equilibrio, detectar puntos límite, bifurcaciones de Hopf, ciclos límite, bifurcaciones de ciclos límite, construir mapas de Poincaré, etc. (De Witte, Govaerts, Kuznetsov, & Friedman, 2012; De Witte, Govaerts, Kuznetsov, & Meijer, 2014; Friedman, Govaerts, Kuznetsov, & Sautois, 2005; Govaerts, Kuznetsov, & Dhooge, 2005).



7. SISTEMAS DE ESTUDIO

7.1. BIORREACTOR SULFATO REDUCTOR

Una larga lista de estudios se ha enfocado en investigar el potencial de los microorganismos (principalmente bacterias y hongos) en la biorremediación, como una alternativa a los procesos fisicoquímicos. Tal es el caso de las bacterias sulfato-reductoras (BSR) (Chang, Shin, & Kim, 2000; Elliott, Ragusa, & Catcheside, 1998). Estas bacterias tienen la habilidad de remover las sales de sulfato (SO_4^{-2}) mediante su reducción bioquímica y convertirlas en sulfuro de hidrógeno (H_2S), un gas tóxico muy soluble en agua (Moosa, Nemati, & T. L. Harrison, 2002). La solubilidad del gas H_2S en agua es alrededor de 3.5 g/L en condiciones normales de presión y temperatura, lo que inhibe el crecimiento de las BSR. Por ejemplo, miembros del género *Desulfovibrio* sp. son inhibidos a concentraciones entre las 400-600 ppm (Neria-González, Wang, Ramírez, Romero, & Hernández-Rodríguez, 2006; Neria-Gonzalez et al., 2011). La toxicidad en agua de este compuesto aumenta a pH ácidos y disminuye a pH alcalinos.

Los sulfuros (S^{-2}) generados de la reducción del sulfato, tienen una aplicación biotecnológica, debido a que pueden ser empleados para remover metales pesados de las aguas residuales, como en el caso del Cr^{+6} , Cd^{+2} , Mg^{+2} , etc., formándose sulfuros metálicos insolubles en agua. Por ejemplo,



el CdS es empleado como semiconductor en celdas solares, en pigmentos y componentes electrónicos (Gibson, 1990; P. López Pérez et al., 2013).

Los modelos matemáticos de tipo no estructurado han sido ampliamente utilizados en la ingeniería de bioprocesos debido a que describen de forma simple los sistemas biológicos. Estos modelos proveen una primera aproximación del crecimiento microbiano, que aunque sencilla, puede predecir los comportamientos complejos que ocurren en muchos biosistemas (Ilchmann & Weirig, 1999).

El modelo matemático del proceso de respiración anaerobia de la bacteria *Desulfovibrio alaskensis* reportado en (Neria-Gonzalez et al., 2011), describe los balances de masa para la biomasa (X), sulfato (S) y sulfuro (P), como principales estados de un biorreactor de tanque agitado de mezcla perfecta operado en lote. Con base en los parámetros cinéticos encontrados por (Neria-Gonzalez et al., 2011), se propuso un modelo de biorreactor en continuo con recirculación de biomasa, considerando además un término de muerte celular (K_d), el cual se presenta a continuación:

-Balance de masa para el sulfato:

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \mu XY_{xs} \quad (7.1).$$

- Balance de masa para la biomasa:

$$\frac{dX}{dt} = X(D(\alpha(C - 1) - 1) + \mu - k_d) \quad (7.2).$$

-Balance de masa para sulfuro:

$$\frac{dP}{dt} = -DP - \mu XY_{xp} \quad (7.3).$$

$$\mu = \mu_{max} \left[1 - \frac{P}{P^*} \right]^n \left[\frac{S}{K_s + S} \right] \text{ (Modelo de Levenspiel)} \quad (7.4).$$

$$\alpha = \frac{Fr}{F} \text{ (Fracción de recirculado)}$$

$$C = \frac{X_R}{X} \text{ (Factor de concentración)}$$

Donde:

S_0 = Concentración de sulfato inicial [$\text{mgSO}_4^- \text{L}^{-1}$]; S = Concentración de sulfato [$\text{mg SO}_4^{-2} \text{L}^{-1}$]; D = Tasa de dilución [h^{-1}]; X = Concentración de biomasa [mgcel L^{-1}]; P = Concentración de producto [$\text{mgS}^{-2} \text{L}^{-1}$]; Y_{sx} = Rendimiento celular [$\text{mgSO}_4^{-2} \text{mgcel}^{-1}$]; Y_{xp} = Rendimiento producto [mgS^{-2}



mgcel^{-1} ; $\mu(S,P)$ = Velocidad específica de crecimiento [h^{-1}]; K_d =velocidad de muerte celular [h^{-1}]; F =flujo de alimentación (L h^{-1}); F_r =flujo de recirculación (L h^{-1}); X_R = Concentración de biomasa en el flujo de recirculación [mgcel L^{-1}]; μ_m =velocidad máxima de crecimiento [h^{-1}]; P^* =Concentración de producto inhibitoria [$\text{mgS}^{-2} \text{L}^{-1}$]; K_S =constante de afinidad al sulfato [$\text{mgSO}_4^- \text{L}^{-1}$]; n =constante empírica.

La figura 3 muestra el esquema del biorreactor operado en continuo con recirculación de biomasa. Cabe mencionar que para el valor de $D=0$ y $K_d=0$, el biorreactor opera en lote sin considerar muerte celular y el balance de masa es igual al reportado originalmente por (Neria-Gonzalez et al., 2011).

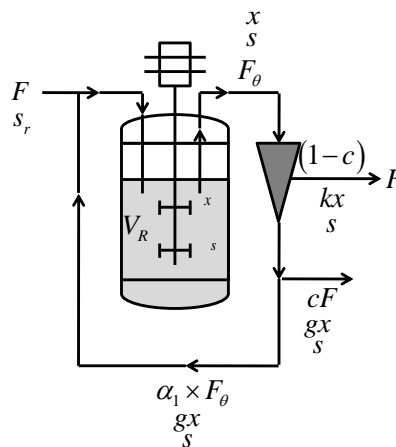


Figura 3. Biorreactor con recirculación de biomasa.

7.2.MODELO DE TRANSCRIPCIÓN DE GENES

El estudio de los sistemas biológicos puede enfocarse por ejemplo, a la célula, como unidad fundamental de la vida, y en sus más básicas unidades bioquímicas, tales como ácidos nucleicos, lípidos, carbohidratos y proteínas, dichas unidades bioquímicas son cuantificadas experimentalmente con la finalidad de estudiar la respuesta a un estímulo (por ejemplo, cambios de pH, temperatura, sustrato, etc.) aplicado a la célula. Además con dichos datos es posible desarrollar modelos matemáticos que predigan el comportamiento intracelular con respecto al tiempo.

Un ejemplo de un modelo intracelular es un modelo de transcripción de genes. En términos sencillos, la transcripción de genes es un conjunto de pasos que permiten la síntesis del RNA mensajero (RNAm) a partir de DNA genómico. Por otro lado, la translación es el proceso en el



cual, la información contenida en el RNAm es leída por la maquinaria sintética de la célula para crear la proteína.

Un modelo de transcripción de genes recientemente publicado es el de (Zhdanov, 2012), este modelo hipotético toma en cuenta la relación entre un mRNA y tres proteínas sintetizadas, la proteína activa y sus precursoras, La proteína activa es un inhibidor de la transcripción (regulador por retroalimentación). El modelo puede ser considerado como un análogo de una red de reacciones químicas gobernadas por el principio de conservación de masa (MCP) (Gavalas, 1968; Gutenkunst et al., 2007; Quach, Brunel, & d'Alche-Buc, 2007).

El modelo de transcripción de genes de (Zhdanov, 2012) es el siguiente:

$$\frac{dN}{dt} = w \left(\frac{K}{K+n_3} \right)^m - kN, \quad (7.5).$$

$$\frac{dn_1}{dt} = vN - k_{12}n_1 - k_1n_1, \quad (7.6).$$

$$\frac{dn_2}{dt} = k_{12}n_1 - k_{23}n_2, \quad (7.7).$$

$$\frac{dn_3}{dt} = k_{23}n_2 - k_3n_3, \quad (7.8).$$

Donde:

N es el mRNA (ng/ μ g), n_1 y n_2 son las proteínas precursoras 1 y 2, respectivamente y n_3 es la proteína activa (ng/ μ g), w es la velocidad de transcripción a $n_3 \rightarrow 0$ (min^{-1}), K es la constante de asociación de n_3 con el sitio regulatorio, m es el número de sitios regulatorios, v es la constante de la velocidad de translación (min^{-1}), k_{12} y k_{23} son las constantes de la velocidad de conversión (min^{-1}), k , k_1 y k_3 , son las constantes de la velocidad de degradación de las proteínas (min^{-1}). Todas las constantes tienen estrictamente valor positivo.

Con el objetivo de analizar las propiedades dinámicas del modelo de expresión de genes, ecuaciones (7.5)-(7.8), se define lo siguiente:

Definición 6. Deje a $x = (N, n_1, n_2, n_3)' \in \mathbb{R}^4$ ser el vector de estados del modelo de expresión de genes (4.67-4.70). Permita al conjunto $\Omega \subset \mathbb{R}_+^4$ ser el dominio físicamente alcanzable del modelo dinámico si:



$$\Omega = \{(N, n_1, n_2, n_3) \in \mathbb{R}_+^4 \mid 0 \leq N \leq N_m; 0 \leq n_1 \leq n_{1m}; 0 \leq n_2 \leq n_{2m}; 0 \leq n_3 \leq n_{3m}\}$$

Con $N_m, n_{im} < \infty$ para $i=1, \dots, 4$ son los valores máximos para el mRNA, la proteína precursora 1, proteína precursora 2 y la proteína activa, respectivamente.

Por lo tanto, podemos escribir:

$$N_m > \frac{w}{k} \left(\frac{K}{K+n_3} \right)^m; n_{1m} > \frac{vN}{k_{12} + k_1}; n_{2m} > \frac{k_{12}}{k_{23}} n_1; n_{3m} > \frac{k_{23}}{k_3} n_2$$

Ahora, a partir del teorema de existencia y unicidad (Borrelli & Coleman, 2004) es necesario checar si $f(x) = \left(\frac{K}{K+n_3} \right)^m$ es localmente Lipchitz en Ω , entonces el sistema (7.5)-(7.8) con $x(t_0) = x_0$ para cualquier

$x_0 \in \Omega$ tiene una única solución sobre $[t_0, t_0 + \delta]$ para algún δ .

Con respecto a los puntos de equilibrio para el modelo de expresión de genes (7.5)-(7.8), se tienen las siguientes sentencias: los puntos de equilibrio son marcados como $\bar{x} = (\bar{N}, \bar{n}_1, \bar{n}_2, \bar{n}_3) \in \Omega$ y son definidos por $\bar{n}_1 = \frac{v\bar{N}}{k_{12}+k_1}$; $\bar{n}_2 = \frac{k_{12}}{k_{23}} \bar{n}_1$ donde \bar{N}, \bar{n}_3 satisface $k\bar{N} = \omega \left(\frac{K}{K+n_3} \right)^m$. En la referencia original del modelo de expresión de genes (Viel, Jadot, & Bastin, 1997), es mostrado que alrededor de un equilibrio $\bar{x} \in \Omega$ existe un atractor oscilatorio.

7.3. MODELO DE HIDRÓLISIS DE CARBOXIMETILCELULOSA EN UN QUIMIOSTATO

La producción de bioetanol a partir de los hidrolizados de celulosa es una prometedora alternativa como fuente de energía. La hidrólisis de la celulosa de forma biológica solamente la pueden llevar a cabo un pequeño porcentaje de todos los microorganismos en la Tierra, principalmente bacterias (*Cellulomonas* sp., *Clostridium cellulovorans*, *Clostridium cellulolyticum*, *Clostridium thermocellum*, *Caldicellulosiruptor bescii*) y hongos (*Phanerochaete chrysosporium*, *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger* y *Talaromyces emersonii*) (Yang, El Enshasy, & Thongchul). Con respecto al modelamiento de microorganismos celulolíticos se tienen pocos trabajos reportados. (Agarwal, Mahanty, & Dasu, 2009), calcularon los parámetros cinéticos de la hidrólisis de la carboximetilcelulosa por *Cellulomonas cellulans* en un biorreactor en lote. Los parámetros fueron calculados para diferentes modelos de crecimiento (Moser, Haldane, Luong, Hans-Levenspiel y Aiba). El modelo reportado por (Agarwal et al., 2009) fue tomado para este



trabajo, modificando los balances de masa del biorreactor por lote reportados originalmente, por balances de masa del biorreactor en continuo para poder analizar los puntos de equilibrio del biorreactor. La modificación del modelo de (Agarwal et al., 2009), además propone darle dinámica al rendimiento celular como una función de la concentración del sustrato:

$$\frac{dS}{dt} = f(s, x) = DS_i - DS - \frac{\mu(S)X}{Y} \quad (7.9).$$

$$\frac{dX}{dt} = g(s, x) = -DX + \mu(S)X \quad (7.10).$$

Donde S_i es la concentración de sustrato en el flujo de alimentación, en este caso carboximetilcelulosa (CMC), (Kg m^{-3}); S es la concentración de sustrato en la mezcla de reacción (Kg m^{-3}); X es la concentración de biomasa (Kg m^{-3}). En esta contribución la velocidad de crecimiento μ , (h^{-1}) es una función $\mu: [0, S_{max}] \rightarrow R$ con las siguientes propiedades: i) μ es una función diferenciable en el dominio $[0, S_{max}]$. ii) $\mu(0) = 0$ y iii) $\mu(S) \leq \bar{\mu}_{max}$, donde μ_{max} es un escalar que indica la cota superior de μ ; D es la tasa de dilución (h^{-1}); Y es el rendimiento celular, ($\text{Kg}_{biomass} \text{Kg}_{CMC}^{-1}$). $S, X, D, Y \in \mathbb{R}^+$. Las condiciones iniciales para las concentraciones de la biomasa y el sustrato son $X_0(t), S_0(t) \geq 0; t \in [0, \infty)$.

Un modelo del rendimiento celular es una función de la concentración de sustrato (S) o producto (P) y debe satisfacer: I. $Y(0) \geq 0$, y $Y'(S) \geq 0, \forall [S_0^+, S^+]$. Los modelos de rendimiento celular representan mínimamente los requerimientos de energía de mantenimiento, crecimiento celular, balances de energía y masa y división celular (Nelson & Sidhu, 2009).

El rendimiento celular fue modelado como una función tipo Gaussiana de la forma:

$$Y(S) = \left(\frac{1}{\alpha(2\pi)^{\frac{1}{2}}} \right) e \left(-\frac{(S-\beta)^2}{2} \alpha^2 \right) \quad (7.11).$$

La ventaja de modelar el rendimiento celular como una función Gaussiana es que esta aproximación es acotada, en comparación con las funciones de rendimiento lineal o exponencial, que tienen la desventaja de que sólo funcionan en un intervalo de operación pequeño. La propuesta de rendimiento se basa en comportamiento de la biomasa y el sustrato en una fermentación en lote con inhibición por sustrato, donde a concentraciones de sustrato debajo de la concentración de sustrato inhibitoria, el rendimiento celular es creciente, mientras que a concentraciones de sustrato superiores a la concentración de sustrato inhibitoria, el rendimiento celular es decreciente.



La función de rendimiento celular Gaussiana es una aproximación realista con un máximo en la concentración de sustrato inhibitoria, que puede ser usada a varias condiciones de operación.

7.4. MODELO DE PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS POR MORTIERELLA ISABELLINA

El biodiesel es producido mayoritariamente a partir de aceites vegetales, en particular, aceite de soya y palma, con la desventaja de que son necesarias largas extensiones de tierra empleadas para la agricultura. Por lo anterior, otras fuentes para la obtención de biodiesel tales como grasas animales y aceites microbianos (algas, hongos y algunas bacterias) están siendo estudiadas, como es el caso de los hongos oleaginosos, capaces de producir triacilgliceroles (TAG); estos acumulan TAG como componentes de reserva arriba de un 70% del peso seco de biomasa bajo condiciones definidas del medio de cultivo, por ejemplo, un medio de cultivo limitado en Nitrógeno induce la acumulación de lípidos en los hongos oleaginosos. Los TAG's sintetizados por hongos oleaginosos tienen una composición (en sus grupos R) y valor energético similares a los obtenidos de aceites de plantas y animales. El aceite producido por hongos es llamado micodiesel, este se produce a partir de fuentes de carbono de bajo costo, es decir, productos de desecho como el bagazo de caña. Los géneros *Yarrowia*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Rhodospodium*, *Cryptococcus* y *Lypomyces* han sido estudiados debido a su capacidad de producir TAG. La limitación por nitrógeno y la fuente de carbono en exceso es la más eficiente condición para la acumulación de lípidos en hongos oleaginosos, por lo tanto la relación carbono/nitrógeno (C/N) en el medio de cultivo es crítica para maximizar la producción de lípidos (Maddalena Rossi, Alberto Amaretti, Stefano Raimondi, & Leonardi, 2011).

A continuación se presenta una adaptación del modelo de producción de lípidos en biorreactor por el hongo oleaginoso *Mortierella isabellina*, reportado por (Economou et al., 2011), la adaptación consiste en plantear los balances de masa para un reactor continuo en lugar del balance de masa original en lote. Este modelo considera inhibición de crecimiento celular debido a una alta concentración de azúcares.

Para biomasa libre de aceites, X

$$\frac{dX}{dt} = -DX + \mu_{SN}X \quad (7.12).$$

Para lípidos, L



$$\frac{dL}{dt} = -DL + q_L X \quad (7.13).$$

Para los azúcares hidrolizados, S

$$\frac{dS}{dt} = D(S_f - S) - \left(\frac{\mu_{SN}}{Y_{XS}} + \frac{q_L}{Y_{LS}} \right) X \quad (7.14).$$

Para el consumo de nitrógeno, N

$$\frac{dN}{dt} = D(N_f - N) - \frac{\mu_{SN}}{Y_{XN}} X \quad (7.15).$$

Velocidad de crecimiento celular, μ_{SN}

$$\mu_{SN}(S, N) = \mu_{SNmax} \frac{S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_{i1}}} \frac{N}{K_N + N} \quad (7.16).$$

Velocidad de producción de lípidos, q_L

$$q_L(S, N) = q_{Lmax} \frac{S}{K_{LS} + S + \frac{S^2}{K_{i2}}} \frac{k_2}{k_2 + N} \quad (7.17).$$



8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. DISEÑO DE LOS OBSERVADORES

8.1.1. Observador robusto a errores de modelado.

Considere una representación general de un modelo no lineal dado por las ecuaciones (8.1)-(8.2) con un término aditivo de error de modelado:

$$\dot{x} = f(x, u) + \Delta f. \quad (8.1).$$

$$y = h(x) = Dx. \quad (8.2).$$

Donde $x \in \mathfrak{R}^n$ es el vector de variables de estado; $u \in \mathfrak{R}^q$ es el vector de entrada de control; $f(\circ): \mathfrak{R}^{n+q} \rightarrow \mathfrak{R}^n$ es una función vectorial no lineal suave, Lipschitz acotada en x y uniformemente acotada en u , Δf es el error de modelado aditivo y $y \in \mathfrak{R}^m$ es el vector de estados medibles.

Propuesta de observador. La propuesta de observador debe satisfacer robustez contra errores de modelado, para alcanzar lo anterior, se tiene lo siguiente:



Proposición 1. Considere a la ecuación (8.3) un observador para el sistema representado por las ecuaciones (8.1)-(8.2):

$$\dot{\hat{x}} = f(\hat{x}, u) + g_1 \left(\operatorname{erf} \left(\frac{\sqrt{\pi}}{2} \epsilon \right) \right) + g_2 \epsilon. \quad (8.3).$$

Donde:

$\epsilon = x - \hat{x}$; *erf* es la llamada función error, la cual es una clase de función sigmoïdal continua. La función error es la distancia (como forma vectorial) entre el estado real y el estimado (error estimado). Una función de tipo sigmoïdal es útil debido a que a cualquier valor de entrada ya sea de signo negativo o positivo, entrega un valor de salida acotado entre -1 y 1. El término proporcional provee estabilidad a la estructura del observador; g_1 , g_2 son las ganancias del observador. La ganancia es definida como un parámetro libre que disminuye el error de estimación en la dinámica del observador.

Usualmente es requerido al menos que $\|\hat{x} - x\| \rightarrow \infty$, tanto $t \rightarrow \infty$.

Análisis de convergencia de la *Proposición 1*.

A continuación se muestra la prueba de convergencia para la *Proposición 1*. La convergencia fue demostrada analizando la dinámica de estimación del error. Relacionando las ecuaciones (8.1) y (8.2) con la ecuación (8.3). Se puede considerar a la estimación de la dinámica del error como:

$$\dot{\epsilon} = f(x, u) - f(\hat{x}, u) + \Delta f - g_1 \left(\operatorname{erf} \left(\frac{\sqrt{\pi}}{2} \epsilon \right) \right) - g_2 \epsilon \quad (8.4).$$

Mediante la desigualdad del triángulo y la de Cauchy-Schwarz se obtiene la siguiente expresión:

$$|\dot{\epsilon}| \leq |f(x, u) - f(\hat{x}, u)| + |\Delta f| - g_1 \left| \operatorname{erf} \left(\frac{\sqrt{\pi}}{2} \epsilon \right) \right| - g_2 |\epsilon|. \quad (8.5).$$

Además, se tomaron en cuenta tres consideraciones para el análisis de convergencia del observador las cuales se enlistan a continuación:

1. El sistema es Lipschitz acotado con respecto a las variables de estado estimadas y uniformemente acotado con respecto a u :

$$|f(x, u) - f(\hat{x}, u)| \leq \mathcal{L}|x - \hat{x}|. \quad (8.6).$$



2. La retroalimentación no lineal de la propuesta del observador satisface las siguientes propiedades:

$$\operatorname{erf}\left(\frac{\sqrt{\pi}}{2}(\infty)\right)=1 \text{ y } \operatorname{erf}\left(\frac{\sqrt{\pi}}{2}(-\infty)\right)=-1. \quad (8.7).$$

$$-1 < \operatorname{erf}\left(\frac{\sqrt{\pi}}{2}\epsilon\right) < 1. \quad (8.8).$$

$$0 < \operatorname{erf}'\left(\frac{\sqrt{\pi}}{2}\epsilon\right) \leq 1 \text{ y } \operatorname{erf}'\left(\frac{\sqrt{\pi}}{2}\epsilon\right)=1 \text{ si } \epsilon=0. \quad (8.9).$$

$$\operatorname{erf}\left(-\frac{\sqrt{\pi}}{2}\epsilon\right)=-\operatorname{erf}\left(\frac{\sqrt{\pi}}{2}\epsilon\right), \text{ por lo tanto, } \operatorname{erf}\left(\frac{\sqrt{\pi}}{2}(0)\right)=0. \quad (8.10).$$

De lo anterior:

$$\left|\operatorname{erf}\left(\frac{\sqrt{\pi}}{2}\epsilon\right)\right| \leq 1. \quad (8.11).$$

3. La incertidumbre del modelo es acotada:

$$|\Delta f| \leq \mathfrak{S}. \quad (8.12).$$

Como resultado:

$$|\dot{\epsilon}| \leq (\mathcal{L} - g_2)|\epsilon| + (\mathfrak{S} - g_1). \quad (8.13)$$

Resolviendo la anterior desigualdad diferencial:

$$|\epsilon| \leq \epsilon_0 \exp((\mathcal{L} - g_2)t) + \mathcal{L}^{-1}(\mathfrak{S} - g_1) \left(1 - \exp((\mathcal{L} - g_2)t)\right). \quad (8.14)$$

Donde se observa que con la adecuada selección de g_2 , la matriz $\mathcal{L} - g_2$ es Hurwitz estable.

Para $t \rightarrow \infty$

$$|\epsilon| \leq \mathcal{L}^{-1}(\mathfrak{S} - g_1). \quad (8.15)$$

La retroalimentación lineal en la estructura del observador provee estabilidad al observador, la ganancia del observador, g_2 , mejora la velocidad de convergencia del error de estimación a la esfera con un radio dado por $(\mathfrak{S} - g_1)$. Finalmente, el error de observación es lo suficientemente pequeño si: $g_1 \sim \mathfrak{S}$.



8.1.2. Observador robusto a ruido en mediciones.

Considere el siguiente sistema no lineal dado por:

$$\dot{x} = f(x) + g(x)u \quad (8.16).$$

$$y = h(x) \quad (8.17).$$

Donde: $x \in \mathbb{R}^n$ denota el vector de estados, tomando valores en X como un distribuidor conectado de dimensión n ; $u \in \mathbb{R}^q$ denota el vector de entradas externas no conocidas, tomando valores en algún subconjunto abierto U , y $y \in \mathbb{R}^m$ denota el vector de salidas medibles tomando valores en algún subconjunto abierto Y . La función f será considerada como C^∞ de sus argumentos, y las funciones de entrada $u^{(o)}$ serán localmente y esencialmente acotadas y medibles en un conjunto U .

