



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS  
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA ELÉCTRICA  
SECCIÓN DE BIOELECTRÓNICA

Técnicas robustas de control y estimación adaptativa de estados en  
bioreactores

**Tesis que presenta**

Abraham Efraim Rodríguez Mata

**Para obtener el Grado**

**de Doctor en Ciencias**

en la Especialidad de

Control Automático

**Director de la Tesis:**

Dr. Jorge A. Torres Muñoz

Ciudad de México,

Mayo 2016

# Índice general

<b>1. Abstract</b>	<b>9</b>
1.1. Publicaciones realizadas . . . . .	18
<b>2. Antecedentes de Modelado de Bioprocesos</b>	<b>21</b>
2.1. Modelo Matemático de un Bioreactor . . . . .	21
2.1.1. Condiciones de Crecimiento Específico . . . . .	25
2.2. Modelado de bioreactor en fase continua . . . . .	26
2.3. Modelo de Estados . . . . .	28
2.3.1. Ecuaciones del Modelo de Estados . . . . .	29
<b>3. Observador de alta ganancia adaptativo para un bioproceso</b>	<b>33</b>
3.1. Introducción . . . . .	33
3.2. Antecedentes: Un observador no lineal . . . . .	35
3.3. Resultados principales . . . . .	42
3.4. Transformación <i>STE</i> para un sistema biológico . . . . .	48
3.5. Caso de estudio, estimación en tiempo real en reactor Batch . . . . .	55
3.5.1. Sensor óptico . . . . .	56
3.5.2. Observador NL-PI . . . . .	58

3.5.3.	Simulacion numérica . . . . .	62
3.5.4.	Implementación del algoritmo . . . . .	63
3.5.5.	Resultados de la experimentación en tiempo real . . . . .	64
3.6.	Conclusiones del capitulo . . . . .	66
<b>4.</b>	<b>Control robusto para un cultivo de microorganismos</b>	<b>67</b>
4.1.	Resumen . . . . .	67
4.2.	Introducción . . . . .	68
4.3.	Modelo matemático de fermentación tipo Over-flow . . . . .	71
4.4.	Planteamiento del problema de control . . . . .	75
4.4.1.	Modelo de referencia . . . . .	78
4.4.2.	Algoritmo de control . . . . .	80
4.5.	Resultados numéricos . . . . .	83
4.6.	Análisis de estabilidad en lázo cerrado. . . . .	87
4.7.	Conclusiones del capítulo . . . . .	95
<b>5.</b>	<b>Conclusiones generales</b>	<b>97</b>
<b>6.</b>	<b>Bibliografía</b>	<b>99</b>

# Índice de figuras

2.1. Bioreactor en fase-Batch . . . . .	24
2.2. Diagrama de un bioreactor en fase continua . . . . .	26
3.1. Estimación de estados en el cultivo de <i>Sachoromices</i> . . . . .	55
3.2. Estimación de la perturbacion presente en la entrada . . . . .	56
3.3. Estructura del sensor de biomasa en fase discontinua . . . . .	57
3.4. Tabla 2. calibración del sensor con biomasa de <i>Sachoromices</i> . . . . .	58
3.5. Tabla 3. Relación absorbancia de biomasa, voltaje y concentración. . . . .	59
3.6. Diagra de adquisición de datos a través de Arduino-Mathlab . . . . .	59
3.7. Tabla 3.- Parámetros de simulación . . . . .	61
3.8. Señal de biomasa en la simulación de la estimación de glucosa en un reactor Batch . . . . .	63
3.9. Estimación de sustrato en precesinca pertubaciones parámetros . . . . .	64
3.10. Sensor de biomasa en modo discontinuo . . . . .	65
4.1. Imangen ampliada en microscopio de la enzima <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . . . . .	74
4.2. Razón de crecimiento óptima y subóptima en proceso de tipo overflow . . . . .	79
4.3. Diagrama del algoritmo de control propuesto en este trabajo . . . . .	81

4.4. Dinámica de referencia de biomasa en un proceso de tipo Over-Flow (gr/L) . . . . .	86
4.5. Razón de crecimiento crítica y real en proceso de overflow ( $\text{hr}^{-1}$ ) . . .	87
4.6. Dinámica del sistema overflow en presencia del control propuesto . . .	88
4.7. Señal de control implementada sobre el sistema biológico ( $\text{L}^*\text{hr}^{-1}$ ) . . .	89
4.8. Dinámica del sustrato (glucosa) en presencia de control overflow (gr/L)	90

# Agradecimientos

Primero que nada quiero dar gracias a Jesúsucristo mi señor por nunca haberme dejado solo a lo largo de mi vida ya que todo lo que soy de lo debo a él. De manera especial le agradezco a mis padres Juan José Rodríguez y Luz María Mata Ríos los cuales siempre han estado conmigo en las buenas y en las malas, agradezco a Dios en verdad dicha virtud de ser hijo suyo. También agradezco a mis hermanos y agradezco y dedico de manera muy especial a mi hermosa esposa Nayely el amor de mi vida por ser mi inspiración en este camino y por todo su apoyo, siempre. Por otra parte le agradezco de mis asesores los doctores Jorge Torres y Alma Rosa Domínguez por todo el apoyo en los momentos difíciles y que siempre conté con ellos, también agrego mis agradecimientos a mis sinodales y revisores de tesis los doctores Rafael Castro, Wen Yu Liu y Ieroham Solomon Barouh. Así mismo quiero exponer la dedicatoria a todos mis amigos del Cinvestav por su apoyo, a Fernando, la Foca, Child, Ivo, Messie, Said, Irandi y a todos los amigos de la UMI.



# Resumen

El control de procesos biológicos siempre ha significado un duro desafío en la teoría de control por el carácter tan complejo de los seres vivos. En este trabajo se presenta herramientas teóricas y prácticas sobre los problemas en el control, rechazo de perturbaciones y estimación de estados en bioprocesos y control de bioreactores con metabolismo overflow. En su primera parte se trata el hecho de poder diseñar técnicas de control y estimadores de estados robustos a incertidumbres paramétricas y no paramétricas, dicho problema es muy común en plantas de carácter biológico, se trataran aspectos tanto teóricos y prácticos, es decir, se hará un estudio arduo en los algoritmos matemáticos. Una técnica renombrable es la de los llamados observadores no lineales de alta ganancia y su mejora en los llamados observadores integrales adaptativos dando este trabajo una novedosa estructura la cual es probada bajo la lupa de un estudio estabilidad en el sentido de Lyapunov. Otro notable aporte de esta tesis el diseño de técnicas de control robusto a problemas diversos sobre metabolismo de tipo overflow y fotosintético. Todo lo mencionado anterior tendrá un carácter teórico y experimental, es decir, será probado sobre los datos de un cultivo de una levadura llamada *Saccoromices* en presencia de metabolismo overflow el cual tiene importantes usos para la industria alcohólica.





# Capítulo 1

## Abstract

The control of biological processes has always meant a tough challenge in control theory by the complex nature of living beings. In this work theoretical and practical tools to the problems in the control, disturbance rejection and state estimation in bioprocesses and bioreactors with overflow control metabolism occurs are present. The first part of being able to design and control techniques estimators robust states parametric uncertainties and nonparametric, this problem is very common in plants biological, both theoretical and practical aspects are treated, ie is, it will an arduous study on mathematical algorithms. A Nameable technique is called non-linear high-gain observers improvement in so-called adaptive integral observers giving this work a novel structure which is tested under the microscope of a stability study in the sense of Lyapunov. Another notable contribution of this thesis the design of robust control techniques to various problems of overflow metabolism and photosynthetic rate. Everything that is, will be tested on data from a culture call and a fungus called *Saccoromices* overflow metabolism.



# Contenido de la tesis

El presente trabajo se encuentra dividido en 4 capítulos donde se expone el tipo de técnicas aplicadas a la estimación y control robusto para los procesos de fermentación en bioreactores basados en teoría de estabilidad de Lyapunov. A continuación se indica en forma breve las características principales de cada capítulo:

1.- En la primera parte se describe la justificación, motivación y objetivos principales de este trabajo. Se expone brevemente la problemática principal en los sistemas biotecnológicos mediante una reseña de las aplicaciones de la teoría de control robusta en este tipo de sistemas.

2.- En el segundo capítulo se hace resumen sobre modelado de procesos biológicos, además se hace una descripción teórica práctica de los métodos de medición de biomasa y sustrato las cuales son las variables más importantes en procesos de tipo de biotecnológico, se tratan brevemente algunos conceptos básicos de modelado en espacio de estados.

3.-En tercer capítulo se hace un estudio teórico sobre el diseño de un estimador de estados de tipo alta ganancia (HG) adaptativo para la estimación de estados de forma robusta en un tipo de proceso biotecnológico. Primeramente se hace una investigación teórica en la literatura científica, se muestran conceptos básicos usados de observabilidad lineal y no lineal de tal forma que el lector tenga las herramientas

básicas para poder entender el problema básico de estimación de estados. Finalmente se muestran resultados previos en la estimación de estados en bioreactores y la aportación principal de este trabajo sobre la estimación de estados a través de un estudio numérico sobre la fermentación de *Saccharomices* con un estudio en tiempo real.