Considere la siguiente representación específica del sistema no lineal, ecuaciones(8.16)-(8.17), con salida lineal medible:

$$\dot{x} = Ax + \Psi(x) + (g_0 + \Delta g)u + j(x)d \quad (8.18).$$

$$y = h(x) = Cx \quad (8.19).$$

Donde $x \in \mathbb{R}^n$ es el vector de estados, $\Psi(x) := \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$ es una función no lineal suave, $u \in \mathbb{R}^q$; con $q \leq n$ es la salida de control, $j(x) := \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^m$; con $m \leq n$, g_0 es el coeficiente de la entrada de control, Δg es la incertidumbre aditiva de la entrada de control y $d \in \mathbb{R}^l$; $l \leq n$ es la perturbación de la entrada de control.

Ahora, considerando que $\Psi(x)$, Δg y $j(x)d$ son desconocidos, el siguiente cambio de variable es propuesto:

$$\omega = \Psi(x) + \Delta g u + j(x)d \quad (8.20).$$

Por lo tanto, se obtiene el siguiente sistema extendido:

$$\dot{x} = Ax + g_0 u + \omega \quad (8.21).$$

$$\dot{\omega} = \wp(x, u, d) \quad (8.22).$$

Donde: $\wp := \mathbb{R}^{n+q+l} \rightarrow \mathbb{R}^n$ es un campo vectorial desconocido el cual s satisface la condición de Lipschitz respecto al vector x , p. ej.

$$\|\omega(x, u, d) - \hat{\omega}(\hat{x}, u, d)\| \leq L\|x - \hat{x}\| \quad (8.23).$$



Además considerando que $|\varphi| \leq \Omega < \infty$

Para propósitos de control de sistemas, es necesario estimar el término de incertidumbre ω para hacer realizable el control del mismo, por lo tanto, el siguiente observador de incertidumbres es propuesto:

Proposición 2. El siguiente sistema dinámico es un observador asintótico para el sistema dado por las ecuaciones (8.21)-(8.22):

$$\dot{\hat{x}} = A\hat{x} + g_0 u + \sum_{i=0}^m K_i (y - C\hat{x})^{2i-1} + \int \sum_{i=0}^m K_i (y - C\hat{x})^{2i-1} dt \quad (8.24).$$

Tomando en cuenta las siguientes restricciones:

- ω es observable sobre $\mathbb{R}(y, u)$
- K_i es seleccionado de acuerdo con la siguiente ecuación algebraica de Ricatti, la cual tiene una solución definida simétrica y positive P para algún $\delta > 0$.

$$(L - K_1 C)^T P + P(L - K_1 C) + L^2 P P I + \delta I = 0 \quad (8.25).$$

- K_i es seleccionado tal que $\lambda_{\min}(PK_i C) \geq 0$

Donde una representación alternativa de la propuesta de observador está dada por el siguiente sistema extendido:

$$\dot{\hat{x}} = A\hat{x} + g_0 u + \hat{\omega} + \sum_{i=0}^m K_i (y - C\hat{x})^{2i-1} \quad (8.26).$$

$$\dot{\hat{\omega}} = \sum_{i=0}^m \bar{K}_i (y - C\hat{x})^{2i-1} \quad (8.27).$$

Definiendo el error de estimación como:

$$\xi^T = (\xi_x, \xi_w) \quad (8.28).$$

Donde:

$$\xi_x = x - \hat{x} \quad (8.29).$$

$$\xi_w = \omega - \hat{\omega} \quad (8.30).$$

Por lo tanto, la correspondiente ecuación dinámica del error de estimación es:



$$\dot{\xi}_x = (A - K_1 C)\xi_x - \sum_{i=2}^m K_i (C\xi_x)^{2i-1} + \omega - \hat{\omega} \quad (8.31).$$

$$\dot{\xi}_\omega = \wp - K_1(y - C\hat{x}) - \sum_{i=2}^m K_i (y - C\hat{x})^{2i-1} \quad (8.32).$$

Análisis de convergencia de la *Proposición 2*

Considere las siguientes funciones de Lyapunov candidatas:

$$V = V_1 + V_2 \quad (8.33).$$

$$V_1 = \xi_x^T P \xi_x \quad (8.34).$$

$$V_2 = \frac{1}{2} \xi_\omega^2 \quad (8.35).$$

Donde $0 < P = P^T$

$$\text{Ahora, } \dot{V}_1 = \dot{\xi}_x^T P \xi_x + \xi_x^T P \dot{\xi}_x \quad (8.36).$$

$$\dot{V}_1 = \xi_x^T [(A - K_1 C)^T P + P(A - K_1 C)] \xi_x + 2 \xi_x^T P [\omega - \hat{\omega}] - 2 \sum_{i=2}^m (C\xi_x)^{2i-2} P K_i C \xi_x \quad (8.37).$$

Considere la condición de Lipschitz:

$$2 \xi_x^T P [\omega - \hat{\omega}] \leq L^2 \xi_x^T P P \xi_x + \xi_x^T \xi_x \quad (8.38).$$

Aplicando la desigualdad de Rayleigh y considerando H_3

$$-\xi_x^T P K_i C \xi_x \leq -\lambda_{\min}(P K_i C) \|\xi_x\|^2 \quad (8.39).$$

Por lo tanto:

$$\dot{V}_1 \leq [(A - K_1 C)^T P + P(A - K_1 C) + L^2 P P + I] \xi_x^T - 2 \sum_{i=2}^m (C\xi_x)^{2i-2} \lambda_{\min}(P K_i C) \|\xi_x\|^2 \quad (8.40).$$

$$\dot{V}_1 \leq -\delta \|\xi_x\|^2 - 2 \sum_{i=2}^m (C\xi_x)^{2i-2} \lambda_{\min}(P K_i C) \|\xi_x\|^2 \leq 0 \quad (8.41).$$

Tomando en cuenta que:

$$\sum_{i=2}^m (C\xi_x)^{2i-2} \lambda_{\min}(P K_i C) \|\xi_x\|^2 > 0 \quad (8.42).$$

Además, si el error de estimación de estados permanece lo suficientemente pequeño, entonces



$$\liminf_{\xi_x \rightarrow 0} (\sum_{i=2}^m (C\xi_x)^{2i-2} \lambda_{\min}(PK_iC) \|\xi_x\|^2) = 0 \quad (8.43).$$

y:

$$\dot{V}_1 \leq -\delta \|\xi_x\|^2 \leq 0 \quad (8.44).$$

Ahora:

$$\dot{V}_2 = \xi_\omega \dot{\xi}_\omega = \xi_\omega (\phi - K_1(y - C\hat{x}) - \sum_{i=2}^m K_i(y - C\hat{x})^{2i-1}) \quad (8.45).$$

$$\dot{V}_2 = \xi_\omega \phi - \bar{K}_1 C \xi_\omega^2 - \sum_{i=2}^m \bar{K}_i (C\xi_\omega)^{2i} \quad (8.46).$$

$$\dot{V}_2 \leq \Omega |\xi_\omega| - \bar{K}_1 C |\xi_\omega|^2 - \sum_{i=2}^m \bar{K}_i (C\xi_\omega)^{2i} \quad (8.47).$$

$$\dot{V}_2 \leq -(\bar{K}_1 C |\xi_\omega| - \Omega) |\xi_\omega| - \sum_{i=2}^m \bar{K}_i (C\xi_\omega)^{2i} \leq 0 \quad (8.48).$$

Considerando que: $\sum_{i=2}^m \bar{K}_i (C\xi_\omega)^{2i} > 0$;

y:

$$\liminf_{\xi_\omega \rightarrow 0} (\sum_{i=2}^m \bar{K}_i (C\xi_\omega)^{2i}) = 0 \quad (8.49).$$

Además:

$$\dot{V}_2 = -(\bar{K}_1 C |\xi_\omega| - \Omega) |\xi_\omega| \leq 0 \quad (8.50).$$

Tal que \dot{V}_2 es negativo sobre el conjunto $\{|\xi_\omega| \leq \limsup_{t \rightarrow \infty} \frac{\Omega}{\bar{K}_1}\}$

A partir de lo anterior, se puede concluir que:

$$\dot{V} \leq 0 \quad (8.51).$$

8.1.3. Observador robusto a errores de modelado y ruido en medición.

Un sistema no lineal autónomo implica un espacio de estados con estradas/salidas, el cual puede tomar la siguiente estructura:

$$\dot{x} = f(x, u) + \Delta f$$

$$y = Cx + \eta \quad (8.52).$$



Donde $x \in \mathbb{R}^n$ es el vector de estados; $u \in \mathbb{R}^q$ es el vector de entrada, $y \in \mathbb{R}^m$ es el vector de mediciones continuo y diferenciable, C es la matriz de mediciones, (Δf) son incertidumbres aditivas del modelo y (η) es el ruido de la señal.

Considere las siguientes restricciones:

1. Se considera que el sistema es al menos localmente Lipschitz ($\|f(x, u) - f(\hat{x}, u)\| \leq L\|x - \hat{x}\|$, donde $L > 0$) con respecto a x y acotado con respecto a u .
2. $\|f(x, u)\| \leq g < \infty$. El sistema es gobernado por el principio de conservación de masa.
3. $\|\eta\| \leq \Theta < \infty$. El error causado por mediciones con ruido a la salida está acotado.
4. $\|\Delta f\| \leq F < \infty$. El error de modelado esta también acotado.

Proposición 3. La siguiente estructura matemática es un observador para el sistema representado en la ecuación (8.52):

$$\dot{\hat{x}} = f(\hat{x}, u) + g_1 \xi_n + g_2 \left[\frac{1 - \exp(-\xi_n)}{1 + \exp(-\xi_n)} \right] \quad (8.53).$$

Donde ξ_n es el error de estimación; g_1 y g_2 son parámetros constantes conocidos como las ganancias del observador.

El ξ_n considera un ruido en la señal de salida como sigue:

$$\xi_n = (Cx + \eta) - C\hat{x} = \xi + \eta \quad (8.54).$$

Donde: $\xi = Cx - C\hat{x}$;

Observe que la estructura del observador tiene un término de función sigmoïdal. Puede ser considerado como una entrada con cualquier valor dentro del intervalo de $(-\infty, \infty)$, mientras que los valores de salida son de $[-1, 1]$. La siguiente expresión fue definida a partir de los anteriores argumentos:

$$\left\| g_2 \left(\frac{1 - \exp(-\xi) \exp(-\eta)}{1 + \exp(-\xi) \exp(-\eta)} \right) \right\| \quad (8.55).$$

Por lo tanto, desde que g_2 es una constante:

$$|g_2| \left\| \left(\frac{1 - \mathcal{H} \exp(-\xi)}{1 + \mathcal{H} \exp(-\xi)} \right) \right\| = |g_2| < \infty \quad (8.56).$$



Donde: $\mathcal{H} = \exp(-\eta) < \infty$ y $1 + \mathcal{H}\exp(-\xi) \neq 0$

Análisis de convergencia de la *Proposición 3*

En base a las ecuaciones (8.52) y (8.53), la dinámica del error de estimación queda de la forma:

$$\dot{\xi} = f(x, u) - f(\hat{x}, u) + \Delta f - g_1\eta - g_1(\xi) - g_2 \left(\frac{1 - \exp(-\alpha\xi_n)}{1 + \exp(-\alpha\xi_n)} \right) \quad (8.57).$$

Usando la desigualdad del triángulo y la desigualdad de Cauchy-Schwarz en la expresión anterior, resulta en:

$$\|\dot{\xi}\| \leq \|f(x, u) - f(\hat{x}, u)\| + \|\Delta f\| - g_1\|\eta\| - g_1\|\xi\| - g_2 \left\| \frac{1 - \exp(-\alpha\xi_n)}{1 + \exp(-\alpha\xi_n)} \right\| \quad (8.58).$$

Por consiguiente, aplicando las restricciones 1-4, se obtiene:

$$\|\dot{\xi}\| \leq (L - g_1)\|\xi\| + (F - g_1\Theta - g_2) \quad (8.59).$$

Después de resolver la desigualdad diferencial, se reduce a:

$$\|\xi\| \leq \xi_0 \exp((L - g_1)t) + \frac{(F - g_1\Theta - g_2)}{L - g_1} (1 - \exp((L - g_1)t)) \quad (8.60).$$

Si se considera que la matriz $(L - g_1)$ es Hurwitz estable, seleccionando un adecuado valor para la ganancia g_1 , tenemos:

Para $t \rightarrow \infty$

$$\|\xi\| \leq \frac{F - g_1\Theta - g_2}{L - g_1}. \quad (8.61)$$

Lo anterior nos indica que el error puede ser minimizado lo suficiente con la apropiada selección de los valores de g_1 y g_2 . La ganancia del observador g_1 proporciona estabilidad al sistema, pero incrementa el ruido. Por otro lado, la ganancia g_2 modula el ruido en las mediciones. Por lo tanto, g_1 y g_2 actúan juntos como un compensador para el correspondiente error de modelado.



8.2. ANÁLISIS DINÁMICO DE LOS SISTEMAS DE ESTUDIO

8.2.1. *Análisis de la dinámica de un biorreactor sulfato reductor con y sin recirculación de biomasa*

Se realizó el análisis dinámico de un modelo de biorreactor continuo sulfato reductor, de 3 estados: Sulfato de Sodio (Na_2SO_4); Sulfuro de Hidrógeno (H_2S) y biomasa (X) bajo dos esquemas de operación: biomasa recirculada y sin recircular. La finalidad del análisis dinámico, es encontrar las condiciones que permitan una mayor remoción del Sulfato de Sodio y cuantificar el efecto en el desempeño del biorreactor al recircular una fracción de la biomasa producida.

Las simulaciones se llevaron a cabo a diferentes concentraciones de Na_2SO_4 inicial (1500, 3500, 5200 y 7000 mg/L) con la finalidad de observar el efecto de este parámetro en el comportamiento dinámico del biorreactor y en la velocidad de producción de sulfuros. La figura 4 muestra los diagramas de bifurcación del biorreactor sulfato-reductor con y sin recirculación de biomasa a diferentes concentraciones de alimentación, en donde es posible apreciar que a mayor concentración inicial de sulfato se obtiene una mayor velocidad de producción sulfuros, también se aprecia que existe una única tasa de dilución dentro de todo el intervalo de operación y para cada concentración de Na_2SO_4 inicial, donde la velocidad de producción de sulfuro es máxima, lo anterior ocurre en el biorreactor sulfato-reductor con y sin recirculación de biomasa.

La recirculación de biomasa en el biorreactor aumenta cerca de 10 veces el valor de la máxima tasa de dilución comparado con el biorreactor sin recirculación de biomasa, por consiguiente, la velocidad de producción de sulfuros también aumenta.

Se encontró también que los puntos de equilibrio (estados estacionarios) correspondientes a cada tasa de dilución en el intervalo de operación del biorreactor (con y sin recirculación de biomasa) son todos del tipo nodo estable, es decir, los puntos de equilibrio son robustos a pequeñas perturbaciones, una ventaja respecto a los biorreactores con puntos de equilibrio inestables, que forzosamente necesitan de un sistema de control para operarlos.

Finalmente no se detectó multiplicidad de estados estacionarios, histéresis u oscilaciones en el biorreactor sulfato-reductor.

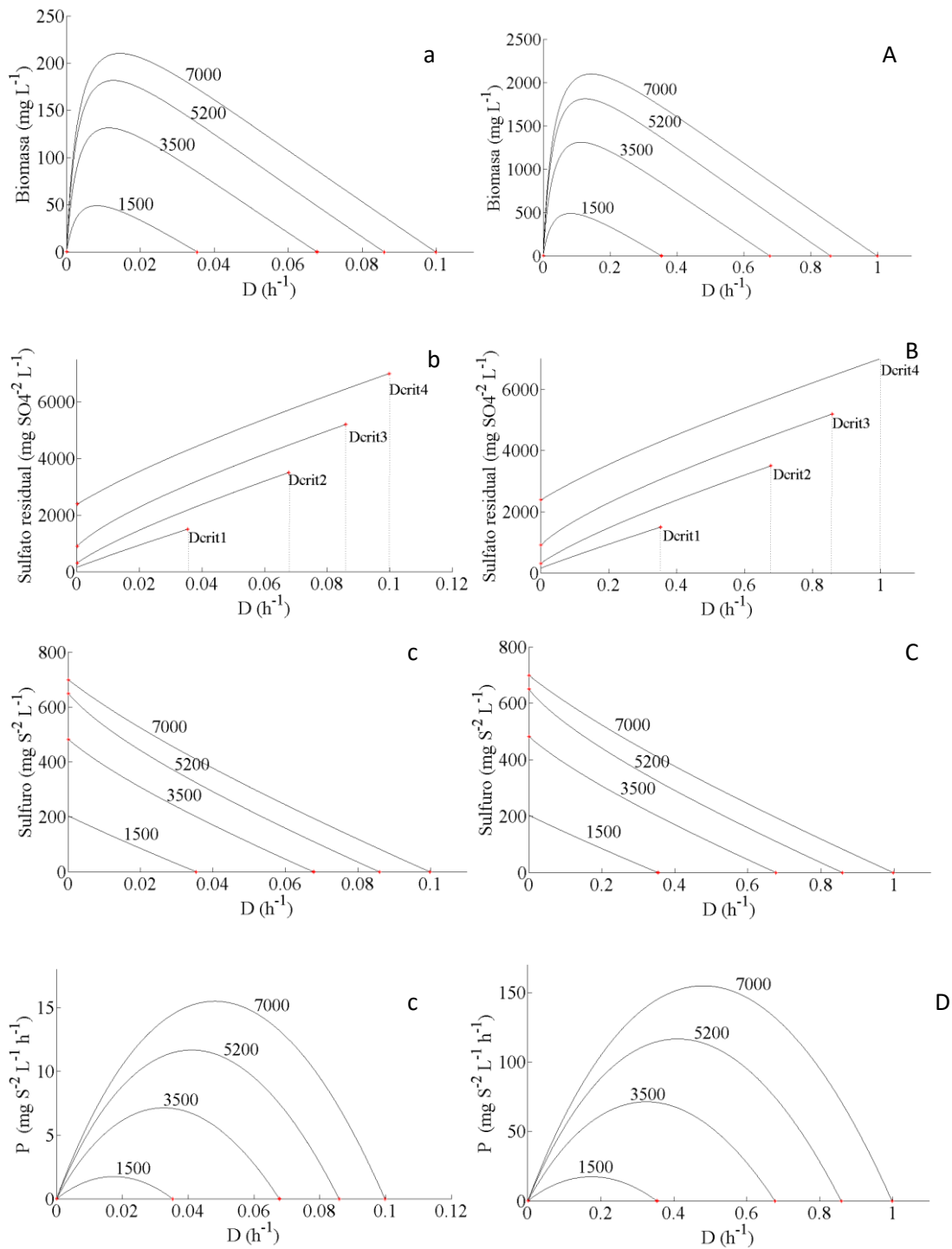


Figura 4. Diagramas de bifurcación de un biorreactor sulfato-reductor con y sin recirculación de biomasa (A-D y a-d, respectivamente). Condiciones iniciales y de operación: Biomasa inicial (X_i)=350 mg L⁻¹; Na₂SO₄ inicial (S_i)=1000 mg L⁻¹; Sulfuro inicial (P_i)=600 mg L⁻¹; α =0.1; C =10)



8.2.2. Análisis del comportamiento dinámico de un biorreactor con un coeficiente de rendimiento no convencional

Se analizó el comportamiento dinámico de la hidrólisis de carboximetilcelulosa por *Cellulomonas cellulans* en un biorreactor continuo, donde la velocidad de crecimiento es descrita por diferentes modelos cinéticos (monotónicos y no-monotónicos). En el análisis se considera que el rendimiento celular puede ser modelado como un valor constante o de forma variable, este último caso, por medio de un modelo no convencional descrito por una función Gaussiana que depende de la concentración de sustrato (Figura 5).

Los parámetros de bifurcación fueron la tasa de dilución y el sustrato de alimentación. Se seleccionaron algunos puntos de equilibrio a partir del análisis de bifurcación con finalidad de ilustrar sus trayectorias y dominios de atracción, a través de la construcción de retratos fase con el programa *pplane8*, un paquete libre de Matlab para el análisis de EDO's.

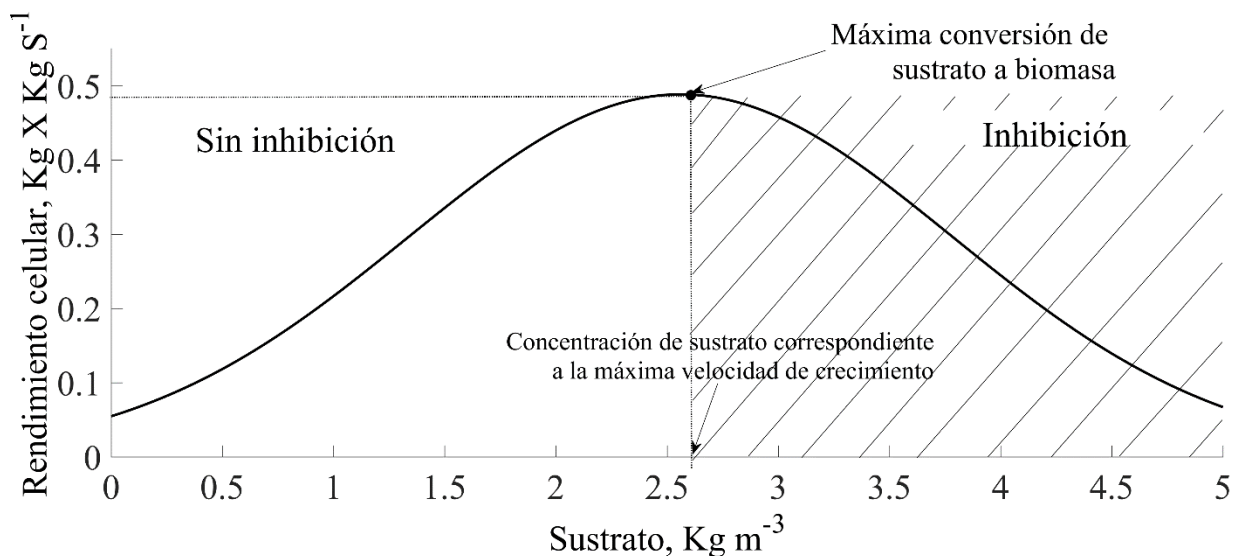


Figura 5. Rendimiento de biomasa no lineal como una función tipo Gaussiana.

Rendimiento celular constante

Los diagramas de bifurcación se construyeron graficando la concentración de biomasa a diferentes velocidades de dilución (parámetro de bifurcación) y para cada uno de los modelos no estructurados y empleando los parámetros cinéticos enlistados en la tabla 2, con la excepción del modelo de Moser, que no predice concentraciones en estado estacionario.



Tabla 2. Modelos de crecimiento no estructurado y los parámetros cinéticos obtenidos por (Agarwal et al., 2009) para la hidrólisis de CMC por *Cellulomonas cellulans* en un biorreactor.

Modelo	Parámetros
Aiba	$\mu_{max} = 0.383, K_s = 3.69, K_i = 6.569$
Andrew	$\mu_{max} = 0.412, K_s = 2.40, K_i = 2.5$
Haldane	$\mu_{max} = 27.52, K_s = 388.3, K_i = 0.0256$
Han-Levenspiel	$\mu_{max} = 0.182, S^* = 388.5, n = 42.27, m = 1202, Km = 544.6$
Luong	$\mu_{max} = 0.385, K_s = 3.7, S^* = 103736, n = 15718$
Moser	$\mu_{max} = 0.108, K_s = 0.0015, n = -2.66$
Gaussiano	$\alpha = 0.817, \beta = 2.561$ para el modelo propuesto

Además, los diagramas de bifurcación fueron construidos tomando en cuenta cuatro diferentes concentraciones del sustrato de alimentación ($S_i = 2, 4, 8$ and 12 Kg m^{-3}). En el trabajo de (Agarwal et al., 2009) es reportado que el rendimiento celular global tiene diferentes valores dependiendo de la concentración del sustrato de alimentación utilizada ($Y = 0.61(S_i=2), 0.36(S_i=4), 0.10(S_i=8)$ and $0.07(S_i=12) \text{ Kg}_{\text{biomasa}} \text{ Kg}_{\text{CMC}}^{-1}$), por lo tanto, los diagramas de bifurcación para cada concentración de sustrato de alimentación se relacionó con el rendimiento celular correspondiente. Las condiciones iniciales para el sustrato (Carboximetilcelulosa, CMC) y la biomasa (S_0, X_0) fueron 0.1 y 1.44 Kg m^{-3} , respectivamente.

En la figura 6 (izquierda) se muestra los diagramas de bifurcación para cada modelo no estructurado, en donde se señalan los puntos de bifurcación detectados, estos son el punto de ramificación 1, BP1 (Branch Point 1); punto de ramificación 2, BP2 (Branch Point 2); y el punto límite, LP (Limit Point), los cuales representan la concentración de biomasa en el cultivo por lote, condición de lavado (solución trivial) y la tasa de dilución máxima de operación, respectivamente. Los puntos de equilibrio de BP1 a LP son nodos estables, mientras que los de LP a BP2 son puntos silla, este último intervalo corresponde a la región de multiplicidad de estados estacionarios.