4.-El cuarto capítulo trata sobre un problema más complejo que los mostrados anteriormente. El modelado de un metabolismo de tipo Over-Flow es una tarea difícil dado que plantea el hecho de tener una dinámica no lineal en los parámetros del modelo a además de la extensión de estados del sistema biológico. Se hace primero un estudio bibliográfico en base a las investigaciones previas. Se plantea resolver el problema de control robusto mediante técnicas de reducción de modelo y alcanzar finalmente estabilidad última acotada, lo anterioro mediante el uso de funciones de Lyapunov. Finalmente, se hace un estudio en simulación numérica para probar la efectividad de los resultados teóricos obtenidos.

# Introducción General

Durante las últimas décadas, la teoría de control ha sido implementada en diferentes áreas de la industria moderna. Un ejemplo remarcable de esto es el control de temperatura, pH, oxígeno disuelto y presión en las industria de producción de alcohol. Cabe decir, que dichas variables pueden ser medidas en línea y su regulación puede realizarse sin necesidad de la información interna o estado de la dinámica microbiana. Sin embargo, cuando el objetivo es obtener leyes de control sobre el crecimiento neto microbiano el problema de control de fermentadores (bioreactores) alcanza un nivel de dificultad muy alto. Dicha dificultad se debe a que los procesos biológicos y bioquímicos poseen características internas que los hacen ser altamente dependientes de la concentración de células producidas sobre una fracción de tiempo y en los productos de dicha fermentación. Dado que esta dinámica de crecimiento es no lineal, la exactitud de los modelos matemáticos no es la óptima, situación que complica ante la escasas de biosensores que midan en línea la actividad intercelular. Por ello, la caracterización de procesos de fermentación en bioreactores es una tarea difícil, a continuación se dan un pequeño bosquejo bibliográfico sobre este tema.

## Antecedentes

El control de sistemas no lineales ha sido siempre un reto para la teoría de control moderno, debido a que muchas propiedades y bondades que tiene los sistemas lineales en la mayoría de los casos no se cumplen para su contraparte no lineal . Si a esta complejidad se le agrega el problema de estimación de estados, es decir cuando no es posible medir todas las variables de estado, el control de sistemas no lineales con estados no medibles es un reto mayor para la teoría de control moderno [2],[19]. En algunos tipos de sistemas es imposible medir dichas variables de estado a través de algún tipo de sensor electrónico o analógico, un ejemplo claro es la temperatura interna de reactor nuclear o el sustrato metabolizado en las paredes celulares en el caso de un bioreactor.

El problema de estimar estados en un sistema no lineal ha sido tratado extensamente para el caso lineal, un ejemplo de esto son los estimadores lineales como el observador propuesto por Luenberger [22] . En algunos trabajos se ha extendido este tipo de soluciones, como es el caso de [6] donde fue posible extender un observador de alta ganancia de tipo Luenberger a algunos tipos de sistemas no lineales. Cuando los sistemas no lineales presentan ciertas propiedades [20] como presentar entradas universales y tener un gramiano no lineal de observación detectable, entonces es posible siempre conseguir un tipo de transformación especial a la cual se puede ampliar gran parte de las propiedades de un observador lineal. En trabajos anteriores se ha hecho el intento de estimar de manera robusta las variables propias de un procesos biotecnológico, tales como biomasa, sustrato y subproductos [8],[11],[15],[18][20]. Muchos autores han tratado de dar solución a la estimación de estados, dado que en los procesos biotecnológicos la falta de sensores en tiempo real dificulta de gran manera el control de dichos procesos Una clase de observadores importante son los observadores

de alta ganancia (HG) los cuales han sido estudiados ampliamente en la literatura, estos presentan excelentes resultados en la estimación de sistemas uniformemente observables como es el caso de bioreactores con modelo de Monod monosustrato [20], pero estos presenta errores cuando se presentan perturbaciones internas o errores de modelado, ver [3]. Por eso es preciso implementar nuevas técnicas o enfoques para poder robustecer dicha estimación a través de este tipo de observadores de alta ganancia. Algunos autores como [12] han propuesto la implementación de una acción integral para dar robustez a dicha estimación.

Por otro lado las técnicas de control adaptable han sido usadas para los procesos de control de fermentadores continuos, por medio del uso de los métodos de controladores ajustables no lineales, que controlan el crecimiento bacteriano [42], por medio de 2 estrategias: la primera con control de la concentración de sustrato y la segunda con el uso de un control de la razón de producción. Como caso especial de este tipo de técnicas se hace la identificación de los parámetros de la razón de crecimiento y del coeficiente de rendimiento los cuales tienen una importancia fundamental en el proceso. Otro camino usual en el control de bioprocesos es la optimización, como el hecho en [43] , la optimización de biomasa en [44] o el control optimo en línea de células inmovilizadas [45]. Otro trabajo notable es sobre la maximización del estado estacionario de la producción celular de un cultivo continuo de levadura manejando la razón de dilución y temperatura [46]. Esquemas de control no lineal han sido utilizados, como el caso de esquemas de control no lineal predictivo, estrategia que se usa para predecir el modelo mediante una representación geométrica en la vecindad del punto óptimo, ver [47]. Las técnicas de linealización han sido también utilizadas en los procesos de fermentación, ejemplos de estas son: la linealización de un fermentador continuo y control de entrada y salida utilizando la concentración del sustrato de alimentación para manipular las variables que controlan la productividad en el



estado óptimo, determinado fuera de línea como el caso de [46]. Otra estrategias remarkable ha sido la utilización de control por modelo interno, la cual utiliza técnicas no lineales y lineales en el control de bioreactores continuos obteniendo estabilidad en presencia de perturbaciones, ver [48].

## Motivación

Dado el avance de las tecnologías la raza humana ha alcanzado una sobre población la cual impone el reto de producir una cantidad creciente de alimentos, de hecho se estima que en 30 años la población del mundo se duplique, lo que significa grandes retos para todas las áreas de la ciencia. Una mayor cantidad de alimentos con lleva un crecimiento y mejora de los procesos de producción y distribución de productos que son generados en base a materia orgánica proveniente de otros seres vivos. En este sentido muchos de los productos indispensables para la industria alimentaria son provenientes de complicados procesos metabólicos llevados a cabo por microorganismos los cuales son procesados en recipientes nombrados como bioreactores. Los bioreactores son dispositivos industriales en los cuales se llevan a cabo importantes reacciones bioquímicas, como es la producción no solo de alimentos, si no de medicinas o hasta de biopolímeros. En estos procesos intervienen organismos vivos cuyas dinámicas de crecimiento son no lineales y complejas, donde un objetivo predominante es la optimización de la producción de biomasa, por ejemplo. Lo anterior aunado a que la demanda de bioproductos está creciendo en función del crecimiento de la población, nos encontramos entonces con un fuerte problema a resolver que permita garantizar una producción optima asegurando que se cumpla con requerimientos estrictos de calidad. Las técnicas clásicas de control y estimación de estados implementadas en procesos biotecnológicos frecuentemente carecen de propiedades

de robustez ante perturbaciones, por lo que un control de dichos procesos deben ser además robusto ante diferentes perturbaciones que puedan inclusive tomar en cuenta cambios de factores externos como son, temperatura, presión o pH. Es por eso que la motivación principal de este trabajo es encontrar soluciones que pueden contribuir a resolver los problemas mencionados anteriormente, es decir desarrollar técnicas de control y estimación robustas a distorsiones, componentes mal modelados o perturbaciones etxernas de una clase de procesos biotecnológicos.

## **Objetivos de la tesis**

El diseño y aplicación de técnicas de control y estimación robustas para un tipo de procesos biológicos, obteniendo así robustez en la medición y control de variables biológicas ante perturbaciones en la entrada e incertidumbres en el modelo que son muy comunes en dichos procesos.

### **Objetivos particulares**

- 1.- Diseño de estimadores robustos de tipo HG adaptativo para la estimación de estados en presencia de perturbaciones, dicho diseño se hace en base a teoría de convergencia y estabilidad de Lyapunov.
- 2.- Diseño de un controlador de orden reducido para un proceso biológico de tipo flujo límite (over flow, por sus siglas en inglés)
- 3.- Implementación de un observador adaptativo en un proceso de bioquímico en una plataforma Matlab-Arduino para estimar variables en un cultivo por lote.

## 1.1. Publicaciones realizadas

1.- A.E. Rodriguez, J.A. Torres-Muñoz, A.R. Domínguez- Bocanegra, "Robust Control for cultivation of microorganisms in bioreactor fed-batch high density", IEEE latinoamerica, volumen 13, pag-1927-1933, DOI 10.1109/TLA.2015.7164219.