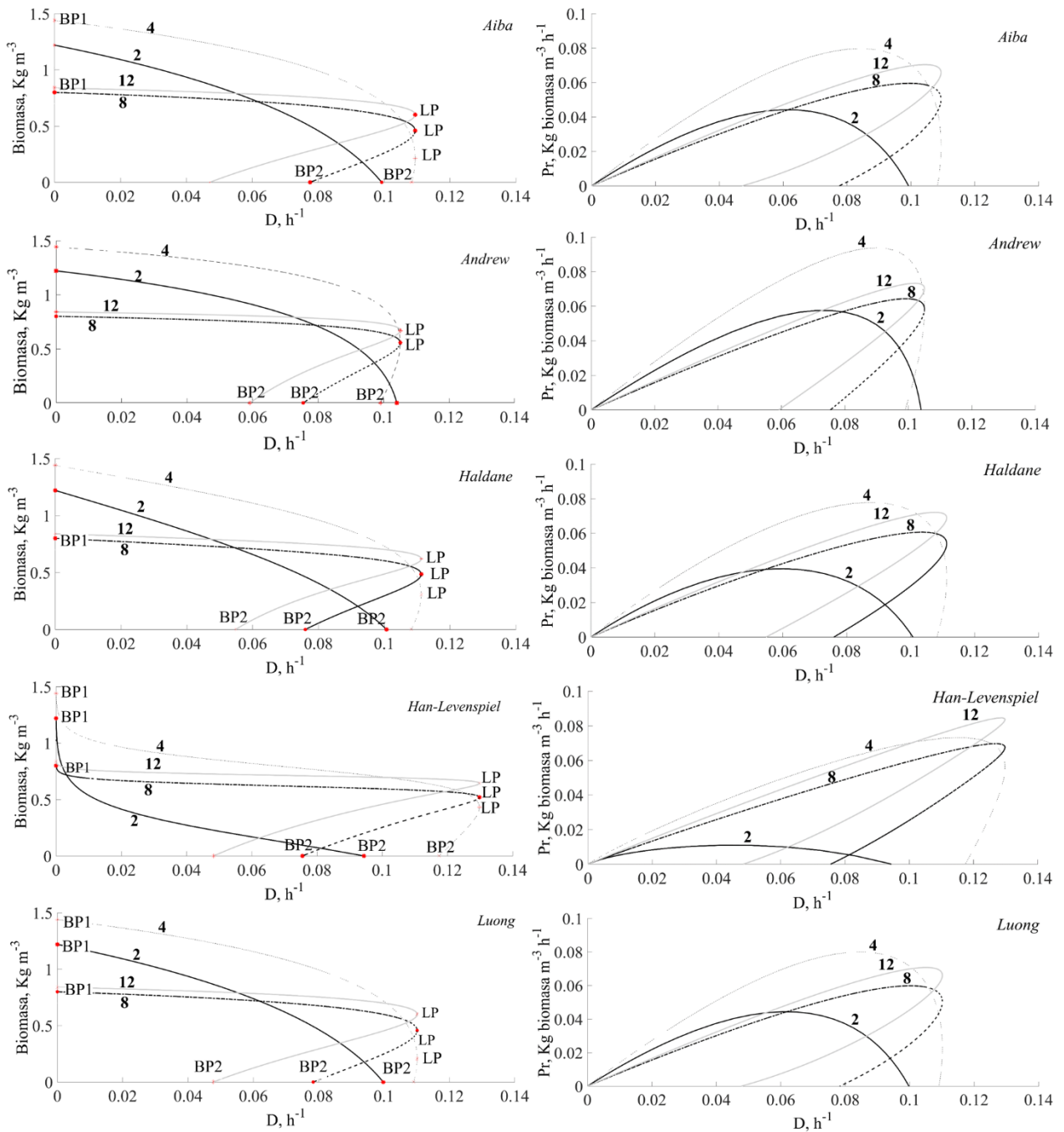


Figura 6. Diagramas de bifurcación (izquierda) y Diagramas de productividad (Pr) (derecha) a S_i , 2, 4, 8 & 12 Kg m^{-3} ; y Y , 0.61, 0.36, 0.10, 0.07 $\text{Kg biomasa KgCMC}^{-1}$ respectivamente, donde BP1 (condición de cultivo por lote), BP2 (condición de lavado) y LP (velocidad de dilución máxima) son señalados.

A partir de una concentración de sustrato de alimentación, $S_i = 4 \text{ Kg m}^{-3}$ hasta los $S_i = 4 \text{ Kg m}^{-3}$, los cinco modelos no estructurados (Aiba, Luong, Haldane, Han-Levenspiel y Andrew) predicen la multiplicidad de estados estacionarios, es decir 2 puntos de equilibrio para la misma tasa de dilución, uno estable coexiste con uno inestable. El intervalo de multiplicidad de estados



estacionarios varía con cada modelo no estructurado. Además de que este intervalo, aumenta con el incremento de S_i .

Por otro lado, al comparar la tasa de dilución máxima de operación (tasa de lavado) predicha por los cinco modelos no estructurados. El modelo de Han-Levenspiel predice que se puede operar el biorreactor un 15 % por arriba de la tasa de lavado predicha por los otros cuatro modelos no estructurados.

La figura 6 (derecha) muestra los diagramas de productividad de biomasa. Para todos los modelos, con excepción del modelo de Han-Levenspiel, la máxima productividad de biomasa ($Pr_m \approx 0.9 \text{ Kg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) fue alcanzada a $S_i = 4 \text{ Kg m}^{-3}$ y con una velocidad de dilución cercana a 0.085 h^{-1} ; en cambio para el modelo de Han-Levenspiel, la misma productividad se alcanza a $S_i = 12 \text{ Kg m}^{-3}$ y una tasa de dilución de 0.127 h^{-1} , la cual es muy cercana a su tasa de lavado ($D = 0.130 \text{ h}^{-1}$). Una segunda condición de operación para el modelo de Levenspiel para alcanzar una productividad de biomasa cercana a la máxima es a $S_i = 4 \text{ Kg m}^{-3}$ y $D = 0.115 \text{ h}^{-1}$, con la ventaja de que a esta condición el biorreactor no se encuentra en el intervalo de multiplicidad de estados estacionarios.

La figura 7 muestra el retrato fase para cada uno de los cinco modelos no estructurados, generado a partir de las condiciones iniciales: $S_o = 8 \text{ Kg m}^{-3}$; $X_o = 1.44 \text{ Kg m}^{-3}$ y $D = 0.09 \text{ h}^{-1}$. En estos retratos fase se pueden apreciar las trayectorias y el dominio de atracción predichos para los cinco modelos no estructurados. Las concentraciones en estado estacionario para biomasa y sustrato, además de los valores propios para el punto de equilibrio nodo estable (solución no trivial) se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Valores propios y puntos de equilibrio obtenidos para cada modelo cinético de crecimiento a las mismas condiciones iniciales. Restricción: rendimiento celular constante.

Modelo cinético no estructurado	R^2	Condiciones iniciales		D (h^{-1})	Punto de equilibrio		Valores propios		Tipo de estabilidad
		S_o [Kg m^{-3}]	X_o [Kg m^{-3}]		S [Kg m^{-3}]	X [Kg m^{-3}]	λ_1	λ_2	
Andrew	0.7450				1.102	0.6897	-0.2134	-0.09	Nodo estable
Luong	0.8215				1.554	0.6445	-0.1748	-0.09	Nodo estable
Han-Levenspiel	0.9393	8	1.44	0.09	1.961	0.6038	-0.7028	-0.09	Nodo estable
Haldane	0.8753				1.603	0.6396	-0.2107	-0.09	Nodo estable
Moser	0.7478				-	-	-	-	No converge
Aiba	0.8412				1.569	0.6430	-0.1706	-0.09	Nodo estable



En los retratos fase se señalan tres puntos de equilibrio, dos de estos son nodos estables, uno de estos es la solución trivial (TS), cuando la biomasa inicial en el biorreactor es cero; el segundo es la solución no trivial (NTS); mientras que el tercer punto es un punto silla (SP) (un punto de equilibrio inestable). Se puede observar que todas las trayectorias por debajo del punto silla convergen al lavado del biorreactor y esas que están arriba del punto silla convergen a un nodo estable. El modelo de Moser es el único entre los estudiados que no predice el NTS para ninguna condición inicial empleada, esto es explicado en la tabla 4, que muestra la primera derivada respecto al sustrato para cada modelo no estructurado, en el caso de la derivada del modelo de Moser, es la única incapaz de tomar valores positivos para cualquier concentración de sustrato.

Resultados similares fueron reportados por (Fu, Ma, & Ruan, 2005), quienes empleando el modelo de inhibición tipo Tissiet y un rendimiento celular constante para un modelo del quimiostato, encontraron analíticamente y por simulación que la estabilidad de todos los posibles puntos de equilibrio solo pueden ser nodos estables o puntos silla.

Tabla 4. Modelos no estructurados en estudio así como su primera derivada con respecto al sustrato (S).

Modelo	Ecuación	Primera derivada del modelo respecto a S
Andrew's	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{(Ks + S)(1 + S/Ki)}$	$\mu' = \mu_{max} \frac{1 - \frac{S}{Ks + S} - \frac{S/Ki}{1 + S/Ki}}{(Ks + S)(1 + S/Ki)}$
Luong's	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{(Ks + S)} \left(1 - \frac{S}{S^*}\right)^n$	$\mu' = \mu_{max} \frac{\left(1 - \frac{S}{S^*}\right)^n \left\{ (Ks + S) \left[1 - \frac{nS}{S^*} \left(1 - \frac{S}{S^*}\right)^{-1}\right] - S \right\}}{(Ks + S)^2}$
Han-Levenspiel	$\mu = \mu_{max} \frac{\left(1 - \frac{S}{Cs}\right)^n S}{S + Kl \left(1 - \frac{S}{Cs}\right)^m}$	$\mu' = \mu_{max} \frac{-\left(\frac{-S - Cs}{Cs}\right)^n \{Kl[(m - n - 1)S + Cs] \left[\frac{-S - Cs}{Cs}\right]^m - nS^2\}}{(S - Cs) \left[Kl \left(\frac{-S - Cs}{Cs}\right)^m + S \right]^2}$
Haldane	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{\left(Ks + S + S^2/Ki\right)}$	$\mu' = \mu_{max} \frac{Ks - S^2/Ki}{\left(Ks + S + S^2/Ki\right)^2}$
Moser	$\mu = \mu_{max} \frac{S^n}{Ks + S^n}$	$\mu' = \mu_{max} \frac{nKsS^n}{S(Ks + S^n)^2}$
Aiba	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{Ks + S} e^{-S/Ki}$	$\mu' = \mu_{max} \frac{\left(1 - \frac{S}{Ki} - \frac{S}{Ks + S}\right) e^{-S/Ki}}{Ks + S}$

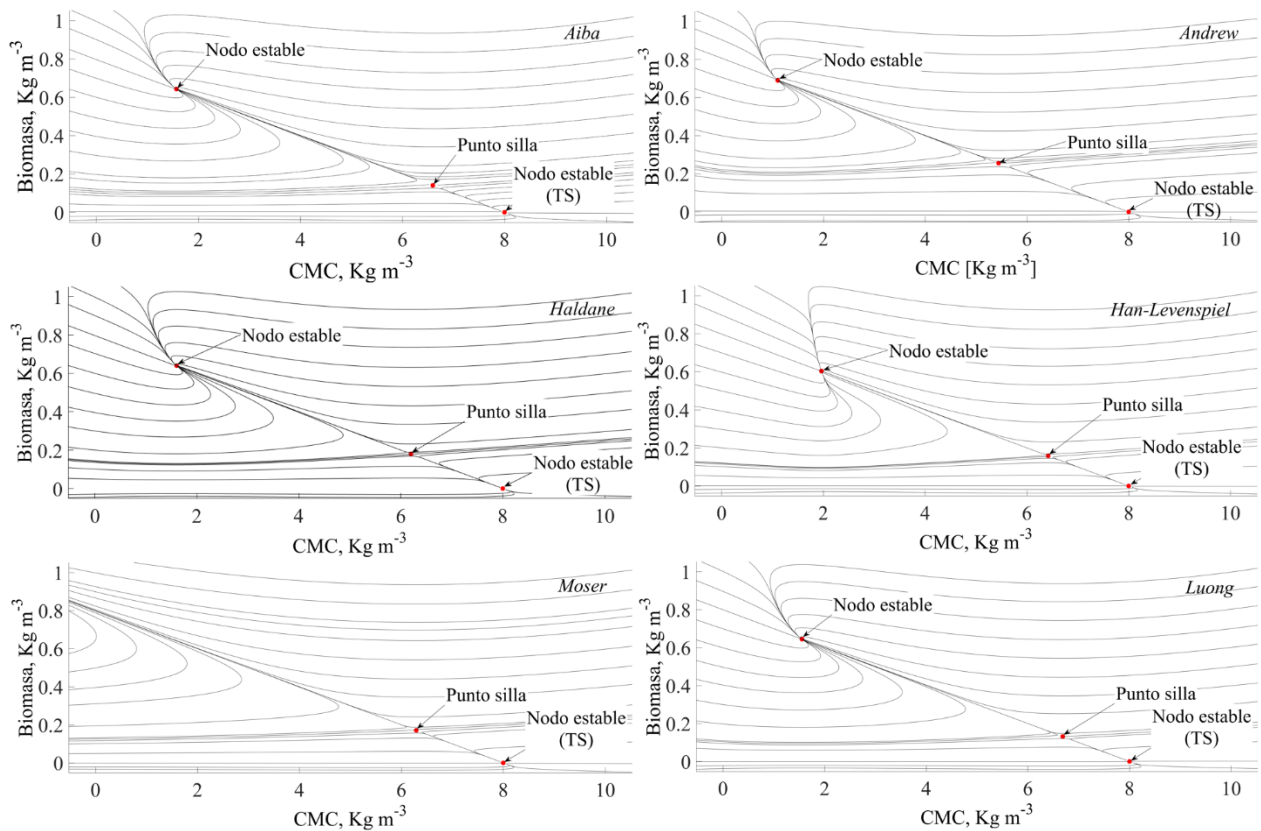


Figura 7. Retrato fase para los modelos de Andrew, Haldane, Han-Levenspiel, Luong, Moser y Aiba; a $D=0.09 \text{ h}^{-1}$; $S_0=8 \text{ Kg m}^{-3}$; $X_0=1.44 \text{ Kg m}^{-3}$ y $Y=0.10 \text{ Kg biomasa KgCMC}^{-1}$.

Rendimiento celular variable

El análisis de bifurcación con el rendimiento celular variable fue llevado a cabo a las mismas condiciones que en el caso del rendimiento celular constante. La figura 8 (izquierda), muestra los brazos de equilibrio para cada uno de los cinco modelos no estructurados. Todos presentan multiplicidad de estados estacionarios como en el caso del rendimiento celular constante, aunque el intervalo de multiplicidad se reduce considerablemente. Se detectaron los siguientes puntos de bifurcación: BP1, BP2 y LP, tal como en el caso del rendimiento celular constante, sin embargo se detectó un punto de bifurcación más, la Bifurcación de Hopf (H), este punto indica la aparición o desaparición de un ciclo límite, es decir, que oscilaciones sostenidas están presentes en la dinámica del biorreactor. Se encontraron un máximo de dos puntos Hopf para el mismo brazo de equilibrio (H1 y H2).

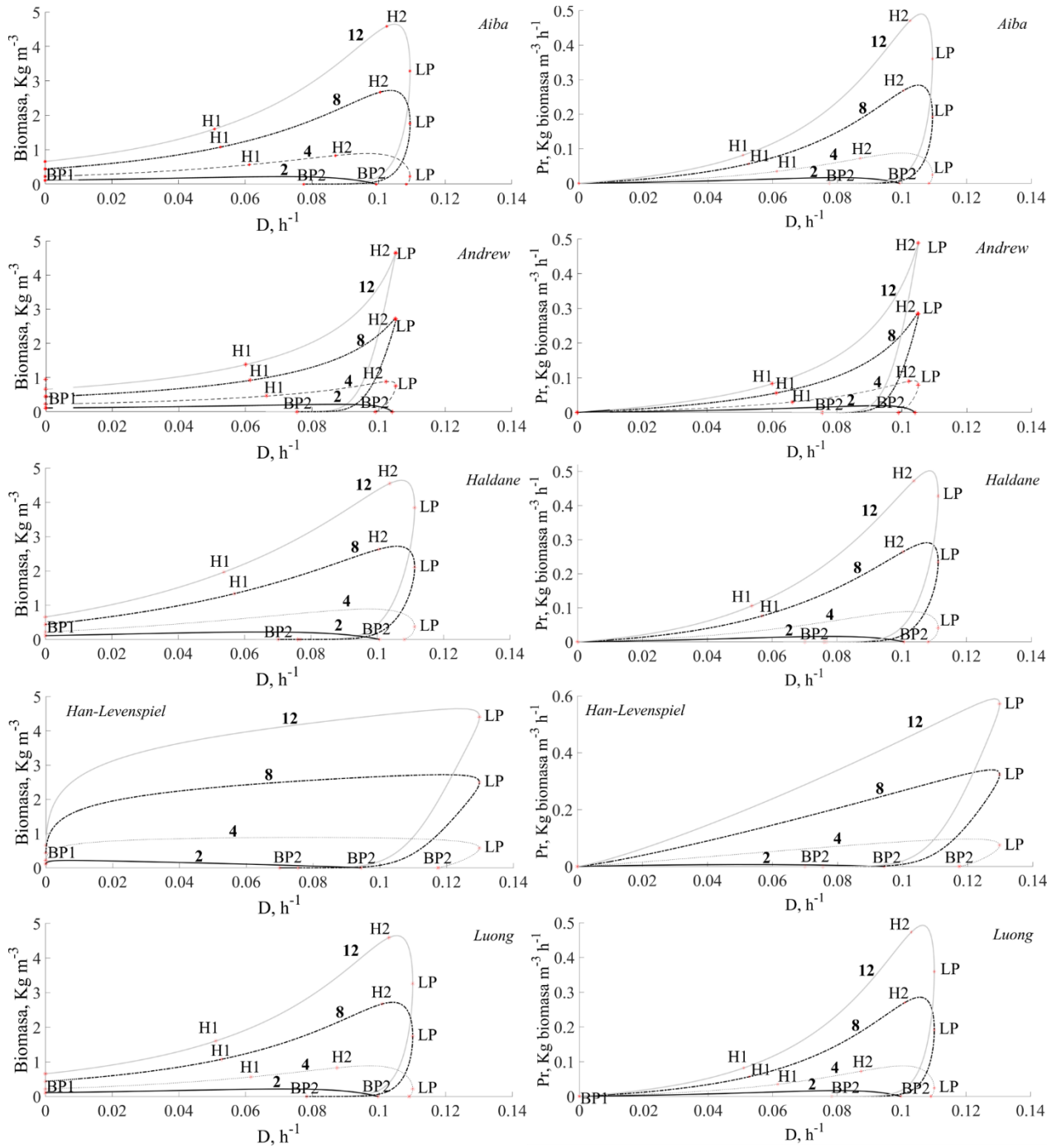


Figura 8. Diagramas de bifurcación (izquierda) a S_i , 2, 4, 8 & 12 Kg m⁻³; y Y como una función tipo Gaussiana (Kg biomasa Kg CMC⁻¹), donde BP1 (condición de cultivo por lote) y BP2 (condición de lavado) y LP (tasa de dilución máxima) fueron señaladas. Los diagramas de productividad (derecha) a las mismas S_i y Y ; para los modelos de Aiba, Luong, Han—Levenspiel, Haldane y Aiba. .



Los retratos fase fueron construidos con las mismas condiciones iniciales con las que se detectó el H1, con el objetivo de mostrar las trayectorias y los dominios de atracción del ciclo límite (Figura 9). Para revelar el intervalo de D donde las oscilaciones existen, se obtuvieron los valores propios de los brazos de equilibrio y su parte imaginaria fue graficada (Figura 10). En la tabla 5, se indica que los números complejos en los valores propios indican un comportamiento oscilatorio (foco estable, foco inestable o punto Hopf).

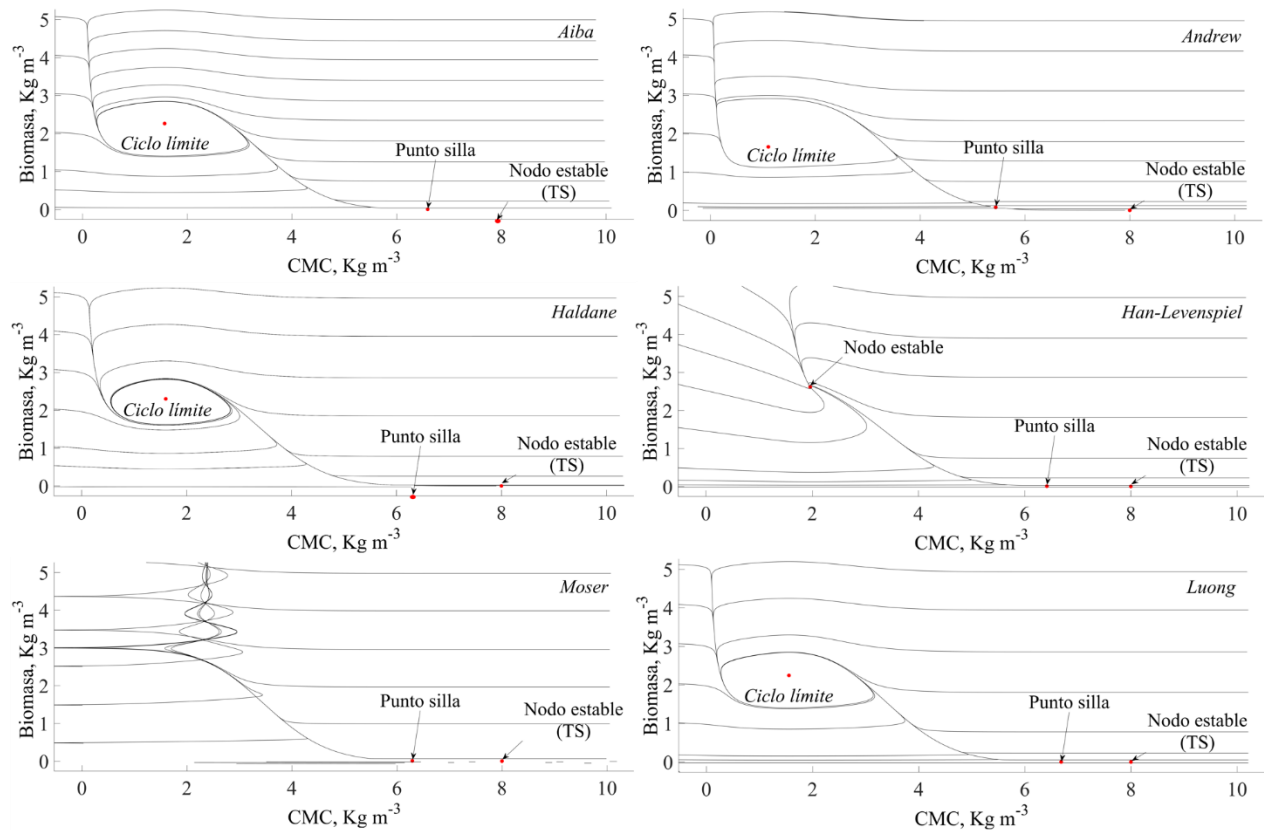


Figura 9. Retrato fase para Andrew, Haldane, Han-Levenspiel, Luong, Moser y Aiba; a $D=0.09 \text{ h}^{-1}$; $S_i=8 \text{ Kg m}^{-3}$; $X_i=1.44 \text{ Kg m}^{-3}$ y Y como una función tipo Gaussiana.

La predicción de las oscilaciones en las concentraciones de biomasa y sustrato son similares entre los modelos de Aiba y Luong, pero muy contrastantes con respecto al modelo de Han-Levenspiel, en donde el intervalo de oscilaciones se reduce fuertemente con el incremento de S_i y la tasa máxima de operación es mayor que en los demás modelos.

Los puntos de bifurcación H1 y H2, sólo fueron predichos con los modelos de: Aiba, Andrew, Haldane y Luong, estos fueron caracterizados a partir de sus coeficientes de Lyapunov; H1 es supercrítico, significando que es estable con pequeñas oscilaciones, además se sitúa fuera del



intervalo de multiplicidad de estados estacionarios. El H2 cae en el intervalo de multiplicidad, este coexiste con un nodo inestable, H2 es subcrítico con oscilaciones de gran amplitud y periodo.

Tabla 5. Puntos de equilibrio y sus valores propios para cada modelo cinético de crecimiento celular. Restricción: Rendimiento celular variable.

Modelo cinético no estructurado	R^2	Condiciones iniciales		D (h^{-1})	Puntos de equilibrio		Valores propios		Tipo de estabilidad
		S_o [Kg m ⁻³]	X_o [Kg m ⁻³]		S [Kg m ⁻³]	X [Kg m ⁻³]	λ_1	λ_2	
Andrew	0.7450				1.102	1.6561	-0.2134	-0.09	Nodo estable
Luong	0.8215				1.554	2.2446	0.06241+	0.06241-	Foco inestable
Han-Levenspiel	0.9393	8	1.44	0.09	1.961	2.6153	-0.42735	-0.14802	Nodo estable
Haldane	0.8753				1.603	2.3006	0.03357+	0.03357-	Foco inestable
Moser	0.7478				-	-	-	-	No converge
Aiba	0.8412				1.569	2.2617	0.06121+	0.06121-	Foco inestable

Se realizó un nuevo análisis de bifurcación tomando en cuenta dos parámetros de bifurcación D y S_i (bifurcación de 2-co-dimension), con la finalidad de obtener más información de la dinámica que ocurre entre H1 y H2, donde el análisis marca la desaparición de los ciclos límite (LPC). La figura 11 muestra la amplitud y periodo de las oscilaciones, además, muestra la familia de ciclos límite (bucle de ciclos límite) existente en el espacio de estados-paramétrico estudiado. Este bucle muestra una región cerrada, donde sólo existen soluciones periódicas inestables, las cuales coexisten con nodos inestables.

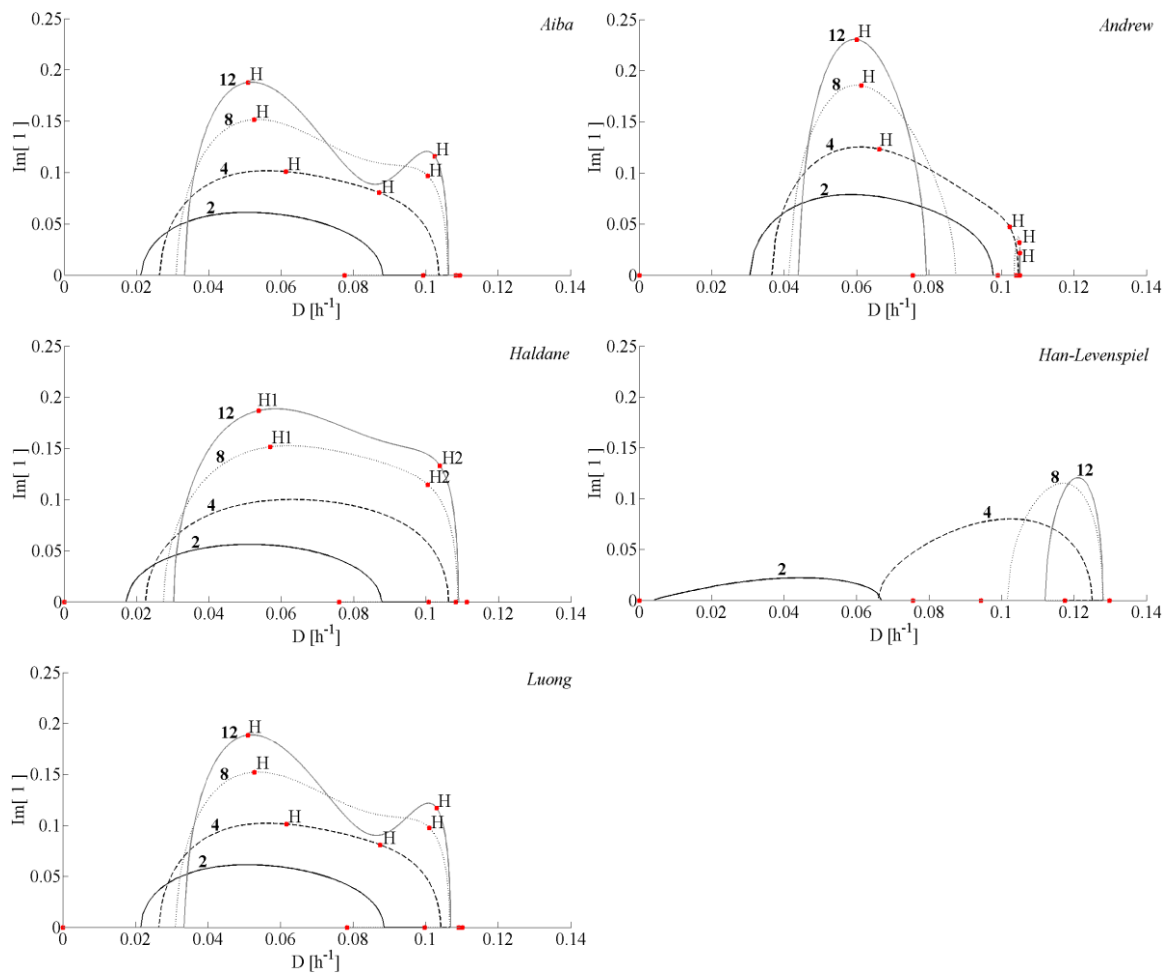


Figura 10. Diagramas de bifurcación a S_i , 2, 4, 8 & 12 Kg m⁻³. donde se muestra la parte imaginaria de los valores propios, la cual indica el intervalo donde el biorreactor tiene un comportamiento oscilatorio. Se señalan únicamente las bifurcaciones de Hopf. El rendimiento celular fue modelado como una función tipo Gaussiana (Kg biomasa Kg CMC⁻¹)

El análisis de bifurcación muestra que el comportamiento dinámico del biorreactor es altamente sensible al modelo de crecimiento utilizado, al rendimiento celular, la tasa de dilución y la concentración del sustrato de alimentación. Los resultados numéricos revelan que esta forma no convencional del coeficiente de rendimiento es capaz de reproducir diversos escenarios dinámicos como bifurcaciones de tipo Hopf y multi-estabilidad en el biorreactor.

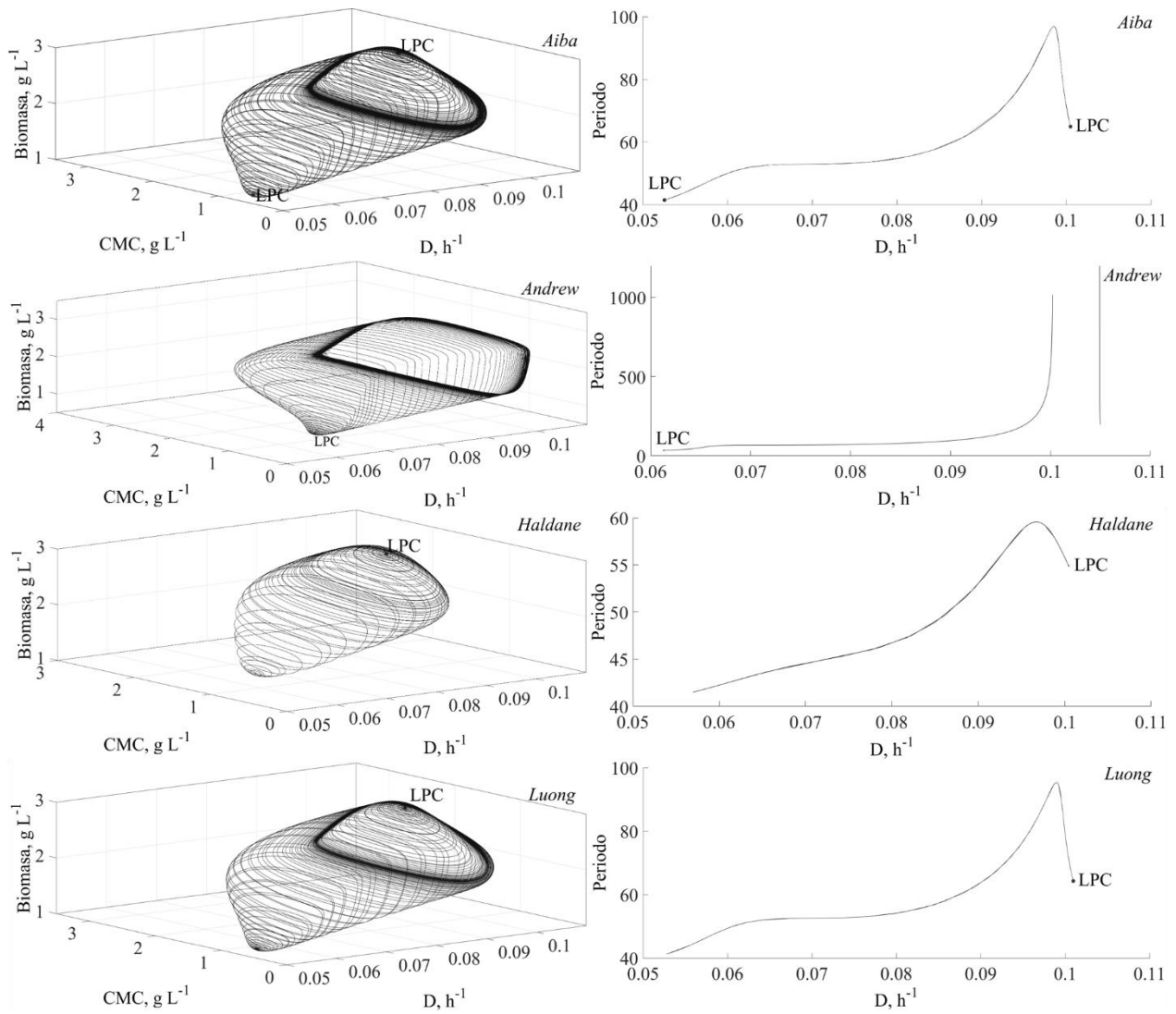


Figura 11. Continuación de la bifurcación de Hopf ($Si=8 \text{ Kg m}^{-3}$). A la izquierda se muestra la amplitud de las oscilaciones para CMC y biomasa; a la derecha, el periodo de las oscilaciones entre dos puntos Hopf.

8.2.3. Análisis de la productividad de micodiesel en un biorreactor de flujo continuo por *Mortierella isabellina*

La producción de biodiesel por el hongo *Mortierella isabellina* en un biorreactor de flujo continuo se estudió *in silico* mediante un análisis de bifurcación, dentro de un intervalo de tasas de dilución y varios cocientes de las fuentes de Carbono/Nitrógeno (C/N). El parámetro de bifurcación fue la tasa de dilución.



Los resultados muestran que la tasa de dilución crítica disminuye al aumentar el cociente C/N utilizado. El biosistema presenta multiplicidad de estados estacionarios, donde a relaciones de 75 y 90 C/N hasta tres puntos de equilibrio coexisten, dos nodos estables y un nodo inestable (Figuras 12-15).

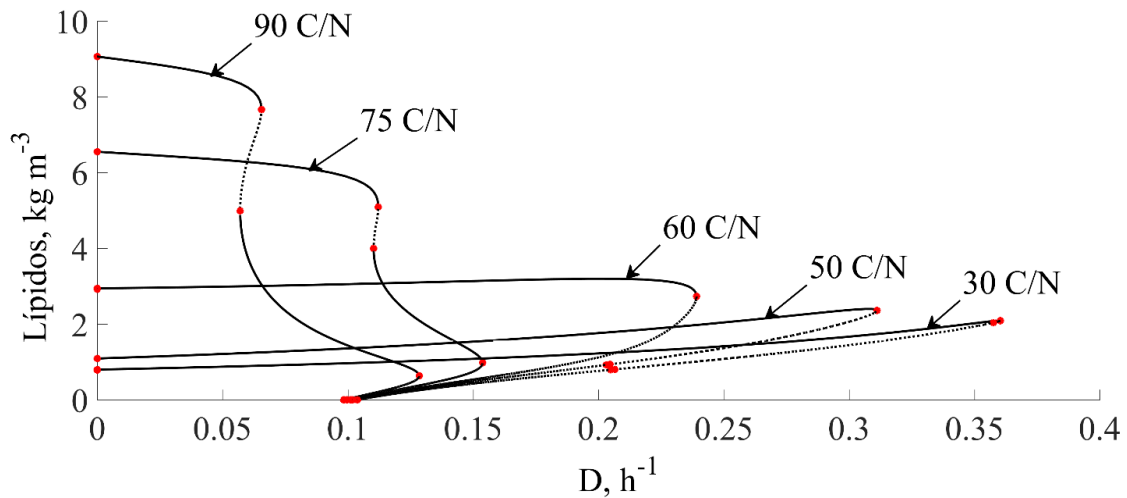


Figura 12. Diagrama de bifurcación del modelo matemático de producción de lípidos en un biorreactor por *Mortierella isabellina* a varias relaciones de Carbono/Nitrógeno (C/N). Puntos de bifurcación: Punto de ramificación (BP); Punto límite (LP); Punto silla (H).

La concentración de lípidos a la salida del biorreactor fue mayor a bajas tasas de dilución para el caso de las relaciones C/N de 75 y 90 (Figura 12). Además, de que operando a bajas tasas de dilución el sustrato y nitrógeno residual son menores (Figura 13 y 14), lo que implica una mayor concentración de biomasa final (Figura 15).

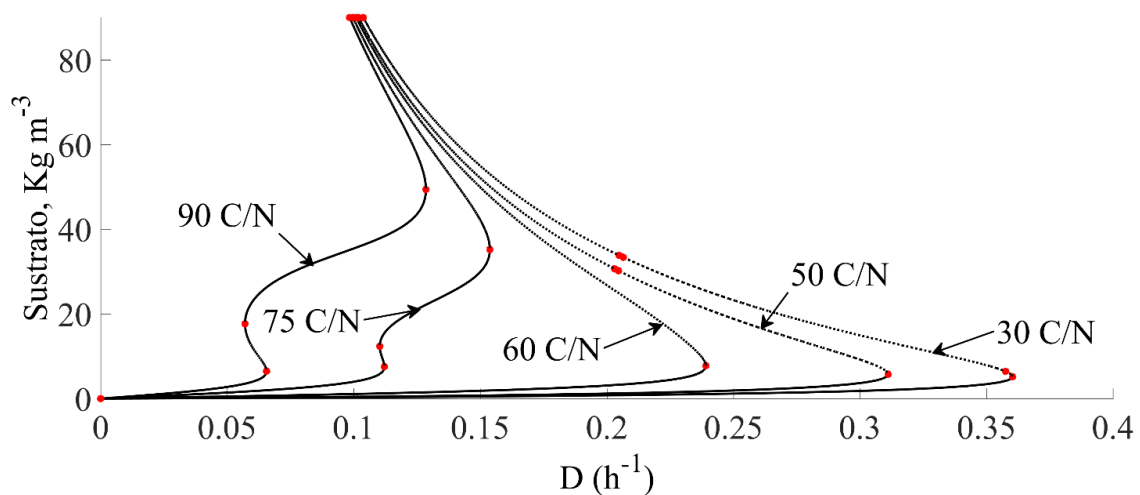


Figura 13. Diagrama de bifurcación del modelo de producción de lípidos por *Mortierella isabellina* a varias relaciones de carbono/nitrógeno (C/N). Variable de respuesta: concentración de sustrato. La tasa de dilución es el parámetro de bifurcación. Puntos de bifurcación: Punto de ramificación (BP); Punto límite (LP); Punto silla (H).

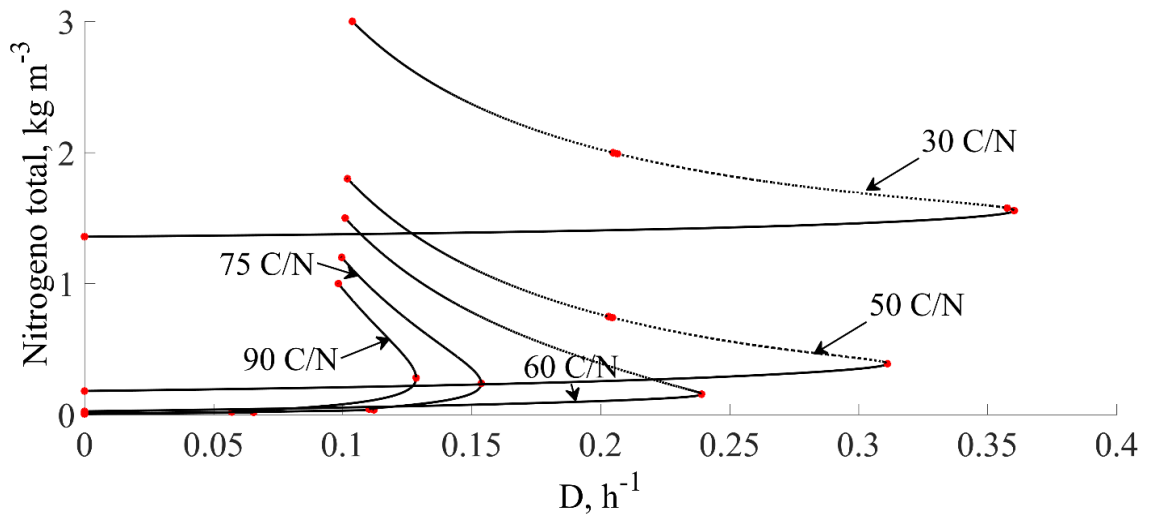


Figura 14. Diagrama de bifurcación del modelo de producción de lípidos por *Mortierella isabellina* a varias relaciones de carbono/nitrógeno (C/N). Variable de respuesta: concentración de Nitrógeno. La tasa de dilución es el parámetro de bifurcación: Punto de ramificación (BP); Punto límite (LP); Punto silla (H).

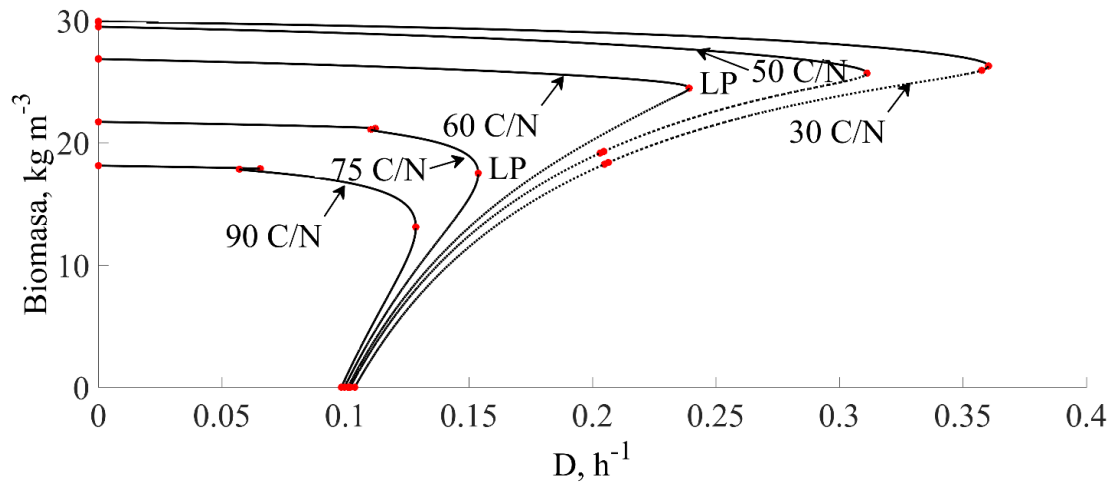


Figura 15. Diagrama de bifurcación del modelo de producción de lípidos por *Mortierella isabellina* a varias relaciones de carbono/nitrógeno (C/N). Variable de respuesta: concentración de biomasa. La tasa de dilución es el parámetro de bifurcación: Punto de ramificación (BP); Punto límite (LP); Punto silla (H).

La productividad máxima presenta valores entre $0.76\text{-}0.52 \text{ kg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (un 25% de diferencia aproximadamente), y esta depende de la tasa de dilución y de la relación C/N (90, 75, 60, 50, 30) (Figura 16).

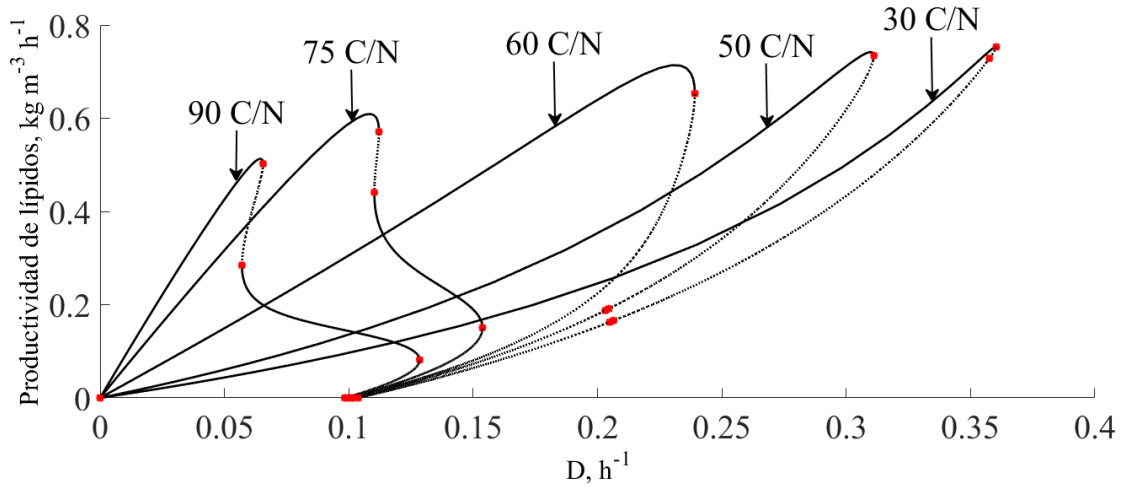


Figura 16. Diagrama de bifurcación del modelo de producción de lípidos por *Mortierella isabellina* a varias relaciones de carbono/nitrógeno (C/N). Variable de respuesta: productividad de lípidos. La tasa de dilución es el parámetro de bifurcación: Punto de ramificación (BP); Punto límite (LP); Punto silla (H).

Con lo anterior se muestra que es posible obtener altas productividades de micodiesel a partir de diferentes valores de la pareja: D-C/N. Con el inconveniente de que en las condiciones donde se encuentran las máximas productividades son zonas de multiplicidad de estados estacionarios, con puntos de equilibrio inestables alrededor del punto de operación estable.

8.3. ANÁLISIS DE OBSERVABILIDAD

8.3.1. Análisis de la observabilidad del modelo sulfato reductor

El modelo sulfato reductor (Ecuaciones (8.66)-(8.69) con $D=0$ y $K_d=0$), fue linealizado para analizar su observabilidad por el criterio de la matriz de observabilidad, la correspondiente matriz Jacobiana se muestra a continuación:

$$J = \begin{bmatrix} -\frac{\partial \mu_X}{\partial S} & -\frac{\mu}{Y_S} & -\frac{\partial \mu_X}{\partial P} \\ \frac{\partial \mu_X}{\partial S} & \mu & \frac{\partial \mu_X}{\partial P} \\ \frac{\partial \mu_X}{\partial S} & \frac{\mu}{Y_P} & \frac{\partial \mu_X}{\partial P} \end{bmatrix}. \quad (8.62).$$



Ahora, si se considera la concentración de sulfato como salida medible, ($\Omega=[1 \ 0 \ 0]$), la matriz de observabilidad generada es la siguiente:

$$\Psi = \begin{bmatrix} 1, & 0, & 0 \\ -\frac{\frac{\partial \mu}{\partial S} X}{Y_S}, & -\frac{\mu}{Y_S}, & -\frac{\frac{\partial \mu}{\partial P} X}{Y_S} \\ \left(\frac{\frac{\partial \mu}{\partial S} X}{Y_S}\right)^2 - \frac{\mu \frac{\partial \mu}{\partial S} X}{Y_S} - \frac{\frac{\partial \mu}{\partial P} \frac{\partial \mu}{\partial S} X^2}{Y_S Y_P}, & \frac{\mu \frac{\partial \mu}{\partial S} X}{Y_S^2} - \frac{\mu^2}{Y_S} - \frac{\frac{\partial \mu}{\partial P} \mu X}{Y_S Y_P}, & \frac{\frac{\partial \mu}{\partial P} \frac{\partial \mu}{\partial S} X^2}{Y_S^2} - \frac{\left(\frac{\partial \mu}{\partial P}\right)^2 X^2}{Y_S Y_P} - \frac{\mu \frac{\partial \mu}{\partial P} X}{Y_S} \end{bmatrix}. \quad (8.63).$$

La matriz Ψ no es de rango completo ($\det(\Psi) = 0$) por lo tanto, de acuerdo al Teorema 4, El modelo sulfato reductor (SR) no es observable, pero es detectable, ya que los estados no observables son estables (ver simulaciones). Para satisfacer que el sistema (SR) sea observable considerando al sulfato como salida medible, sería necesario que se cumpliera la siguiente restricción:

$$\Psi(2,2) \cdot \Psi(3,3) \neq \Psi(2,3) \cdot \Psi(3,2). \quad (8.64).$$

Lo anterior es directamente dependiente de la estructura del modelo. Modificaciones al modelo SR, tales como rendimiento celular variable o término de muerte celular satisfacen la ecuación (8.84), implicando que el sistema sea observable (datos no mostrados). También se analizó la observabilidad tomando como estado medible la biomasa ($\Omega=[0 \ 1 \ 0]$); el sulfito ($\Omega=[0 \ 0 \ 1]$); sulfato y sulfito ($\Omega=[1 \ 0 \ 1]$) y sulfato y biomasa ($\Omega=[1 \ 1 \ 0]$). Para todos los casos anteriores, el sistema no es observable $\text{Rank}(\Psi) = 2$ (datos no mostrados).