Publicado en Junio del 2015.

2.- A.E. Rodríguez R. Luna-Hernández J.R. Pérez-Correa, J.A. Torres-Muñoz, A.R. Domínguez- Bocanegra, "Control robusto para el cultivo de microorganismos en bioreactores fed-batch de alta densidad", congreso internacional de la comisión de control automatico de chile ACCA 2014, Pag. 165-172, [http://www.researchgate.net/publication/280530595\\_Control\\_Robusto\\_para\\_el\\_cultivo\\_de\\_microorganismos\\_en\\_bioreactores\\_fed-batch\\_de\\_alta\\_densidad](http://www.researchgate.net/publication/280530595_Control_Robusto_para_el_cultivo_de_microorganismos_en_bioreactores_fed-batch_de_alta_densidad)

3.- A.E. Rodriguez, J. Torres y A.R. Domínguez- Bocanegra, "Estimating to substrate in a continuous culture of the *Saccharomyces cerevisiae* through a chained observer", Congreso internacional de la sociedad mexicana de ingeniería química, Acapulco 2014, AMIDIQ.

4.- A.E. Rodriguez, A.R. Dominguez, "Effect of Na<sup>+</sup> on the growth of *Spirulina maxima* in a type of salt water", Congreso internacional de la sociedad mexicana de ingeniería química, Acapulco 2014, AMIDIQ.

5.- A.E. Rodriguez, A.R. Dominguez, J.A. Torres, "Nonlinear PI Control of a perturbed photo-biological plant. Application to *Spirulina maxima* culture", Congreso internacional de la sociedad mexicana de ingeniería química, Acapulco 2014, AMIDIQ.

6.- A. E. Rodriguez, A.R. Dominguez, "Non linear Control PI for a kind photo biological plant. Application to *Spirulina maxima* culture", The Fourth International Symposium on Environmental Biotechnology and Engineering, septiembre 2014.

7.- S. Celikovsky, J. Torres-Muñoz , A.E. Rodríguez-Mata, A.R. Domínguez-Bocanegra, "An adaptive extension to high gain observer with application to wastewater monitoring", 12th International Conference on Electrical Engineering, Computing Science and Automatic Control (CCE) Mexico City, Mexico October 28-30, 2015.

8.- S. Celikovsky, J. Torres-Muñoz , A.E. Rodríguez-Mata, A.R. Domínguez-Bocanegra, "An adaptive extension to high gain observer with application to wastewater monitoring", 12th International Conference on Electrical Engineering, Computing Science and Automatic Control (CCE) Mexico City, Mexico October 28-30, 2015

9.-A. E. Rodriguez , J. Torres Muñoz, J. Pérez-Correa, A. Dominguez , Gerardo R. Flores, Robust State Estimation in Presence of Uncertainty by NL-PI observers. An Application to Continuous Microbial Cultures, authors, IEEE transactions latinoamerica, aceptado en espera de publicación.



# Capítulo 2

## Antecedentes de Modelado de Bioprocesos

### 2.1. Modelo Matemático de un Bioreactor

Un Modelo Matemático es una representación de la realidad en forma de cifras, símbolos matemáticos y funciones, para representar variables de decisión y relaciones que nos permiten describir y analizar el comportamiento de un sistema.

Un bioreactor es un recipiente o sistema que mantiene un ambiente biológicamente activo. En algunos casos, un bioreactor es un dispositivo en el que se llevan a cabo unos procesos químicos o bioquímicos los que involucran organismos vivos, sustancias biológicamente activas derivadas de los organismos presentes en el proceso y variables de control como flujo volumétrico, temperatura o presión. Estos proceso puede ser aeróbico o anaeróbico (en presencia de oxígeno o sin él), la gran mayoría de los procesos de tratamientos biológicos y biotecnológicos se llevan a cabo en este tipo de sistemas. En términos generales, en los procesos biotecnológicos se busca mantener

ciertas condiciones ambientales bajo regulación. Un bioreactor se puede clasificar en función de los flujos de entrada en los mismos:

- 1.-Lote (Batch, sin entradas o salidas de flujo de materia al sistema) y salida.
- 2.-Lote alimentado (Fed-Batch, cuenta solo con entrada a la planta)
- 3.-Continuo o quimiostato (entradas y salidas continuas)