8.3.2. Análisis de la observabilidad del modelo de transcripción de genes.

El análisis de observabilidad para el modelo de expresión de genes se realizó por dos métodos, el rango de la matriz de observabilidad y la prueba algebraico-diferencial, las cuales se presentan a continuación:

Rango de la matriz de observabilidad

Debido a la no linealidad del modelo de expresión de genes, una transformación del modelo a su forma lineal (La matriz Jacobiana) es necesaria para el análisis de observabilidad local. La Jacobiana (J) del modelo de genes es:



$$J = \begin{bmatrix} -k, & 0, & 0, & -\frac{Kmw\left(\frac{K}{K+n_3}\right)^{m-1}}{(K+n_3)^2} \\ v, & -k_1 - k_{12}, & 0, & 0 \\ 0, & k_{12}, & -k_{23}, & 0 \\ 0, & 0, & k_{23}, & -k_3 \end{bmatrix} \quad (8.65).$$

La matriz Jacobiana es de rango completo. El mRNA es considerado la salida medible ($C=[1 \ 0 \ 0 \ 0]$). Lo anterior es en base a que es posible medir el mRNA por RT-PCR. La matriz de observabilidad (M) se muestra a continuación:

$$M = [\]_{m \times n} \quad (8.66).$$

Donde:

$$M_{1,1} = 1$$

$$M_{1,2} = 0$$

$$M_{1,3} = 0$$

$$M_{1,4} = 0$$

$$M_{2,1} = -k$$

$$M_{2,2} = 0$$

$$M_{2,3} = 0$$

$$M_{2,4} = -\frac{Kmw\left(\frac{K}{K+n_3}\right)^{m-1}}{(K+n_3)^2}$$

$$M_{3,1} = k^2$$

$$M_{3,2} = 0$$

$$M_{3,3} = -\frac{Kk_{23}mw\left(\frac{K}{K+n_3}\right)^{m-1}}{(K+n_3)^2}$$



$$M_{3,4} = \frac{Kkmw \left(\frac{K}{K+n_3}\right)^{m-1}}{(K+n_3)^2} + \frac{Kk_3mw \left(\frac{K}{K+n_3}\right)^{m-1}}{(K+n_3)^2}$$

$$M_{4,1} = -k^3$$

$$M_{4,2} = -\frac{Kk_{12}k_{23}mw \left(\frac{K}{K+n_3}\right)^{m-1}}{(K+n_3)^2}$$

$$M_{4,3} = \frac{Kmw \left(\frac{K}{K+n_3}\right)^{m-1} (k_{23}^2 + k_3k_{23})}{(K+n_3)^2} + \frac{Kk_{23}mw \left(\frac{K}{K+n_3}\right)^{m-1}}{(K+n_3)^2}$$

$$M_{4,4} = -k \left(\frac{Kkmw \left(\frac{K}{K+n_3}\right)^{m-1}}{(K+n_3)^2} + \frac{Kk_3mw \left(\frac{K}{K+n_3}\right)^{m-1}}{(K+n_3)^2} \right) - \frac{Kk_3^2mw \left(\frac{K}{K+n_3}\right)^{m-1}}{(K+n_3)^2}$$

La matriz Jacobiana es de rango completo. El mRNA es considerado la salida medible ($C=[1 \ 0 \ 0 \ 0]$).

Para determinar las condiciones de invertibilidad de M , se calculó su determinante ($Det(M)$). El cual mostró dependencia por algunos de los parámetros cinéticos y la proteína represora (n_3):

$$Det(M) = \frac{K^3 k_{12} k_{23}^2 m^3 w^3 \left(\frac{K}{K+n_3}\right)^{3m-3}}{(K+n_3)^6} \quad (8.67).$$

Los límites $Det(M)$ de fueron estimados para obtener las condiciones de singularidad de M . El límite inferior es:

$$\lim_{n_3 \rightarrow 0} \frac{K^3 \Xi \left(\frac{K}{K+n_3}\right)^{3m-3}}{(K+n_3)^6} = \frac{\Xi}{K^3} \quad (8.68).$$

$$\text{Donde } \Xi = k_{12} k_{23}^2 m^3 w^3$$

El límite superior, usando la regla de L'Hôpital es:

$$\lim_{n_3 \rightarrow \infty} \frac{K^3 \Xi \left(\frac{K}{K+n_3}\right)^{3m-3}}{(K+n_3)^6} = 0 \quad (8.69).$$



A partir de las ecuaciones (8.67) y (8.68), se observa que el determinante existe, y que este es positivo para cualquier concentración mayor a cero, por lo tanto, *el sistema es observable*.

El análisis de observabilidad local considerando la mezcla de las tres proteínas como salida medible $C = [0 \ 1 \ 1 \ 1]$, indica que el sistema también es observable (datos no mostrados).

Observabilidad por el método algebraico-diferencial.

Para satisfacer el Teorema 5, de la sección 2.3, es necesario expresar cada variable de estado en términos de las salidas medibles y un conjunto finito de sus derivadas respecto al tiempo.

Tomando en cuenta que la salida medible es la concentración del mRNA (N), la siguiente relación algebraica puede ser escrita:

$$N = y \tag{8.70}.$$

Entonces, tomando la ecuación (7.5) y sustituyendo en la ecuación (8.70):

$$n_3 = \frac{K}{\left(\frac{y'+ky}{w}\right)^{\frac{1}{m}}} - K \tag{8.71}.$$

Reemplazando en (8.71) y su derivada en la ecuación (7.7) se obtiene:

$$n_2 = - \frac{k_3 \left(K - \frac{K}{\left(\frac{y'+ky}{w}\right)^{\frac{1}{m}}} \right) + \frac{K(k+y'')}{mw \left(\frac{y'+ky}{w}\right)^{\frac{1}{m}+1}}}{k_{23}} \tag{8.72}.$$

Finalmente sustituyendo la ecuación (8.72) y su derivada en la ecuación (7.8):

$$n_1 = - \frac{k_3 \left(K - \frac{K}{\left(\frac{y'+ky}{w}\right)^{\frac{1}{m}}} \right) + \frac{K(k+y'')}{mw \left(\frac{y'+ky}{w}\right)^{\frac{1}{m}+1}} + \frac{\frac{Ky'''}{mw \left(\frac{y'+ky}{w}\right)^{\frac{1}{m}+1}} - \frac{K\left(\frac{1}{m}+1\right)(y''+k)^2}{mw^2 \left(\frac{y'+ky}{w}\right)^{\frac{1}{m}+2}}}{k_{23}}}{k_{12}} \tag{8.73}.$$

Nótese que las ecuaciones (8.70)-(8.73) son un conjunto de ecuaciones diferenciales algebraicas, donde los balances de masa para el mRNA y las tres proteínas están expresados respecto a la salida medible o sus derivadas $y, y', y'', y''', \dots, y^{n-1}$. Además, a partir del Teorema 5, se puede concluir



que el sistema es algebraicamente observable. Este resultado concuerda con lo obtenido por el método de la matriz de observabilidad.

8.3.3. Análisis de la observabilidad del modelo de hidrólisis de carboximetilcelulosa en un quimiostato.

Se realizó el análisis de observabilidad por el método del rango de la matriz de observabilidad, por lo cual se linealizó el modelo del quimiostato como se muestra a continuación:

$$J = \begin{bmatrix} -D - \frac{x(Y_{xs}(S)\mu(S)' - Y_{xs}(S)'\mu(S))}{Y_{xs}(S)^2}, & -\frac{\mu(S)}{Y_{xs}(S)} \\ \mu(S)'x & \mu(S) - D \end{bmatrix} \quad (8.74).$$

Donde:

$$\mu(S)' = \mu_{max} \frac{\left(1 - \frac{S}{K_i} - \frac{S}{K_{s+S}}\right) e^{-S/K_i}}{K_{s+S}} \quad (8.75).$$

$$Y_{xs}(S)' = \frac{b}{e^{-bS}(a + e^{-bS})^2} \quad (8.76).$$

Las ecuaciones (8.75) y (8.76) representan la primera derivada respecto al sustrato para el modelo de crecimiento y para el modelo del rendimiento celular, respectivamente.

Considerando a la CMC como salida medible (C):

$$C^T = \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \end{bmatrix},$$

La matriz de observabilidad (Obs) se muestra en la ecuación (8.77):

$$Obs = \begin{bmatrix} 1, & 0 \\ -D - \frac{x(Y(S)\mu(S)' - Y_{xs}(S)'\mu(S))}{Y_{xs}(S)^2}, & -\frac{\mu(S)}{Y_{xs}(S)} \end{bmatrix} \quad (8.77).$$

La matriz de observabilidad es de rango 2, por lo tanto el sistema es observable. El determinante de la matriz de observabilidad se muestra en la ecuación (8.78):

$$Det(Ob) = -\frac{\mu(S)}{Y} \quad (8.78).$$



El determinante muestra que el sistema es observable para cualquier tasa de dilución, excepto la del lavado del reactor.

8.3.4. *Análisis de la observabilidad del modelo de micodiesel: análisis de los valores singulares y número de condición de la matriz de observabilidad.*

El análisis de observabilidad y detectabilidad fue realizado por la matriz de observabilidad y el teorema de Popov-Belevitch-Hautus (PBH), respectivamente. Se analizaron estas dos propiedades a lo largo de todo el intervalo de operación del biorreactor a la condición de 90 C/N, por ser el brazo de equilibrio que presenta las concentraciones de lípidos más altas a la salida del biorreactor. Además es un caso interesante de estudio, debido a que presenta multiplicidad de estados estacionarios de hasta 3 puntos de equilibrio coexistentes. Se consideró a la biomasa (C1) y al sustrato (C2) como las salidas medibles del proceso.

El análisis de observabilidad se realizó analíticamente y numéricamente. Para la condición $D=0$ (lote) y C1, el rango de la matriz fue $O_{ba} = 3$ (analítico) y $O_{be} = 2$ (numérico), mientras que el sistema es de orden 4 ($Myc=4$). El rango de la matriz no cambió al considerarse la salida medible como C1+C2. Por lo anterior el sistema no es completamente observable $O_{ba} < Myc$, sólo se pueden estimar tres de los 4 estados del biorreactor. Para conocer si el estado no medible (concentración de nitrógeno amoniacal) es una variable al menos estable, se realizó el análisis de detectabilidad. Éste mostró un rango de $O_{bd} = 3$, por lo que el biorreactor no es detectable en operación por lote $O_{bd} < Myc$.

El análisis en flujo continuo ($D > 0$) y C1, mostró que el rango de la matriz de observabilidad fue $O_{ca} = 3$ (analíticamente) y $O_{ce} = 3$ (numéricamente), mientras que la detectabilidad fue de $O_{cd} = 4$, lo anterior indica que aunque el sistema no es completamente observable es al menos detectable. Los mismos resultados fueron encontrados para la salida medible: C1+C2.

El análisis de la matriz de observabilidad por su descomposición en valores singulares (SVD) y el número de condición son mostrados en las figuras 17 y 18. Se puede observar que uno de los cuatro valores singulares es cero, a cualquier tasa de dilución, esto corresponde con el estado no observable (nitrógeno amoniacal); además entre el valor singular mayor y el menor para los otros 3 números, hay al menos cuatro órdenes de magnitud de diferencia. Cabe destacar también que a tasas cercanas a la tasa crítica (tasa de dilución de lavado) los valores singulares disminuyen



drásticamente, siendo mayor el efecto en el SVD1, lo anterior implica que el sistema es parcial y débilmente observable.

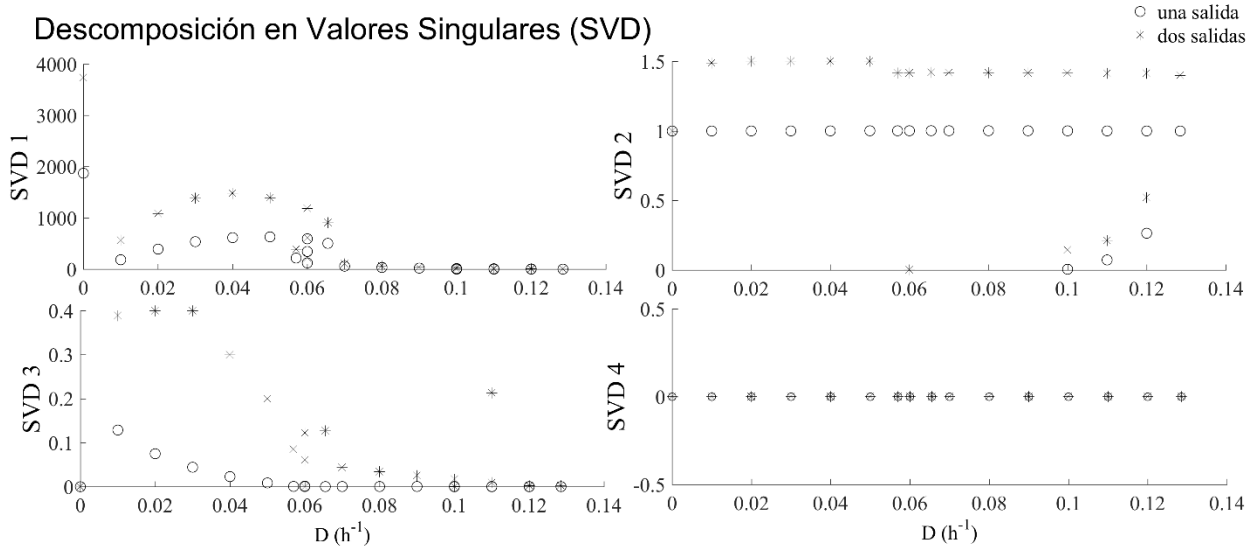


Figura 17. Valores singulares de la matriz de observabilidad, considerando como salida medible la biomasa (C1) y la pareja biomasa + sustrato (C1+C2).

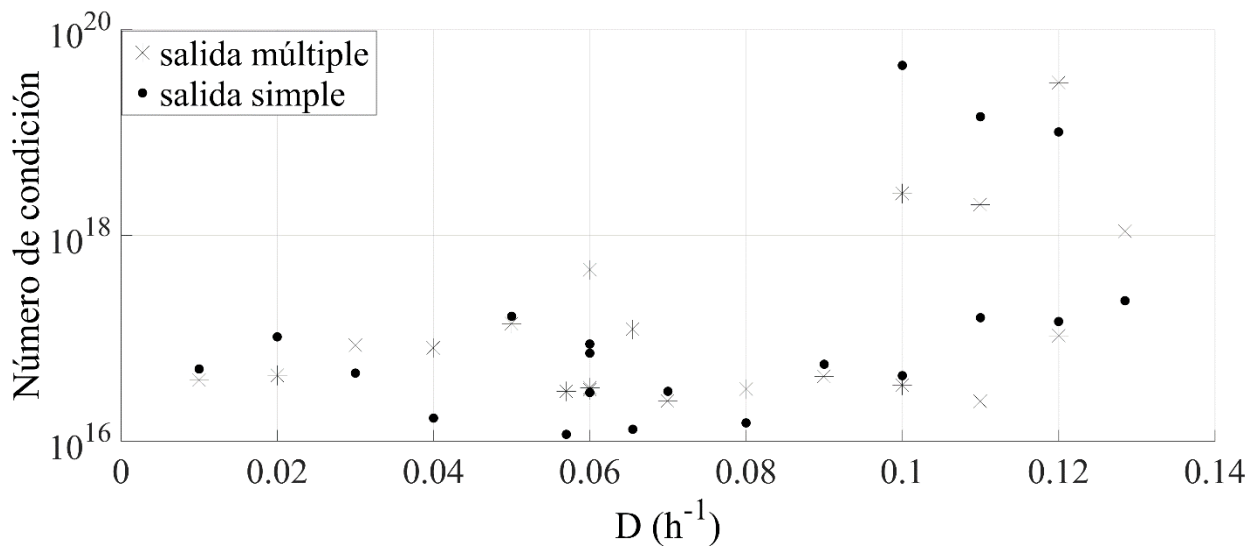


Figura 18. Número de condición de la matriz de observabilidad a diferentes tasas de dilución y para la biomasa como salida medible (C1) o para biomasa-sustrato (C1+C2). Escala logarítmica.



8.4. IMPLEMENTACIÓN DE LOS OBSERVADORES

8.4.1. Diseño de un sensor virtual robusto para la estimación en línea en un biorreactor sulfato reductor

Un observador de estados es aplicado para inferir las concentraciones no medibles (sulfato y biomasa) en un biorreactor sulfato-reductor conteniendo un cultivo de *Desulfovibrio alaskensis* 6SR a partir de las mediciones de la concentración de sulfato. La metodología es aplicada al modelo sulfato-reductor (Sección 7.1.1) considerando incertidumbres de modelado. El diseño del observador propuesto presenta un término proporcional más una función sigmoideal en su estructura. La Observabilidad del modelo fue analizada localmente por la prueba de la matriz de Observabilidad, concluyendo que el biorreactor sulfato reductor es detectable. Se muestra una prueba de la convergencia del observador para mostrar su convergencia asintótica (Sección 8.1.1).

. El desempeño de la propuesta de observador robusto a incertidumbres de modelado fue comparado con el observador de modos deslizantes (SM) y el observador de modos deslizantes de alta ganancia (HOSM).

Las retroalimentaciones (u) de los observadores son las siguientes:

$$u_{SM} = 0.5 \text{sign}(\epsilon) \text{ (Observador de modos deslizantes).}$$

$$u_{HOSM} = 0.5 \text{sign}(\text{abs}(\epsilon)^{1/3}) \text{ (Observador de modos deslizantes de alto orden).}$$

$$u_P = 0.005 \epsilon + 0.0005 \text{erf} \left(\frac{\sqrt{\pi}}{2} \epsilon \right) \text{ (Observador propuesto, robusto a incertidumbres de modelado).}$$

El modelo nominal de la planta empleado por los observadores (ecuaciones (4.63)-(4.66) con $D=0$ y $K_d=0$), considera un error de modelado aditivo del 10 % en la velocidad máxima de crecimiento. Las condiciones iniciales de los observadores fueron: $X_o=0.05 \text{ Kg/m}^3$, $S_o=4.6 \text{ Kg/m}^3$, $P_o=0.005 \text{ Kg/m}^3$. La concentración de sulfato fue considerada como la salida medible..

La figura 19 muestra la dinámica del sulfato, como se espera, todos los observadores convergen con la trayectoria real del sulfato. Con el inconveniente de que los observadores SM y HOSM requieren un mayor tiempo para su convergencia y presentan sobresaltos.

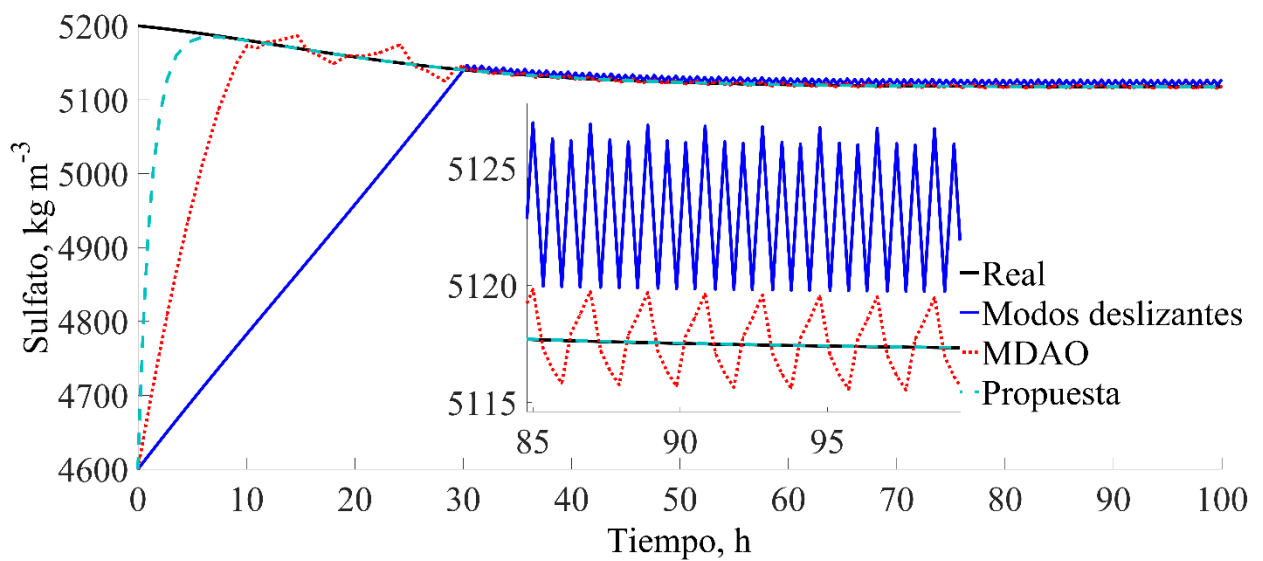


Figura 19. Convergencia de la trayectoria del sulfato estimado con el sulfato medible.

La figura 20 compara el desempeño en la estimación de la biomasa por el observador propuesto con el SM y el HOSM. Todos los observadores convergen, sin embargo el observador propuesto toma un poco más de tiempo en superponerse con la trayectoria real.

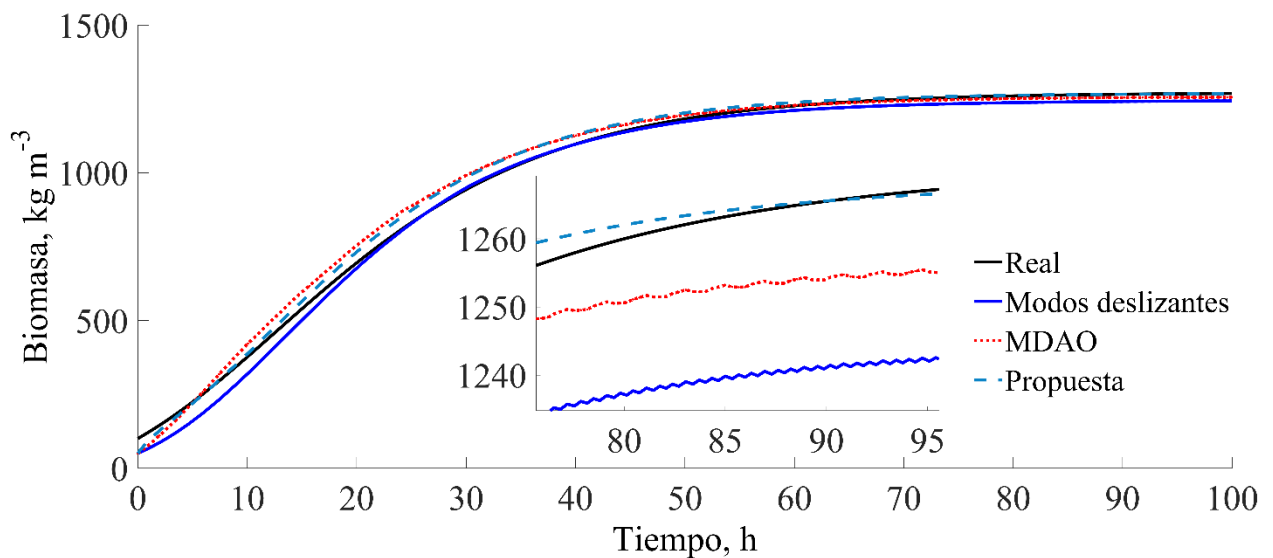


Figura 20. Desempeño del observador propuesto comparado con el observador de modos deslizantes y el observador de modos deslizantes de alto orden (HOSM). Dinámica de la biomasa.



La figura 21 muestra la dinámica de la concentración de sulfito por los tres observadores, a pesar de que este estado no es observable (de acuerdo al análisis local de observabilidad) la trayectoria estimada es estable, por lo tanto la concentración de sulfito es detectable.

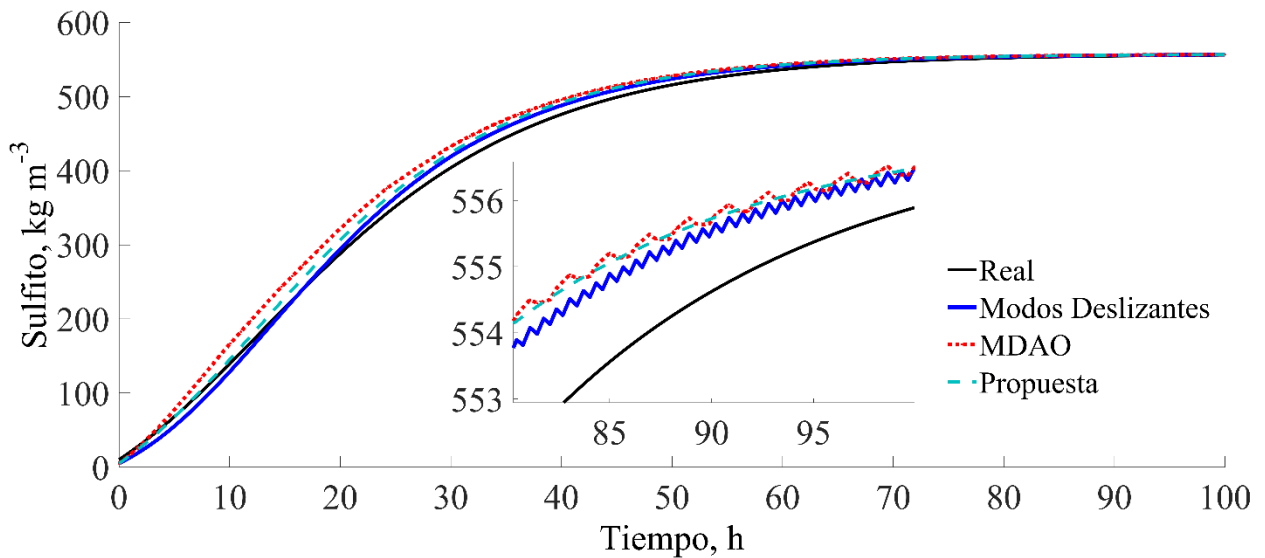


Figura 21. Desempeño del observador propuesto comparado con el observador de modos deslizantes y el observador de modos deslizantes de alto orden (HOSM). Dinámica del sulfuro.

Con los resultados anteriores se construyó una proyección de la estimación de los tres estados, donde la trayectoria del observador propuesto es la más cercana a la trayectoria real del modelo sulfato reductor, resaltando la ausencia de *chattering* (oscilaciones de alta frecuencia) (figura 22).

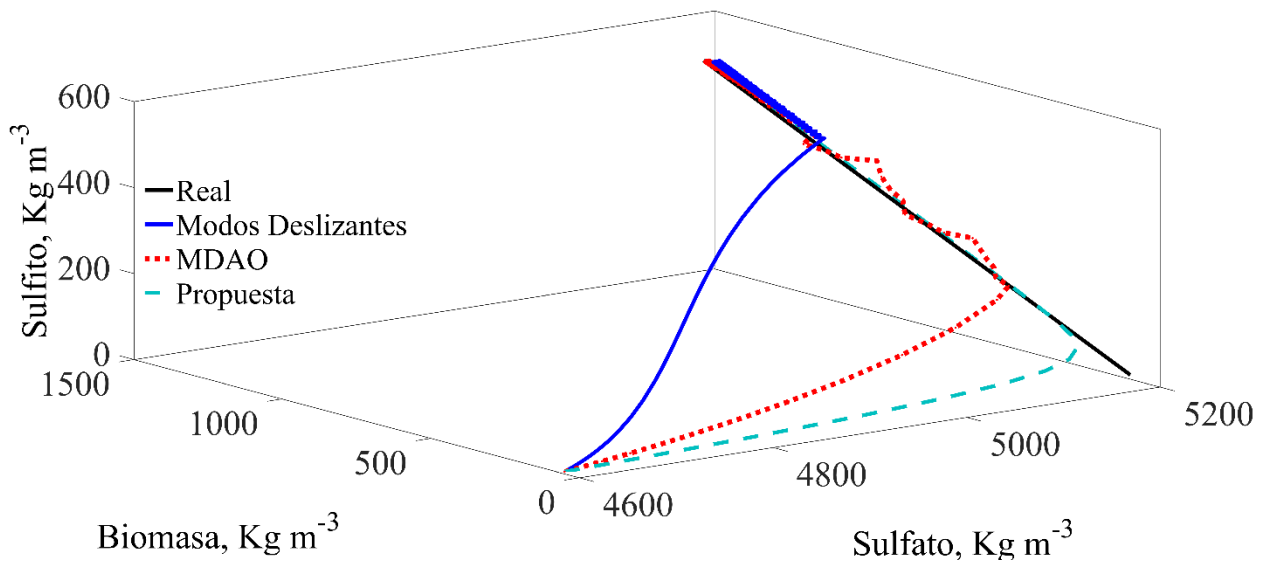


Figura 22. Comparación de las trayectorias estimadas para el observador propuesto, el observador de modos deslizantes y el observador de modos deslizantes de alto orden.



Finalmente la figura 23 muestra la dinámica de la estimación del error para la biomasa y el sulfito, la propuesta de observador presenta un error de estimación menor comparado con el SM y el HOSM.

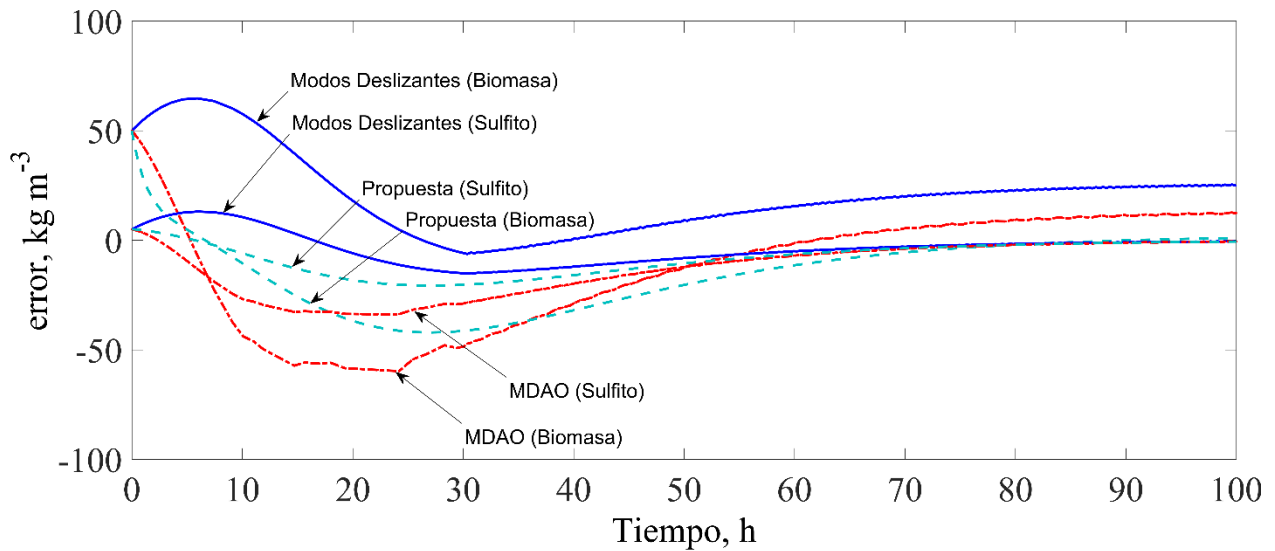


Figura 23. Dinámica de la estimación del error para la biomasa y el sulfuro.

8.4.2. Observador no lineal robusto a incertidumbres de modelado y ruido en medición aplicado a un modelo de transcripción de genes

Un nuevo observador no lineal robusto se diseñó para estimar la síntesis de proteínas a partir de un modelo matemático de transcripción de genes (Sección 4.1.2.2). Este algoritmo aborda el problema actual de la incertidumbre en los parámetros del modelo y el ruido en las salidas medibles mostrando robustez. La convergencia del observador fue demostrada analizando la dinámica del error (Sección 4.1.1.3).

El desempeño de la propuesta del observador fue comparada con el observador no lineal de tipo tangente hiperbólica ($g \tanh(e)$), el cual ha tenido un buen desempeño aplicado a sistemas biológicos. Las condiciones iniciales para el modelo de transcripción de genes y los observadores son mostrados en la tabla 6.



Tabla 6. Condiciones iniciales para el modelo de expresión de genes y para ambos observadores utilizados.

<i>Condiciones iniciales</i>	<i>Modelo de expresión de genes</i>	<i>Observador de estados</i>
Concentración del mRNA	500	250
Concentración de la Proteína 1	750	350
Concentración de la Proteína 2	1500	1000
Concentración de la Proteína 3	2250	3000

La señal medible (RNAm) está corrompida por ruido aleatorio Gaussiano (15%), con el objetivo de representar el ruido en los datos biológicos. Además, incertidumbres de modelado en los valores nominales de las constantes en las velocidades de reacción fueron consideradas, como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Valores de los parámetros para el modelo de expresión de genes y ambos observadores.

<i>Parámetros del modelo</i>	<i>Modelo de genes</i>	<i>Observador de estados</i>
W	$4.16 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$	$3.53 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$
K_0	500	500
K	$6.66 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$	$6.66 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$
V	0.033 s^{-1}	0.3 s^{-1}
k_{12}	$3.33 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$	$3.83 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$
k_1	$3.33 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$	$3.33 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$
k_{23}	$3.33 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$	$3.66 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$
k_3	$3.33 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$	$3.33 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$
M	6	6
α		1
C		1
η		$\pm 15\%$



La figura 24 muestra las series de tiempo del mRNA, proteína 1, proteína 2, proteína 3, para el modelo nominal y ambos observadores. Los observadores comienzan a las mismas condiciones iniciales para los 4 estados, estas condiciones son diferentes de las del modelo nominal (Tabla 6). Además, los observadores se sintonizaron con las mismas ganancias (Tabla 8).

La dinámica estimada por la propuesta del observador rápidamente se superpone con la dinámica real, a diferencia del observador de tangente hiperbólica, que toma un mayor tiempo en converger y muestra sobre-disparos.

Tabla 8. Ganancias utilizadas en la sintonización de los observadores.

<i>Valores de las Ganancias</i>	<i>Propuesta del observador</i>	<i>Observador de tangente hiperbólica</i>
g_1 mRNA	10	-
g_1 Proteína 1	1	-
g_1 Proteína 2	-0.01	-
g_1 Proteína 3	-13	-
g_2 mRNA	10	10
g_2 Proteína 1	1	1
g_2 Proteína 2	- 0.01	-0.01
g_2 Proteína 3	13	13

Adicionalmente, las figuras 25 y 26 muestran la proyección de las trayectorias real y estimadas, donde se aprecia un mejor desempeño de la propuesta del observador respecto al observador de tangente hiperbólica, en particular respecto a la rapidez y exactitud de convergencia.

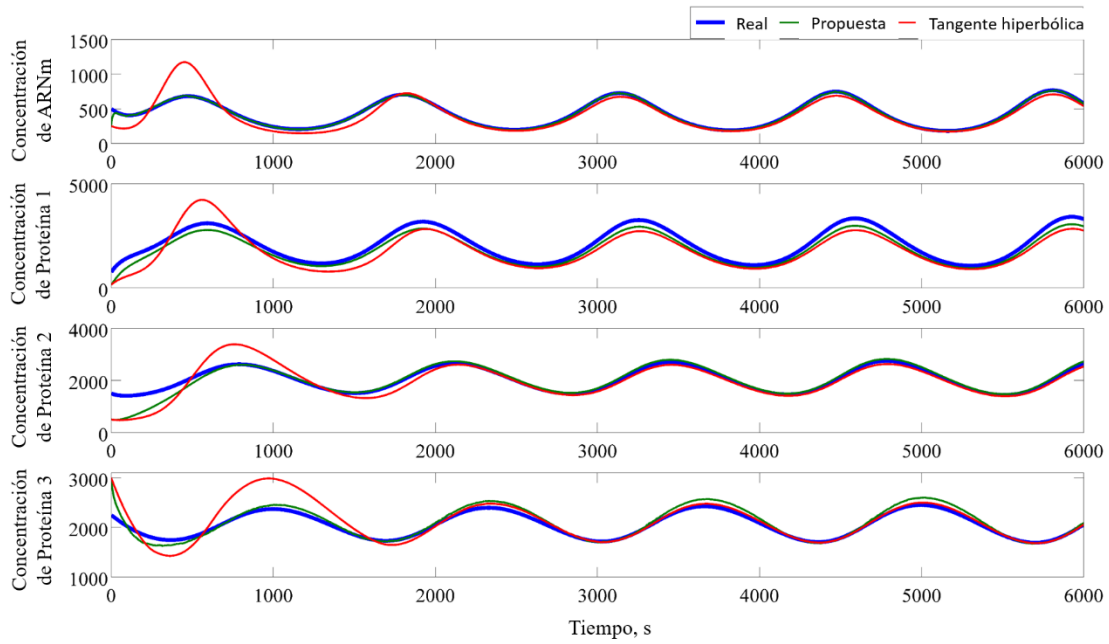


Figura 24. Series de tiempo del mRNA y las tres proteínas, valores reales y estimados. La señal del mRNA fue corrompida por ruido aleatorio. Además, en el modelo fueron consideradas incertidumbres en los valores nominales de las constantes en las velocidades de reacción.

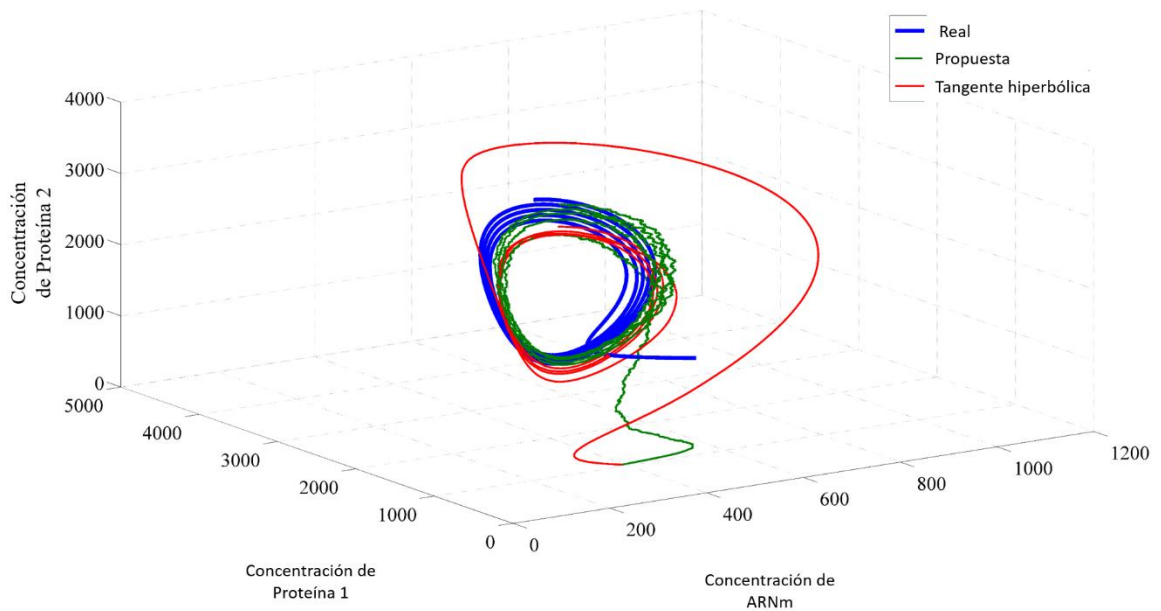


Figura 25. Proyección de la trayectoria real y las estimadas para el mRNA, proteína 1 y 2.

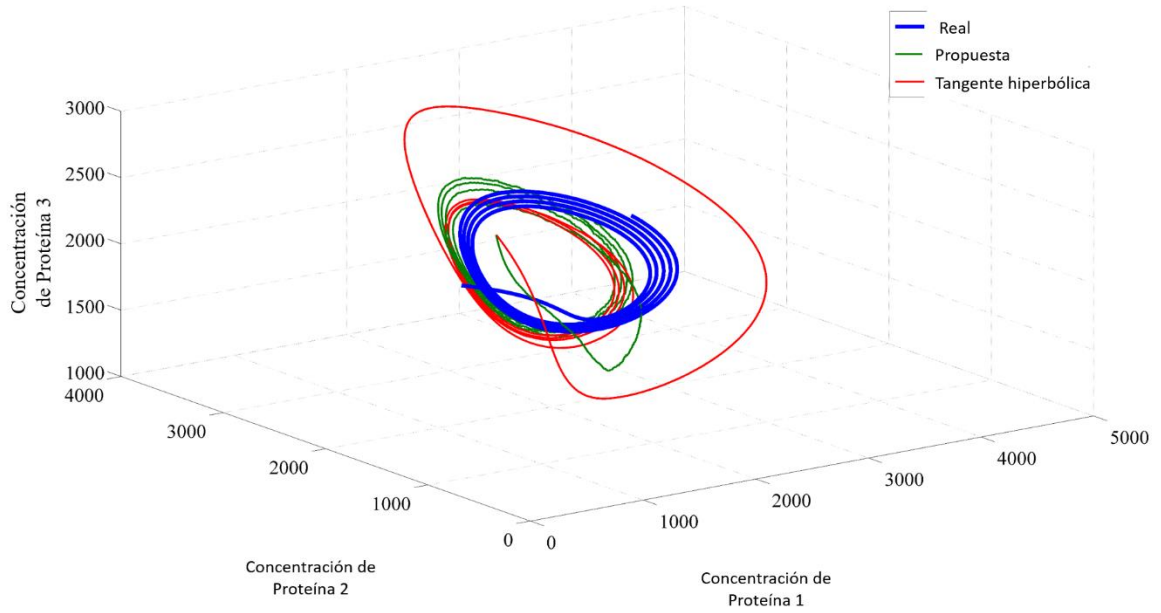


Figura 26. Proyección de la trayectoria real y las estimadas para las tres proteínas.

Además, las figuras 27 y 28, muestran la dinámica del error para cada variable de estado. Como se esperaba, el error disminuye rápidamente y tiende a cero con el observador propuesto.

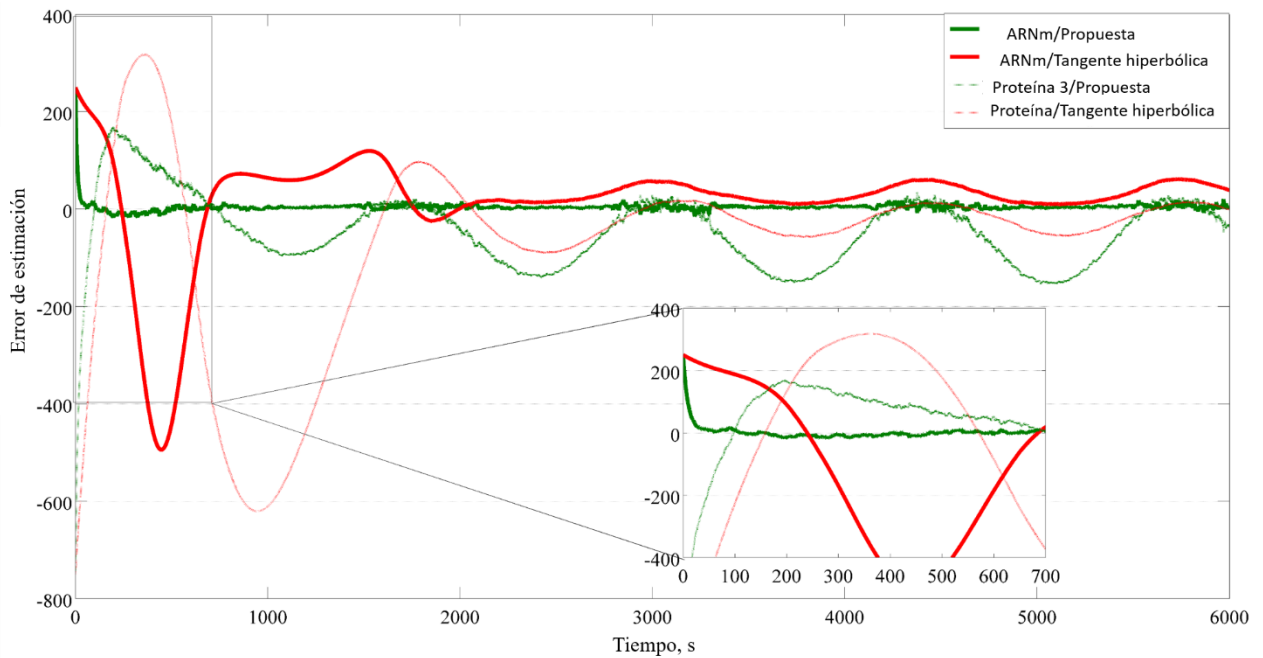


Figura 27. Error de estimación del mRNA y las tres proteínas.

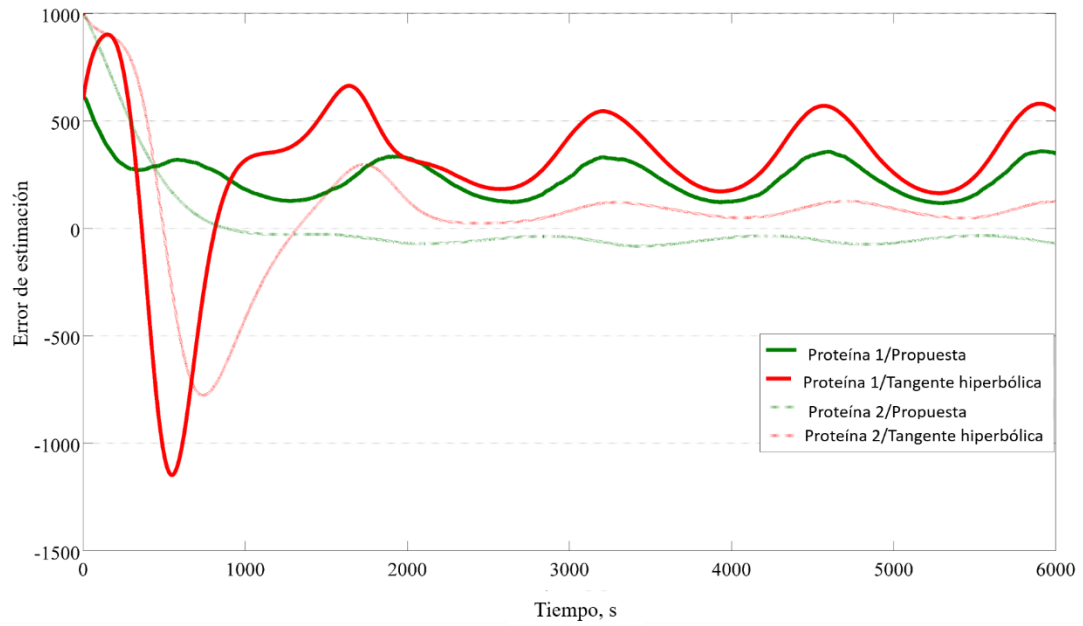


Figura 28. Error de estimación de las proteínas 1 y 2.

Finalmente, la figura 29 indica la dinámica del error global. Es evidente que el desempeño del nuevo observador es superior al observador de tangente hiperbólica.

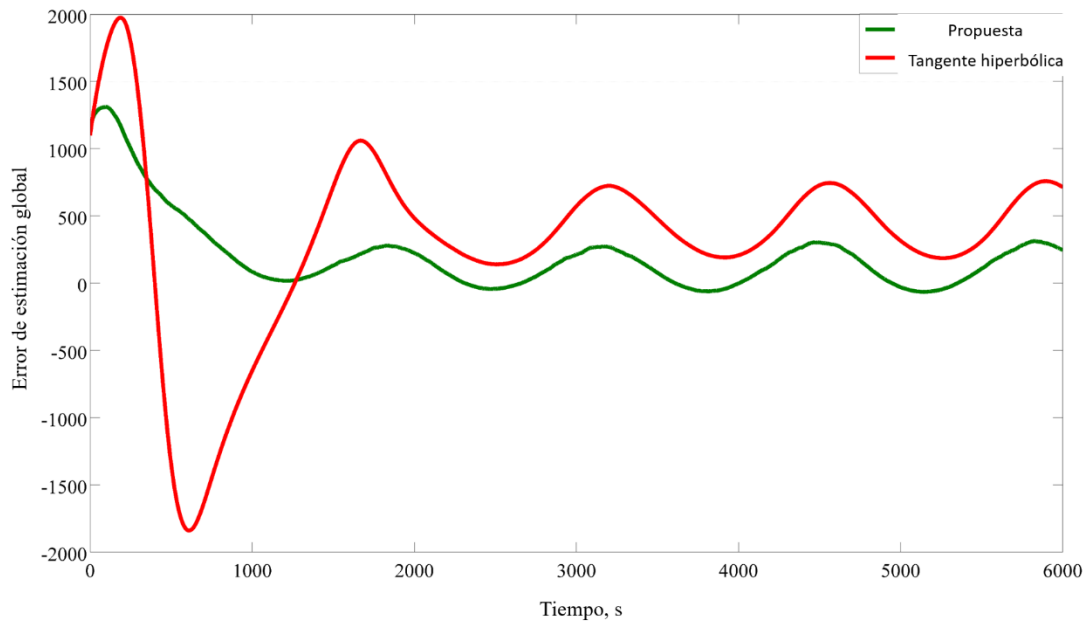


Figura 29. Error de estimación global de ambos observadores.



8.4.3. *Diseño de un observador no lineal robusto aplicado a un biorreactor continuo de rendimiento celular no convencional con comportamiento oscilatorio*

El observador no lineal robusto a ruido a mediciones fue implementado para estimar las trayectorias de un modelo del quimiostato en operación continua y comportamiento oscilatorio. El diseño de la propuesta del observador y la prueba local de observabilidad fueron presentadas en las secciones 4.1.1.2 y 4.1.4.3, respectivamente.