El diseño de los biorreactores es una tarea de ingeniería relativamente compleja y difícil. Los microorganismos o células son capaces de realizar sus funciones metabólicas deseadas con gran eficiencia esto bajo condiciones óptimas. Las condiciones ambientales de un biorreactor tales como flujo de gases (por ejemplo, oxígeno, nitrógeno, dióxido de carbono, etc.), temperatura, pH, oxígeno disuelto y velocidad de agitación o circulación, deben ser cuidadosamente monitoreadas y controladas. La mayoría de los fabricantes industriales de biorreactores usan recipientes, sensores y controladores para su funcionamiento en el sistema de bio-reacción. La misma propagación celular (fenómeno conocido en inglés como Fouling) puede afectar la esterilidad y eficiencia del biorreactor, especialmente en los intercambiadores de calor. Para evitar esto, el biorreactor debe ser fácilmente aseado de ahí sus formas redondeadas. Generalmente se requiere de un intercambiador de calor para mantener el bioproceso a temperatura constante. La fermentación biológica es una fuente importante de calor, por lo que en la mayor parte de los casos, los biorreactores requieren de agua de enfriamiento. Pueden ser refrigerados con una chaqueta externa o con serpentines internos para el caso de recipientes sumamente grandes.

En un proceso aerobico, la transferencia óptima de oxígeno es tal vez la tarea más difícil de lograr. El oxígeno se disuelve poco en agua (y aún menos en caldos fermentados) y es relativamente escaso en el aire (20,8%). La transferencia de oxígeno usualmente se facilita por la agitación que se requiere también para mezclar los nu-

trientes y mantener la fermentación homogénea. Sin embargo, existen límites para la velocidad de agitación, debidos tanto al alto consumo de energía (que es proporcional al cubo de la velocidad del motor) como al daño ocasionado a los organismos debido a un esfuerzo de corte excesivo. Los biorreactores industriales usualmente emplean bacterias u otros organismos simples que pueden resistir la fuerza de agitación. También son fáciles de mantener ya que requieren sólo soluciones simples de nutrientes y pueden crecer a grandes velocidades. En los biorreactores utilizados para crecer células o tejidos, el diseño es significativamente distinto al de los biorreactores industriales. Muchas células y tejidos, especialmente de mamífero, requieren una superficie u otro soporte estructural para poder crecer y los ambientes agitados son inadecuados para estos tipos de células y tejidos. Los organismos superiores también requieren medios de cultivo más complejos. El diseño en bioingeniería no es solo la aplicación de conceptos básicos y teóricos que con lleven a lograr un prototipo. Para la realización íntegra de un modelo, otra gran parte, trata de la adaptación creativa y de la utilización del ingenio propio para lograr el objetivo de conjuntar el ambiente biológico de un cultivo vivo con el ambiente artificial de un dispositivo controlado; este es el resultado denominado biorreactor o reactor biológico. Un biorreactor, definiéndolo de una nueva forma, es por tanto un dispositivo biotecnológico que debe proveer internamente un ambiente controlado que garantice y maximice la producción y el crecimiento de un cultivo vivo; esa es la parte biológica. Externamente el biorreactor es la frontera que protege ese cultivo del ambiente externo: contaminado y no controlado. El biorreactor debe por tanto suministrar los controles necesarios para que la operación o proceso (bioproceso) se lleve a cabo con economía, alto rendimiento (productividad) y en el menor tiempo posible; esa es la parte tecnológica.

En los reactores biológicos, a diferencia de los químicos, su cinética no está deter-





Figura 2.1: Bioreactor en fase-Batch

minada exclusivamente por la velocidad de reacción y las variables que la determinan. De hecho, la cinética biológica también depende de características intrínsecas del organismo o cultivo, tales como: crecimiento, tasa de división celular y así como del tipo de operación que se lleve a cabo. Por eso, lo primero que se define en el diseño de un biorreactor es el propósito de utilización; es decir, qué tipo de cultivo se va a utilizar, el modo de operar y/o el proceso de cultivo. El conjunto biorreactor-sistema de cultivo debe cumplir con los siguientes objetivos:

- 1.-Mantener las células uniformemente distribuidas en todo el volumen de cultivo.
- 2.-Mantener constante y homogénea la temperatura.
- 3.- Minimizar los gradientes de concentración de nutrientes.
- 4.-Prevenir la sedimentación y la floculación.
- 5.-Permitir la difusión de gases nutrientes a la velocidad requerida por el cultivo.
- 6.-Mantener el cultivo puro.
- 7.-Mantener un ambiente aséptico.

8.-Maximizar el rendimiento y la producción.

9.-Minimizar el gasto y los costos de producción.

10.- Reducir al máximo el tiempo.