El desempeño de la propuesta del observador fue comparado con el observador de Luenberger. Fue considerada la concentración de CMC como la salida medible. Las condiciones iniciales fueron $[S_{in}=8 \text{ kg m}^{-3}, D=0.08 \text{ h}^{-1}, X_i= 1.44 \text{ kg m}^{-3}, S_i= 0.1 \text{ kg m}^{-3}]$ y $[S_{in}=8 \text{ kg m}^{-3}, D=0.08 \text{ h}^{-1}, X_i = 3 \text{ kg m}^{-3}, S_i = 1 \text{ kg m}^{-3}]$ para la planta (dinámica real) y ambos observadores, respectivamente. Las ganancias sintonizadas heurísticamente fueron: $g_{Luenberger}=[0.1; -0.035]$; $g_{1SPropuesta}=[0.1; -0.035]$; $g_{2SPropuesta}=[0.001; -0.00035]$; $g_{3SPropuesta}=[2; -0.7]$. La cantidad de la corrección depende de g , valores pequeños de g da baja sensibilidad al ruido en las mediciones pero una lenta respuesta en el desempeño del observador, valores altos de g indican alta sensibilidad al ruido en las mediciones pero una rápida respuesta en alcanzar la dinámica de la planta. Fue considerado un error de modelado de un 20% en las constantes cinéticas del modelo de Aiba.

La figura 30 muestra las series de tiempo de la CMC, para el modelo de la planta y ambos observadores. Los observadores comienzan a las mismas condiciones iniciales, que son diferentes a las usadas en el modelo de la planta. La dinámica del CMC de la propuesta del observador rápidamente converge con la dinámica descrita por el modelo de la planta, en contraste con el observador de Luenberger que no alcanza a converger completamente.

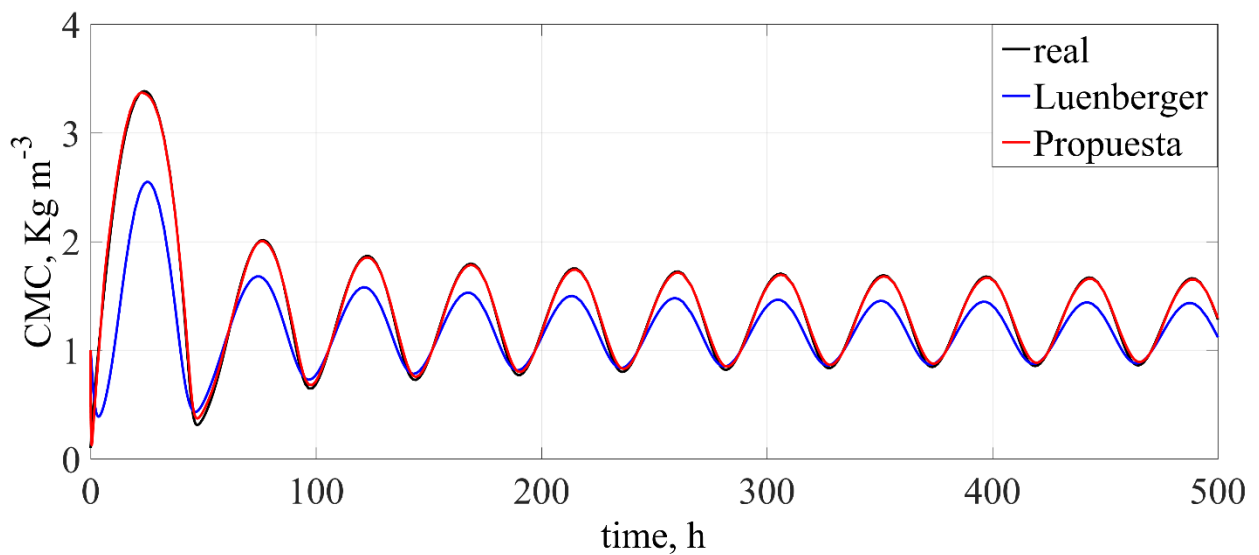


Figura 30. Dinámica real y estimada para la concentración de CMC.

La figura 31 muestra la dinámica real y la estimada de la biomasa, se puede notar que la propuesta del observador presenta un sobredisparo que disminuye gradualmente, cerca de las 50 horas el observador propuesto converge con la trayectoria real, en cambio, el observador de Luenberger no alcanza a superponerse con la trayectoria real de la biomasa, aún después de 500 h después de implementado.

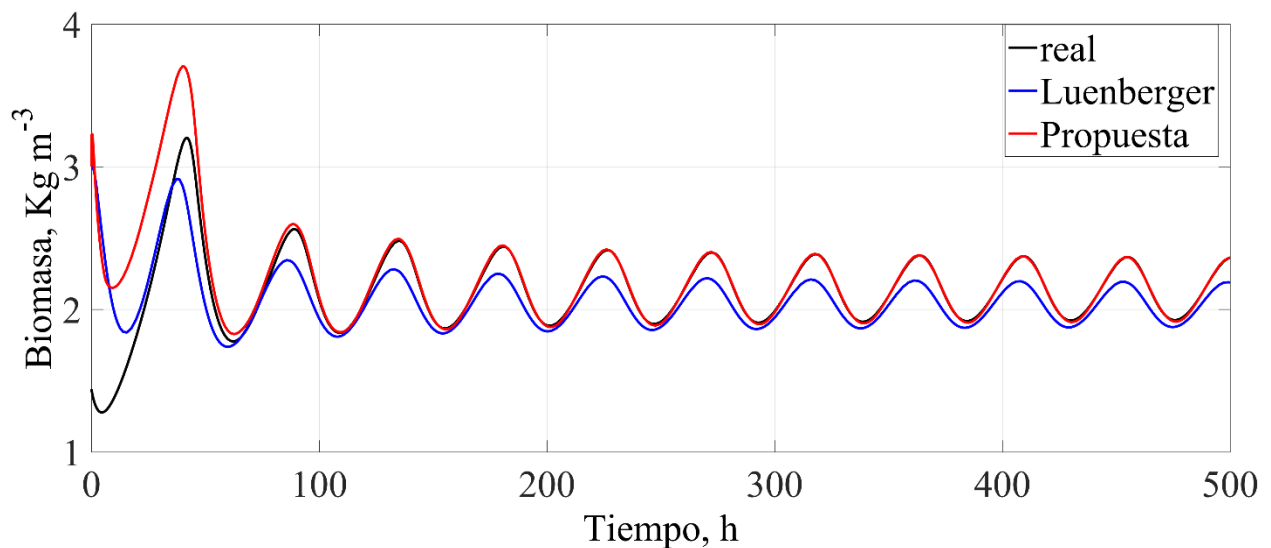


Figura 31. Dinámica real y estimada para la concentración de biomasa.



La figura 32, muestra una proyección en 3D de las trayectorias estimadas y la real, donde se observa globalmente un mejor desempeño de la propuesta del observador con respecto al observador de Luenberger.

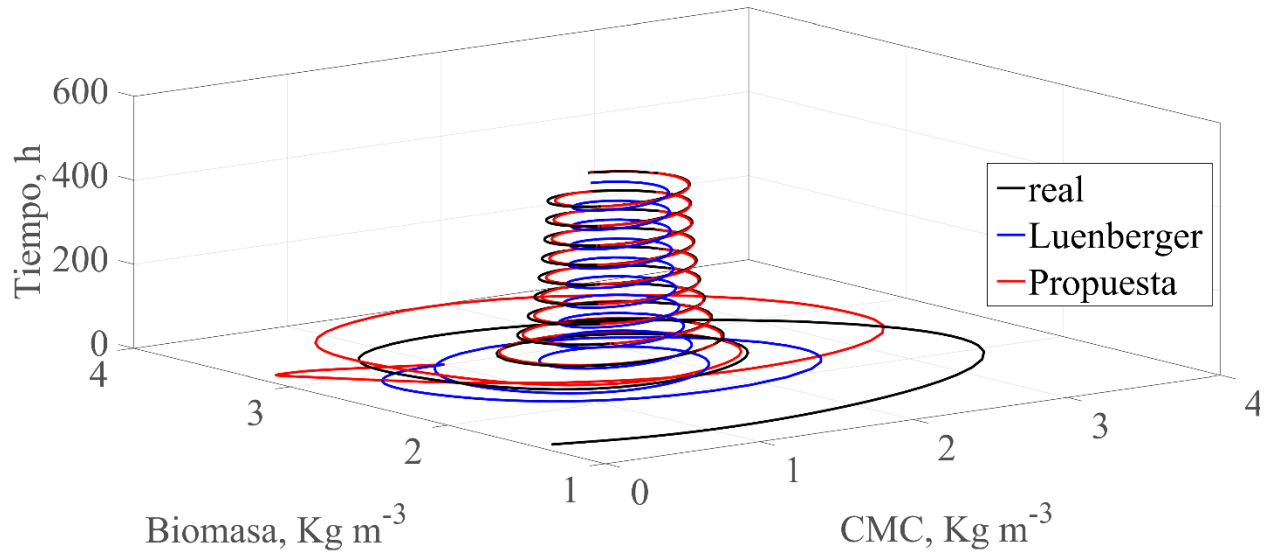


Figura 32. Retrato fase-tiempo de las trayectorias estimadas y la real del modelo del quimiostato.

Finalmente, la figura 33, muestra la dinámica de la estimación del error de la biomasa y la CMC. La magnitud del error es menor en el observador propuesto, además de ser robusto a errores de modelado.

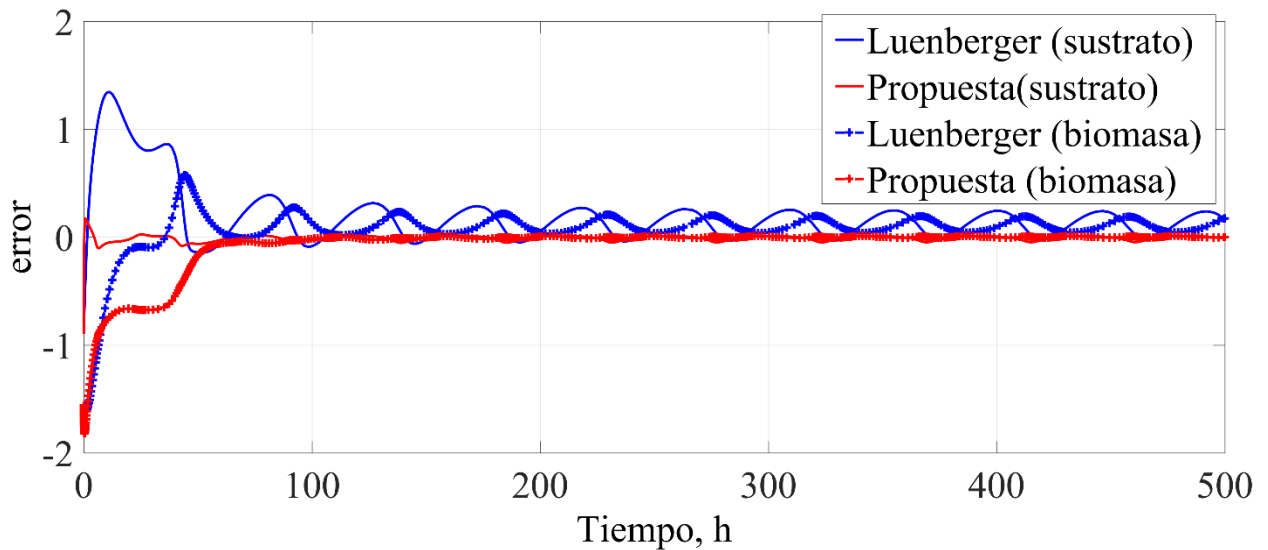


Figura 33. Dinámica del error para la propuesta de observador comparado con el observador de Luenberger.



8.4.4. Análisis de la estimación de estados durante la síntesis de micodiesel en un biorreactor de flujo continuo considerando condiciones de operación y salidas medibles

Se estudiaron las propiedades de invertibilidad de la matriz de observabilidad, a través de sus valores singulares y del número de condición para el modelo de producción de micodiesel en un biorreactor (ver sección 4.1.4.4). El análisis consideró un conjunto de puntos de equilibrio obtenidos por bifurcación numérica (ver sección 4.1.3.3.) y a la biomasa como salida medible (C1) o el par biomasa-sustrato (C1+C2).

Se implementó un observador Luenberger con la finalidad de validar los resultados del análisis de observabilidad del modelo de producción de micodiesel. Se seleccionó la tasa de dilución con valor de 0.06 h^{-1} .

La figura 34 presenta los resultados de la estimación de los estados con el observador de Luenberger, para C1 y C1+C2. Se observa que es posible estimar la concentración de lípidos y que el nitrógeno amoniacal a pesar de no ser observable es detectable, debido a su comportamiento estable. La velocidad de convergencia del observador aumenta al considerar dos salidas medibles en vez de una. Las ganancias utilizadas se presentan en la tabla 9.

Tabla 9. Condiciones de operación y ganancias del observador de Luenberger empleadas para la estimación del micodiesel.

D (h^{-1})	Sg (Kg m^{-3})	SN(Kg m^{-3})	Matriz de ganancias del observador	
			una salida medible	Dos salidas medibles
0.01	90	1	$[1 \ 1 \ 1 \ 1]^T$	$[1 \ 1 \ 1 \ 1 \ 2 \ 2 \ -1 \ -1]^T$

La figura 35 mide el desempeño del observador por su error integral de estimación, ITSE (Ogunnaike & Ray, 1994), donde el error en la estimación de lípidos se reduce aproximadamente 20 veces al emplear dos salidas medibles en vez de sólo una.

En términos generales, los resultados numéricos mostraron que los puntos de equilibrio de alta productividad de lípidos son alcanzados a valores altos de tasa de dilución y que estos son débilmente observables/detectables. Esto coincide con los valores singulares cercanos a cero y números de condición altos. Los puntos de equilibrio a bajas tasas de dilución tienen un efecto contrario. Además se muestra como la observabilidad aumenta al considerar múltiples salidas en



lugar de sólo una. Finalmente, el observador de Luenberger validó los resultados del análisis de observabilidad.

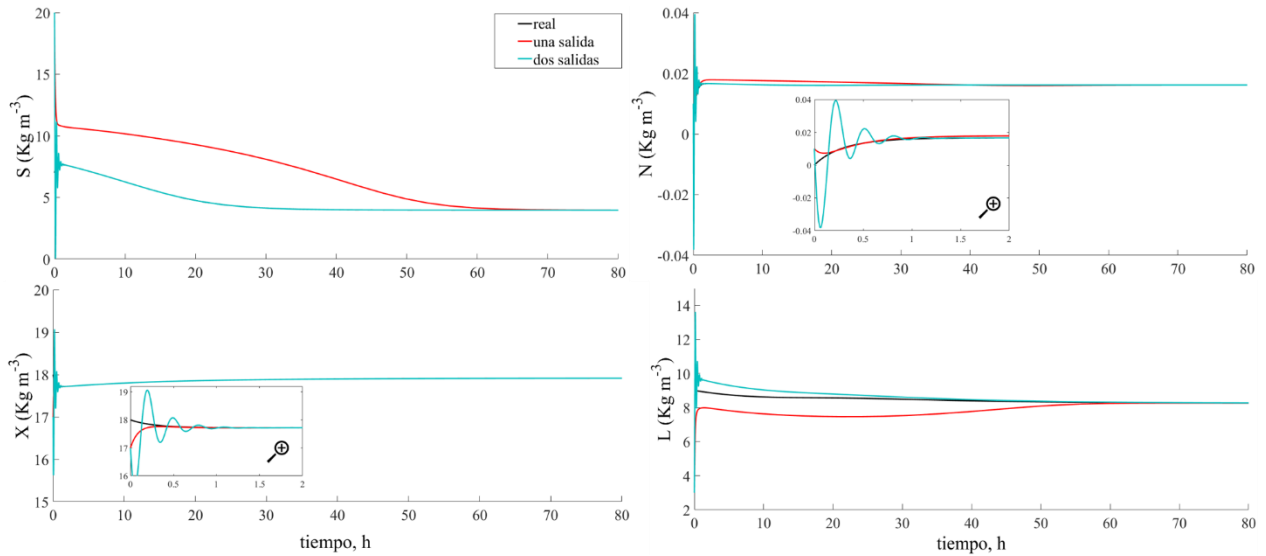


Figura 34. Estimación de las variables de estado para el modelo de producción de micodiesel por *Mortierella isabellina* usando el observador de Luenberger y considerando a la biomasa o el par biomasa-sustrato como salidas medibles del sistema. El observador de Luenberger parte de una condición inicial diferente a la del modelo de la planta. Azúcares hidrolizados (S), Nitrógeno amoniacal (N), Biomasa (X) y Lípidos (L).

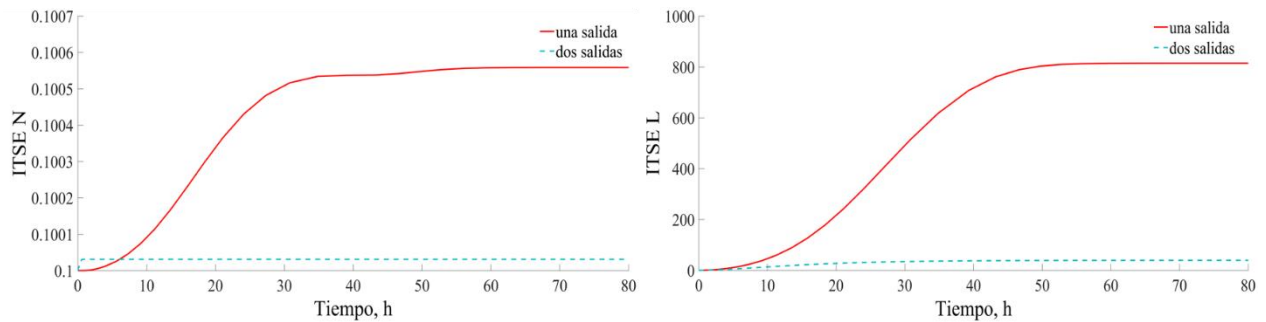


Figura 35. Índice de desempeño (ITSE) del observador de Luenberger para una salida medible (biomasa) y múltiples salidas medibles (biomasa-sustrato).



9. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se propusieron diferentes modelos matemáticos de observadores no lineales capaces de resolver las incertidumbres de modelado y ruido en las mediciones. Estos observadores fueron implementados a algunos sistemas de interés biotecnológico como el proceso de depuración de aguas contaminadas con sulfatos por la *Desulfovibrio alaskensis*; el proceso de transcripción de genes, la hidrólisis de carboximetilcelulosa como fuente de azúcares para la producción de biocombustibles por *Cellulomonas cellulans* y la producción de biodiesel por *Mortierella isabellina*.

El observador aplicado al sistema sulfato-reductor es robusto a incertidumbres en el modelado, demostrado teóricamente y por simulación, además de que mostró un mejor desempeño comparado con los observadores de modos deslizantes y modos deslizantes de alto orden al reducir el problema de *chattering*.

El proceso de transcripción de genes fue estimado midiendo únicamente el RNAm. Lo anterior gracias al diseño de un observador no lineal robusto a incertidumbres en los parámetros del modelo y ruido en las mediciones. Este observador mostró mejores tiempos de convergencia y un menor error de estimación comparado con otro observador no lineal tipo tangente hiperbólica.



Con respecto al observador no lineal implementado a un proceso de hidrólisis de celulosa, se mostró numéricamente que este es exitoso en estimar la dinámica de la biomasa y consumo de celulosa a pesar de errores en el modelado del proceso, además de que presenta un mejor desempeño comparado con un observador de Luenberger.

Finalmente, la determinación de los valores singulares y número de condición en la matriz de observabilidad para un modelo de biorreactor para la síntesis de micodiesel, como caso de estudio, mostró numéricamente que la observabilidad es fuerte o débil dependiendo del punto de equilibrio y el número de salidas medibles en el modelo de síntesis de biodiesel.



10.PERSPECTIVAS

En este trabajo se diseñaron tres algoritmos de estimación de estados, los cuales cuentan con las características de ser robustos a ruido en la medición y errores de modelado. Lo anterior fue demostrado mediante la prueba de convergencia del error de estimación. Durante las pruebas *in silico* de los observadores, la sintonización de estos se realizó heurísticamente, con las desventajas de ser un proceso lento y que no garantiza el mejor desempeño del observador. Se recomienda ampliamente que el proceso de sintonización sea realizado por técnicas de optimización, de esta manera, los valores encontrados de las ganancias en los observadores diseñados, serán los que minimicen el error de estimación y los tiempos de convergencia y por consiguiente, obteniéndose el óptimo desempeño de estos.



11. BIBLIOGRAFÍA

- Agarwal, R., Mahanty, B., & Dasu, V. V. (2009). Modeling Growth of *Cellulomonas cellulans* NRRL B 4567 under Substrate Inhibition During Cellulase Production. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 23(2), 213-218.
- Aguilar-Lopez, R., Lopez-Perez, P. A., Neria-Gonzalez, M. I., & Dominguez-Bocanegra, A. R. (2010). OBSERVER BASED ADAPTIVE MODEL FOR A CLASS OF AEROBIC BATCH BIOREACTOR. *Revista Mexicana De Ingenieria Quimica*, 9(1), 29-35.
- Aguilar-Lopez, R., Mata-Machuca, J., & Martinez-Guerra, R. (2010). On the Observability for a Class of Nonlinear (Bio)chemical Systems. *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, 8.
- Aguilar-Lopez, R., Neria-Gonzalez, M. I., Martinez-Guerra, R., & Mata-Machuca, J. L. (2014). Nonlinear estimation in a class of gene transcription process. *Applied Mathematics and Computation*, 226, 131-144. doi: 10.1016/j.amc.2013.10.012
- Ajbar, A., & Alhumaizi, K. (2012). *Dynamics of the chemostat : a bifurcation theory approach*. Boca Raton, FL: CRC Press/Chapman & Hall.
- Ajbar, A., & Fakeeha, A. H. (2002). Static and dynamic behavior of a class of unstructured models of continuous bioreactors with growth associated product. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 25(1), 21-27. doi: 10.1007/s004490100254
- Bastin, G., & Dochain, D. (1990). *On-line estimation and adaptive control of bioreactors*. Amsterdam ; New York: Elsevier.
- Besancon, G. (2006). Observer design for nonlinear systems. In A. Loria, F. LamnabhiLagarrigue & E. Panteley (Eds.), *Advanced Topics in Control Systems Theory: Lecture Notes from Fap 2005* (Vol. 328, pp. 61-89).
- Besançon, G. (2007). *Nonlinear observers and applications*. Berlin ; New York: Springer.
- Beuse, M., Bartling, R., Kopmann, A., Diekmann, H., & Thoma, M. (1998). Effect of the dilution rate on the mode of oscillation in continuous cultures of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biotechnol*, 61(1), 15-31.
- Beuse, M., Kopmann, A., Diekmann, H., & Thoma, M. (1999). Oxygen, pH value, and carbon source induced changes of the mode of oscillation in synchronous continuous culture of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology and Bioengineering*, 63(4), 410-417.
- Bindel, D., Friedman, M., Govaerts, W., Hughes, J., & Kuznetsov, Y. A. (2014). Numerical computation of bifurcations in large equilibrium systems in MATLAB. *Journal of Computational and Applied Mathematics*, 261, 232-248. doi: 10.1016/j.cam.2013.10.034
- Bird, R. B., Stewart, W. E., & Lightfoot, E. N. (2002). *Transport phenomena* (2nd, Wiley international ed.). New York: J. Wiley.
- Blanch, H. W., & Clark, D. S. (1996). *Biochemical engineering*. New York: M. Dekker.
- Borrelli, R. L., & Coleman, C. S. (2004). *Differential equations : a modeling perspective* (2nd ed.). New York: Wiley.