Una fermentación es un proceso biológico o bioproceso que consiste en la descomposición de la materia orgánica por microorganismos fermentadores (bacterias y hongos).

### 2.1.1. Condiciones de Crecimiento Específico

Un proceso de crecimiento celular implica consumo de sustrato, este suministra energía y materia prima necesaria tanto para la síntesis de materia celular como para el mantenimiento celular. La reproducción celular de microorganismo es un fenómeno muy complejo que está íntimamente ligado a condiciones ambientales y nutricionales, así como su relación con otras especies.

La razón de crecimiento específico a lo cual se la ha asignado la variable  $\mu(t)$  es un parámetro con variación en el tiempo y está influenciado por factores como: concentración de sustrato  $s$ , concentración de biomasa  $x$ , concentración del producto  $p$ , pH, temperatura  $T$ , concentración de oxígeno disuelto  $C$ , posibles inhibidores de crecimiento  $I$ .

Todo lo dicho anteriormente se puede ver reflejado en el término que denota la razón de crecimiento neta, esta se muestra en lo siguiente:

$$\mu(t) = \mu(s, x, P, pH, T, C, I)$$

donde los terminos ya definidos con anterioridad indican que en general dicho parámetro puede depender de un gran número de variables. Sin embargo, se hace referencia a que para cada tipo de cultivo, proceso o sistema a ser modelado este parámetro asume una forma particular. En la siguiente tabla se muestran algunas formas en

las que se debe estructurar las condiciones de crecimiento en base al sustrato. Cabe señalar que en todo este trabajo se empleara la estructura de tipo Monod:

## 2.2. Modelado de bioreactor en fase continua

El balance de materia se puede escribir incluyendo las entradas y salidas de materia correspondientes a la fase continua del bioreactor:

$$\textit{Acumulación} = \textit{Entradas} - \textit{Salidas} + \textit{Generación} - \textit{Consumo} \quad (2.1)$$

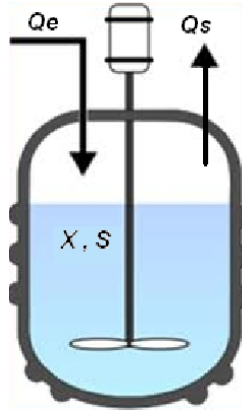


Figura 2.2: Diagrama de un bioreactor en fase continua

Al igual que en el caso para el bioreactor en fase Batch es necesario hacer el balance (2.1) para todos los miembros participantes en la dinámica de crecimiento microbiano. En este trabajo solo se considera sustrato y biomasa. Por lo que se obtiene el siguiente modelo matemático:

$$\frac{dx}{dt} = \mu(s)x + Q_{Ent}x_e - Q_{Sal}x \quad (2.2)$$

$$\begin{aligned} \frac{ds}{dt} &= -\frac{1}{Y}\mu(s)x + Q_{Ent}s_e - Q_{Sal}s \\ \mu(s) &= \frac{\mu_{\max}s}{K_s + s} \end{aligned} \quad (2.3)$$

Donde  $Q_{Ent}$  y  $Q_{sal}$  son los flujos de entrada y salida respectivamente en el bioreactor y  $s_e$  es la concentración de sustrato en la entrada del bioreactor. Si se hace el balance global de materia dentro del bioreactor se tiene que,

$$\dot{M} = Q_{Ent}M - Q_{sal}M \quad (2.4)$$

Y ya que todo lo que tiene que entrar tiene que salir en el bioreactor, se resuelve (2.4) y se obtiene:

$$M(t) = M_0 e^{(Q_{Ent} - Q_{sal})t} \quad (2.5)$$

Es facil ver que para  $Q_{Ent}, Q_{sal} \in \mathbb{R}$ , cuando  $Q_{Ent} < Q_{sal}$  y  $t \rightarrow \infty$  entonces  $M(t) \rightarrow 0$ . Por otro caso cuando  $Q_{Ent} > Q_{sal}$  y el tiempo  $t \rightarrow \infty$  entonces  $M(t) \rightarrow \infty$ . Por lo que el análisis anterior nos muestra que si el flujo de entrada es mayor que el de salida la masa en el bioreactor crecerá exponencialmente, y si el flujo de entrada es menor que el de salida el bioreactor se vaciara. Por lo que la única solución para que el sistema se mantenga estable es que los flujos sean iguales ya que para

$$\forall Q_{Ent} = Q_{sal} \rightarrow M(t) = M_0 e^{(0)t} = M_0'$$

### 2.3. Modelo de Estados

La teoría de control moderna está basada en el comportamiento interno de un sistema dinámico, donde las variables que influyen en está constituyen el estado del sistema. El conocimiento del comportamiento y evolución de todas las variables que influyen en la dinámica del sistema permiten efectuar un control más potente y a su vez abordar el control de sistemas más complejos.