- Byrnes, C. I., Martin, C., American Mathematical Society., United States. National Aeronautics and Space Administration., & North Atlantic Treaty Organization. (1980). *Algebraic and geometric methods in linear systems theory*. Providence, R. I.: American Mathematical Society.
- Çengel, Y. A. (2008). *Introduction to thermodynamics and heat transfer* (2nd ed.). Dubuque, IA: McGraw-Hill.
- Chang, I. S., Shin, P. K., & Kim, B. H. (2000). Biological treatment of acid mine drainage under sulphate-reducing conditions with solid waste materials as substrate. *Water Research*, 34(4), 1269-1277. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00268-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00268-7)
- Chonacky, N., & Winch, D. (2005a). 3Ms for instruction - Reviews of Maple, Mathematica, and Matlab. *Computing in Science & Engineering*, 7(3), 7-13. doi: 10.1109/mcse.2005.43
- Chonacky, N., & Winch, D. (2005b). Reviews of maple, mathematical and matlab: Coming soon to a publication near you. *Computing in Science & Engineering*, 7(2), 9-10. doi: 10.1109/mcse.2005.39
- De Witte, V., Govaerts, W., Kuznetsov, Y. A., & Friedman, M. (2012). Interactive Initialization and Continuation of Homoclinic and Heteroclinic Orbits in MATLAB. *Acm Transactions on Mathematical Software*, 38(3). doi: 10.1145/2168773.2168776
- De Witte, V., Govaerts, W., Kuznetsov, Y. A., & Meijer, H. G. E. (2014). Analysis of bifurcations of limit cycles with Lyapunov exponents and numerical normal forms. *Physica D-Nonlinear Phenomena*, 269, 126-141. doi: 10.1016/j.physd.2013.12.002
- Dhooge, A., Govaerts, W., & Kuznetsov, Y. A. (2003). MATCONT: A MATLAB package for numerical bifurcation analysis of ODEs. *ACM Trans. Math. Softw.*, 29(2), 141-164. doi: 10.1145/779359.779362
- Dhooge, A., Govaerts, W., Kuznetsov, Y. A., Meijer, H. G. E., & Sautois, B. (2008). New features of the software MatCont for bifurcation analysis of dynamical systems. *Mathematical and Computer Modelling of Dynamical Systems*, 14(2), 147-175. doi: 10.1080/13873950701742754
- Dhooge, A., Sautois, B., Govaerts, W., & Kuznetsov, Y. A. (2005). MATCONT: Matlab software for bifurcation study of dynamical systems. *International Conference on Numerical Analysis and Applied Mathematics 2005 ICNAAM 2005*, 838-841.
- Dochain, D. (2003). State and parameter estimation in chemical and biochemical processes: a tutorial. *Journal of Process Control*, 13(8), 801-818. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0959-1524\(03\)00026-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0959-1524(03)00026-X)
- Doran, P. M. (2013). *Bioprocess engineering principles* (2nd ed.). Amsterdam ; Boston: Elsevier/Academic Press.
- Dorofeev, A. G., & Panikov, N. S. (1991). [Quantitative description of microbial growth in a batch culture depending on the physiologic state of inocula]. *Mikrobiologiya*, 60(4), 652-660.
- Dutta, R. (2008). *Fundamentals of biochemical engineering*. New DelhiBerlin ; New York: Ane Books India ;Springer.
- Economou, C. N., Aggelis, G., Pavlou, S., & Vayenas, D. V. (2011). Modeling of single-cell oil production under nitrogen-limited and substrate inhibition conditions. *Biotechnology and Bioengineering*, 108(5), 1049-1055. doi: 10.1002/bit.23026
- Elliott, P., Ragusa, S., & Catcheside, D. (1998). Growth of sulfate-reducing bacteria under acidic conditions in an upflow anaerobic bioreactor as a treatment system for acid mine drainage. *Water Research*, 32(12), 3724-3730. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00144-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00144-4)



- Esser, D. S., Leveau, J. H., & Meyer, K. M. (2015). Modeling microbial growth and dynamics. *Appl Microbiol Biotechnol*, 99(21), 8831-8846. doi: 10.1007/s00253-015-6877-6
- Friedman, M., Govaerts, W., Kuznetsov, Y. A., & Sautois, B. (2005). Continuation of homoclinic orbits in MATLAB. In V. S. Sunderam, G. D. VanAlbada, P. M. A. Sloot & J. J. Dongarra (Eds.), *Computational Science - Iccs 2005, Pt 1, Proceedings* (Vol. 3514, pp. 263-270).
- Fu, G., Ma, W., & Ruan, S. (2005). Qualitative analysis of a chemostat model with inhibitory exponential substrate uptake. *Chaos, Solitons & Fractals*, 23(3), 873-886. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chaos.2004.05.049>
- Fujimoto, Y. (1963). Kinetics of microbial growth and substrate consumption. *Journal of Theoretical Biology*, 5(2), 171-191.
- Garhyan, P., Elnashaie, S. S. E. H., Al-Haddad, S. M., Ibrahim, G., & Elshishini, S. S. (2003). Exploration and exploitation of bifurcation/chaotic behavior of a continuous fermentor for the production of ethanol. *Chemical Engineering Science*, 58(8), 1479-1496. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0009-2509\(02\)00681-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0009-2509(02)00681-4)
- Gauthier, J. P., & Kupka, I. A. K. (1994). Observability and Observers for Nonlinear Systems. *SIAM Journal on Control and Optimization*, 32(4), 975-994. doi: 10.1137/S0363012991221791
- Gavalas, G. R. (1968). *Nonlinear differential equations of chemically reacting systems*. Berlin, New York etc.: Springer-Verlag.
- Gibson, G. R. (1990). Physiology and ecology of the sulphate-reducing bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*, 69(6), 769-797. doi: 10.1111/j.1365-2672.1990.tb01575.x
- Giesl, P., & Hafstein, S. (2015). REVIEW ON COMPUTATIONAL METHODS FOR LYAPUNOV FUNCTIONS. *Discrete and Continuous Dynamical Systems-Series B*, 20(8), 2291-2331. doi: 10.3934/dcdsb.2015.20.2291
- Goffaux, G., & Vande Wouwer, A. (2005). Bioprocess state estimation: Some classical and less classical approaches. *Control and Observer Design for Nonlinear Finite and Infinite Dimensional Systems*, 322, 111-128.
- Gómez-Acata, R. V. L.-C., G. Femat, R. Aguilar-López R. (2015). ON THE DYNAMIC BEHAVIOUR OF A CLASS OF BIOREACTOR WITHNON-CONVENTIONAL YIELD COEFFICIENT FORM. *Revista Mexicana De Ingeniería Química*, 14(1), 149-165.
- Govaerts, W., Kuznetsov, Y. A., & Dhooge, A. (2005). Numerical Continuation of Bifurcations of Limit Cycles in MATLAB. *SIAM Journal on Scientific Computing*, 27(1), 231-252. doi: 10.1137/030600746
- Gutenkunst, R. N., Waterfall, J. J., Casey, F. P., Brown, K. S., Myers, C. R., & Sethna, J. P. (2007). Universally sloppy parameter sensitivities in systems biology models. *Plos Computational Biology*, 3(10), 1871-1878. doi: ARTN e189DOI 10.1371/journal.pcbi.0030189
- Haddad, W. M., & Chellaboina, V. (2008). *Nonlinear dynamical systems and control : a Lyapunov-based approach*. Princeton: Princeton University Press.
- Hermann, R. (1974). *Linear systems theory and introductory algebraic geometry* (1st ed.). Brookline, MA: Hermann.
- Hespanha, J. o. P. (2009). *Linear systems theory*. Princeton: Princeton University Press.
- Ibrir, S. (2006). On observer design for nonlinear systems. *Intern. J. Syst. Sci.*, 37(15), 1097-1109. doi: 10.1080/00207720601014081
- Ilchmann, A., & Weirig, M. F. (1999). Modelling of general biotechnological processes. *Mathematical and Computer Modelling of Dynamical Systems*, 5(2), 152-178. doi: DOI 10.1076/mcmd.5.2.152.6172



- Jannasch, H. W., & Egli, T. (1993). Microbial growth kinetics: a historical perspective. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 63(3-4), 213-224.
- Khalil, H. K. (1996). *Nonlinear systems* (2nd ed.). Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall.
- Khalil, H. K., & Praly, L. (2014). High-gain observers in nonlinear feedback control. *International Journal of Robust and Nonlinear Control*, 24(6), 993-1015. doi: 10.1002/rnc.3051
- Kim, J. I., Song, H. S., Sunkara, S. R., Lali, A., & Ramkrishna, D. (2012). Exacting predictions by cybernetic model confirmed experimentally: steady state multiplicity in the chemostat. *Biotechnol Prog*, 28(5), 1160-1166. doi: 10.1002/btpr.1583
- Kompala, D. S., Ramkrishna, D., Jansen, N. B., & Tsao, G. T. (1986). Investigation of bacterial growth on mixed substrates: experimental evaluation of cybernetic models. *Biotechnology and Bioengineering*, 28(7), 1044-1055. doi: 10.1002/bit.260280715
- Korovin, S. K., & Fomichev, V. V. (2009). *State observers for linear systems with uncertainty*. Berlin ; New York: Walter De Gruyter.
- Kourdis, P. D., & Goussis, D. A. (2013). Glycolysis in *saccharomyces cerevisiae*: Algorithmic exploration of robustness and origin of oscillations. *Mathematical Biosciences*, 243(2), 190-214. doi: 10.1016/j.mbs.2013.03.002
- Koutinas, M., Kiparissides, A., Silva-Rocha, R., Lam, M. C., Martins Dos Santos, V. A., de Lorenzo, V., . . . Mantalaris, A. (2011). Linking genes to microbial growth kinetics: an integrated biochemical systems engineering approach. *Metab Eng*, 13(4), 401-413. doi: 10.1016/j.ymben.2011.02.001
- Kovarova-Kovar, K., & Egli, T. (1998). Growth kinetics of suspended microbial cells: from single-substrate-controlled growth to mixed-substrate kinetics. *Microbiol Mol Biol Rev*, 62(3), 646-666.
- Kupinski, M. A., Edwards, D. C., Giger, M. L., & Metz, C. E. (2001). Ideal observer approximation using Bayesian classification neural networks. *IEEE Trans Med Imaging*, 20(9), 886-899. doi: 10.1109/42.952727
- Kuznetsov, I. U. A. (2004). *Elements of applied bifurcation theory* (3rd ed.). New York: Springer.
- Lakshmikantham, V., Matrosov, V. M. e., & Sivasundaram, S. (1991). *Vector Lyapunov functions and stability analysis of nonlinear systems*. Dordrecht ; Boston: Kluwer Academic Publishers.
- Law, A. T., Robertson, B. R., Dunker, S. S., & Button, D. K. (1975). On describing microbial growth kinetics from continuous culture data: Some general considerations, observations, and concepts. *Microb Ecol*, 2(4), 261-283. doi: 10.1007/BF02011647
- Lee, J. M. (1992). *Biochemical engineering*. Englewood Cliffs, N.J.: Prentice Hall.
- Levine, J., & Marino, R. (1986). Nonlinear-System Immersion, Observers, Finite Dimensional Filters and Applications. *Lecture Notes in Control and Information Sciences*, 83, 869-880.
- Levine, W. S. (1996). *The Control handbook*. Boca Raton, Fl. New York, NY: CRC Press ;IEEE Press.
- Liapunov, A. M., & Fuller, A. T. (1992). *The general problem of the stability of motion*. London ; Washington, DC: Taylor & Francis.
- López-Pérez, P. A., Cuevas-Ortiz, F. A., Gómez-Acata, R. V., & Aguilar-López, R. (2015). Improving Bioethanol Production via Nonlinear Controller with Noisy Measurements. *Chemical Engineering Communications*, 202(11), 1438-1445. doi: 10.1080/00986445.2014.956737
- López Pérez, P., Neria González, M. I., & Aguilar López, R. (2013). Cadmium concentration stabilization in a continuous sulfate reducing bioreactor via sulfide concentration control. *Chemical Papers*, 67(3), 326-335. doi: 10.2478/s11696-012-0274-8



- López Pérez, P. A., Yescas, R. M., Gomez Acata, R. V., Caballero, V. P., & López, R. A. (2013). Software sensors design for the simultaneous saccharification and fermentation of starch to ethanol. *Fuel*, *110*, 219-226. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2012.11.020>
- Luenberger, D. G. (1966). Observers for multivariable systems. *Automatic Control, IEEE Transactions on*, *11*(2), 190-197. doi: 10.1109/TAC.1966.1098323
- Maddalena Rossi, Alberto Amaretti, Stefano Raimondi, & Leonardi, A. (2011). Getting Lipids for Biodiesel Production from Oleaginous Fungi. In D. M. Stoycheva (Ed.), *Biodiesel - Feedstocks and Processing Technologies*: INTECH.
- Martinez-Guerra, R., Aguilar, R., & Poznyak, A. (2004). A new robust sliding-mode observer design for monitoring in chemical reactors. *Journal of Dynamic Systems Measurement and Control-Transactions of the Asme*, *126*(3), 473-478. doi: Doi 10.1115/1.1789534
- MartinezGuerra, R., & deLeonMorales, J. (1996). Nonlinear estimators: A differential algebraic approach. *Applied Mathematics Letters*, *9*(4), 21-25. doi: Doi 10.1016/0893-9659(96)00046-8
- McLellan, P. J., Daugulis, A. J., & Li, J. (1999). The Incidence of Oscillatory Behavior in the Continuous Fermentation of *Zymomonas mobilis*. *Biotechnology Progress*, *15*(4), 667-680. doi: 10.1021/bp990070d
- Meurer, T., Graichen, K., & Gilles, E.-D. (2005). *Control and observer design for nonlinear finite and infinite dimensional systems*. Berlin ; New York: Springer.
- Meyer, C. D. (2000). *Matrix analysis and applied linear algebra*. Philadelphia: Society for Industrial and Applied Mathematics.
- Misawa, E. A., & Hedrick, J. K. (1989). Nonlinear Observers—A State-of-the-Art Survey. *Journal of Dynamic Systems, Measurement, and Control*, *111*(3), 344-352. doi: 10.1115/1.3153059
- Mohd Ali, J., Ha Hoang, N., Hussain, M. A., & Dochain, D. (2015). Review and classification of recent observers applied in chemical process systems. *Computers & Chemical Engineering*, *76*, 27-41. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.compchemeng.2015.01.019>
- Moosa, S., Nemati, M., & T. L. Harrison, S. (2002). A kinetic study on anaerobic reduction of sulphate, Part I: Effect of sulphate concentration. *Chemical Engineering Science*, *57*(14), 2773-2780. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0009-2509\(02\)00152-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0009-2509(02)00152-5)
- Mustafa, I. H., Elkamel, A., Lohi, A., Ibrahim, G., & Elnashaie, S. (2014). Structured Mathematical Modeling, Bifurcation, and Simulation for the Bioethanol Fermentation Process Using *Zymomonas mobilis*. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, *53*(14), 5954-5972. doi: 10.1021/ie402361b
- Namjoshi, A., Kienle, A., & Ramkrishna, D. (2003). Steady-state multiplicity in bioreactors: bifurcation analysis of cybernetic models. *Chemical Engineering Science*, *58*(3-6), 793-800. doi: Doi 10.1016/S0009-2509(02)00609-7
- Namjoshi, A. A., Hu, W. S., & Ramkrishna, D. (2003). Unveiling steady-state multiplicity in hybridoma cultures: the cybernetic approach. *Biotechnology and Bioengineering*, *81*(1), 80-91. doi: 10.1002/bit.10447
- Nelson, M. I., & Sidhu, H. S. (2009). Analysis of a chemostat model with variable yield coefficient: Tessier kinetics. *Journal of Mathematical Chemistry*, *46*(2), 303-321. doi: 10.1007/s10910-008-9463-7
- Neria-González, I., Wang, E. T., Ramírez, F., Romero, J. M., & Hernández-Rodríguez, C. (2006). Characterization of bacterial community associated to biofilms of corroded oil pipelines from the southeast of Mexico. *Anaerobe*, *12*(3), 122-133. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anaerobe.2006.02.001>



- Neria-Gonzalez, M. I., Figueroa-Estrada, J. C., Cruz-Diaz, M. R., & Aguilar-Lopez, R. (2011). Adaptive Smooth Observer Design for State Estimation in *Desulfovibrio Alaskensis* 6sr Cultures. *Revista Mexicana De Ingenieria Quimica*, 10(1), 137-146.
- Nijmeijer, H., & Fossen, T. I. (1999). *New directions in nonlinear observer design*. London ; New York: Springer.
- Ogata, K. (2010). *Modern control engineering* (5th ed.). Boston: Prentice-Hall.
- Ogunnaike, B. A., & Ray, W. H. (1994). *Process dynamics, modeling, and control*. New York: Oxford University Press.
- Panikov, N. S. (2002). Kinetics, Microbial Growth *Encyclopedia of Bioprocess Technology*: John Wiley & Sons, Inc.
- Pavlou, S., & Fredrickson, A. G. (1989). Growth of microbial populations in nonminimal media: some considerations for modeling. *Biotechnology and Bioengineering*, 34(7), 971-989. doi: 10.1002/bit.260340712
- Perruquetti, W., & Barbot, J. P. (2002). *Sliding mode control in engineering*. New York: M. Dekker.
- Quach, M., Brunel, N., & d'Alche-Buc, F. (2007). Estimating parameters and hidden variables in non-linear state-space models based on ODEs for biological networks inference. *Bioinformatics*, 23(23), 3209-3216. doi: DOI 10.1093/bioinformatics/btm510
- Ramakrishna, R., Ramkrishna, D., & Konopka, A. E. (1996). Cybernetic modeling of growth in mixed, substitutable substrate environments: Preferential and simultaneous utilization. *Biotechnology and Bioengineering*, 52(1), 141-151. doi: 10.1002/(SICI)1097-0290(19961005)52:1<141::AID-BIT14>3.0.CO;2-R
- Ramakrishna, D. (1983). A CYBERNETIC PERSPECTIVE OF MICROBIAL-GROWTH. *Acs Symposium Series*, 207, 161-178.
- Ramakrishna, D., & Song, H.-S. (2012). Dynamic models of metabolism: Review of the cybernetic approach. *AIChE Journal*, 58(4), 986-997. doi: 10.1002/aic.13734
- Resat, H., Bailey, V., McCue, L. A., & Konopka, A. (2012). Modeling microbial dynamics in heterogeneous environments: growth on soil carbon sources. *Microb Ecol*, 63(4), 883-897. doi: 10.1007/s00248-011-9965-x
- Riet, K. v. t., & Tramper, J. (1991). *Basic bioreactor design*. New York: M. Dekker.
- Schügerl, K., & Bellgardt, K. H. (2000). *Bioreaction engineering : modeling and control*. Berlin ; New York: Springer.
- Shen, Y., Zhao, X. Q., Ge, X. M., & Bai, F. W. (2009). Metabolic flux and cell cycle analysis indicating new mechanism underlying process oscillation in continuous ethanol fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* under VHG conditions. *Biotechnol Adv*, 27(6), 1118-1123. doi: 10.1016/j.biotechadv.2009.05.013
- Simmons, G. F. (1991). *Differential equations, with applications and historical notes* (2nd ed.). New York: McGraw-Hill.
- Song, H. S., & Ramkrishna, D. (2011). Cybernetic Models Based on Lumped Elementary Modes Accurately Predict Strain-Specific Metabolic Function. *Biotechnology and Bioengineering*, 108(1), 127-140. doi: 10.1002/bit.22922
- Song, H. S., Ramkrishna, D., Pinchuk, G. E., Beliaev, A. S., Konopka, A. E., & Fredrickson, J. K. (2013). Dynamic modeling of aerobic growth of *Shewanella oneidensis*. Predicting triaoxic growth, flux distributions, and energy requirement for growth. *Metab Eng*, 15, 25-33. doi: 10.1016/j.ymben.2012.08.004
- Spurgeon, S. K. (2008). Sliding mode observers: a survey. *Intern. J. Syst. Sci.*, 39(8), 751-764. doi: 10.1080/00207720701847638



- Sridhar, L. N. (2011). Elimination of Oscillations in Fermentation Processes. *AIChE Journal*, 57(9), 2397-2405. doi: 10.1002/aic.12457
- Tan, Y., Wang, Z. X., & Marshall, K. C. (1998). Modeling pH effects on microbial growth: a statistical thermodynamic approach. *Biotechnology and Bioengineering*, 59(6), 724-731.
- Thau, F. E. (1973). Observing the state of non-linear dynamic systems. *International Journal of Control*, 17(3), 471-479. doi: 10.1080/00207177308932395
- Thijssen, P. C. (2008). *State estimation in chemometrics : the Kalman filter and beyond*. Chichester, UK: Horwood Pub.
- Udwadia, F. E., Weber, H., & Leitmann, G. (2004). *Dynamical systems and control*. Boca Raton: CRC Press.
- Venkateswarlu, C. (2004). Advances in monitoring and state estimation of bioreactors. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 63(6), 491-498.
- Viel, F., Jadot, F., & Bastin, G. (1997). Robust feedback stabilization of chemical reactors. *Ieee Transactions on Automatic Control*, 42(4), 473-481. doi: Doi 10.1109/9.566657
- Villadsen, J., Nielsen, J. H., Lidén, G., & Nielsen, J. H. (2011). *Bioreaction engineering principles* (3rd ed.). New York: Springer.
- Vogel, H. C., & Todaro, C. L. (2014). *Fermentation and biochemical engineering handbook : principles, process design, and equipment* (Third edition / ed.). Amsterdam: William Andrew, an imprint of Elsevier.
- Wang, H. Z., Zhang, N., Qiu, T., Zhao, J. S., & Chen, B. Z. (2014). Method for Regulating Oscillatory Dynamic Behavior in a *Zymomonas mobilis* Continuous Fermentation Process. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 53(31), 12399-12410. doi: 10.1021/ie5009234
- Wang, H. Z., Zhang, N., Qiu, T., Zhao, J. S., He, X. R., & Chen, B. Z. (2013). Analysis of Hopf Points for a *Zymomonas mobilis* Continuous Fermentation Process Producing Ethanol. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 52(4), 1645-1655. doi: 10.1021/ie3013049
- Wittmann, C., Hans, M., van Winden, W. A., Ras, C., & Heijnen, J. J. (2005). Dynamics of intracellular metabolites of glycolysis and TCA cycle during cell-cycle-related oscillation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology and Bioengineering*, 89(7), 839-847. doi: 10.1002/bit.20408
- Yang, S.-T., El Enshasy, H., & Thongchul, N. *Bioprocessing technologies in biorefinery for sustainable production of fuels, chemicals, and polymers*.
- Young, J. D., Henne, K. L., Morgan, J. A., Konopka, A. E., & Ramkrishna, D. (2008). Integrating cybernetic modeling with pathway analysis provides a dynamic, systems-level description of metabolic control. *Biotechnology and Bioengineering*, 100(3), 542-559. doi: 10.1002/bit.21780
- Young, J. D., & Ramkrishna, D. (2007). On the matching and proportional laws of cybernetic models. *Biotechnol Prog*, 23(1), 83-99. doi: 10.1021/bp060176q
- Zarchan, P., & Musoff, H. (2000). *Fundamentals of Kalman filtering : a practical approach*. Reston, Va.: American Institute of Aeronautics and Astronautics.
- Zhang, L., Pan, Q., & Rempel, G. L. (2015). Bifurcation analysis and multiplicity of steady states in a multistage agitated contactor for gas-liquid processes. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 93(11), 1891-1901. doi: 10.1002/cjce.22285
- Zhang, Y., & Henson, M. A. (2001). Bifurcation Analysis of Continuous Biochemical Reactor Models. *Biotechnology Progress*, 17(4), 647-660. doi: 10.1021/bp010048w
- Zhdanov, V. P. (2012). Periodic perturbation of genetic oscillations. *Chaos Solitons & Fractals*, 45(5), 577-587. doi: DOI 10.1016/j.chaos.2011.12.008



12. ANEXO

PRODUCTOS DE LA TESIS

- *Publicaciones en revista indexada*
 1. **Gómez-Acata, R. V.**, Neria-Gonzalez, M. I. and Aguilar-Lopez R. (2015). Robust Software Sensor Design for State Estimation in a Sulfate-Reducing Bioreactor. *Theoretical Foundations of Chemical Engineering*, 50(1),67-75
 2. **Gomez-Acata, R.V**, Lara-Cisneros, G., Femat, R., Aguilar-Lopez, R. (2015). On The Dynamic Behaviour Of A Class Of Bioreactor With Non-Conventional Yield Coefficient Form. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* (2015), 14(1), 149-165

- *Congresos internacionales:*
 1. **Rigel V. Gómez-Acata**, Vicente Peña-Caballero, Pablo A. López-Pérez, Sepúlveda-Gálvez Alfonso, Cuevas-Ortiz Fernando, Ma. Isabel Neria-González, Ricardo Aguilar-López. (2013). Análisis Dinámico De Un Sistema Sulfato Reductor Con Y Sin Recirculación De Biomasa .XXXIV Encuentro Nacional, III Congreso Internacional de la Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química A.C. (AMIDIQ).
 2. **Rigel V. Gómez-Acata**, Ricardo Aguilar-López. (2013). Robust Nonlinear Observer Design Applied To A Class Of Oscillatory Continuous Chemostat. 6th International Scientific Conference on Physics and Control (PhysCon).



3. Fernando A. Cuevas-Ortiz, **Rigel V. Gómez-Acata**, Pablo A. López-Pérez, Hugo I. Velázquez-Sánchez and *Ricardo Aguilar-López. (2014). Analysis and improvement of Myco-diesel bioreactor state estimation considering operation conditions and output measurement capabilities. *International-Mexican Congress on Chemical Reaction Engineering (IMCCRE)*.
4. **Rigel V. Gómez-Acata**, Pablo A. López-Pérez, Hugo I. Velázquez-Sánchez and Ricardo Aguilar-López (2015). Myco-Diesel Estimation: An Observability Analysis And Its Impact On The Observer Performance. *International Energy Conference (IEC)*.

- *Congresos nacionales:*

1. **Rigel V. Gómez-Acata**, Fernando A. Cuevas-Ortiz, Hugo I. Velázquez-Sánchez, Vicente Peña-Caballero, Pablo A. López-Pérez, Marcos A. Morón-Vázquez and Ricardo Aguilar-López. (2014). Mycodiesel Productivity Analysis In A Continuous Bioreactor Via Lipid-Producing *Mortierella Isabellina*. *XXXV Encuentro de la Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química A.C. (AMIDIQ)*.

COLABORACIONES

1. López-Pérez, Pablo A., Cuevas-Ortiz, Fernando A., **Gómez-Acata, Rigel V.**, Aguilar-López, Ricardo. (2015). Improving Bioethanol Production via Nonlinear Controller with Noisy Measurements. *Chemical Engineering Communications*, 202(11).
2. López Pérez, Pablo A., Maya Yescas, Rafael, **Gomez Acata, Rigel V.**, Peña Caballero, Vicente, Aguilar López, Ricardo. (2013). Software sensors design for the simultaneous saccharification and fermentation of starch to etanol. *Fuel*, 110, 219-226