Uno de los grandes problemas de la teoría clásica de control es que no pueden resolver algunas limitaciones fuertes que presenta un sistema dinámico, es por ello que la teoría de control moderna se desarrolla basada en el modelado de la relación entre una entrada y una salida de los sistemas dinámicos lineales de parámetros constantes.

Las ventajas de la teoría de control moderna son fundamentalmente las siguientes:

a) Es aplicable a sistemas multivariables en los que existe un elevado grado de interacción entre las variables del sistema, no pudiendo establecer bucles de control entre una salida y una entrada concreta que se puedan ajustar de forma independiente según se aborda en la teoría clásica.

b) Es aplicable a sistemas con relaciones no-lineales entre las variables involucradas en su dinámica y cuyo comportamiento no puede ser aproximado por un modelo lineal, dentro del rango de los valores que van a tomar sus variables.

c) Es aplicable a sistemas cuyos parámetros varían en el tiempo a velocidades comparables con la evolución de sus variables, para los que no se puede obtener, en consecuencia, un modelo de parámetros constantes válido en el rango temporal necesario para efectuar el control.

d) Es aplicable a sistemas complejos de control, con un gran número de variables internas que condicionan el comportamiento futuro de la salida la utilización de la

realimentación.

e) Es aplicable a la optimización del comportamiento de sistemas, entendida esta como la minimización de una función objetiva que describe un índice de costo que a su vez refleja la calidad de los objetivos de control.

Es importante mencionar que las ventajas ya mencionadas con anterioridad son abordadas para distintas ramas de control como son:

- 1.-Control multivariable
- 2.-Control no lineal
- 3.-Control adaptativo
- 4.-Control por asignación de polos
- 5.-Control óptimo

### 2.3.1. Ecuaciones del Modelo de Estados

La teoría de estados representa un formalismo para el análisis y síntesis de sistemas de dinámicos, por ejemplo el diseño de observadores y de controladores basados en el análisis de estabilidad. Los sistemas son considerados como relaciones funcionales entre el concepto de entrada y salida (relación causa-efecto) y dentro de la teoría moderna se añaden otro conjunto de variables, a las que se llama estados que corresponde a descripción de fenómenos internos. De esta manera, suponiendo que el estado contiene toda la información del sistema en un determinado instante, es posible entonces definir una relación de la salida con éste y con la entrada. Dicha relación se establece mediante una ecuación de la forma:

$$y(t) = \eta(t, x(t), u(t)) \quad (2.6)$$

donde se puede observar que la salida en el instante  $t$  solo depende del tiempo, del estado y de la entrada en ese instante, no del estado y de la entrada en instantes anteriores.

Los modelos de estado más utilizados en la Teoría de Control de Sistemas Dinámicos se basa en representaciones diferenciales descritas de manera siguiente,

$$\dot{x}(t) = f(t, x(t), u(t)) \quad (2.7)$$

$$y(t) = \eta(t, x(t), u(t)) \quad (2.8)$$

donde la ecuación (2.7) se le llama ecuación de estado que representa la dinámica de la evolución del estado del sistema y la ecuación (2.8) se le llama ecuación de salida. Se le llama orden del modelo al número de variables de estado que intervienen en la ecuación (2.7).

De estas ecuaciones se intuye la continuidad de las trayectorias, que la dimensión del vector de estado coincide con el número mínimo de condiciones iniciales necesarias para resolver la ecuación de estado y que pueden considerarse como variables de estado las salidas de los integradores.

Los sistemas de tipo (2.7) utilizados a largo de este trabajo son el modelo continuo para un bioreactor y un modelo matemático que representa la complicada ruta metabólica de oxidación de tipo over-flow.

El modelo matemático del tipo utilizado en la estimación de estados a través de observadores adaptativos de alta ganancia es el siguiente:

$$\frac{dx}{dt} = \mu(s)x - Dx$$

$$\frac{ds}{dt} = -\frac{1}{Y}\mu(s)x + D(s_e - s) \quad (2.9)$$

$$\mu(s) = \frac{\mu_{\text{máx}}s}{K_s + s} \quad (2.10)$$

donde  $D$  es la razón de dilución de alimentación ( $D$ ) y es la única variable de la que se dispone para modificar el comportamiento dinámico del cultivo continuo en un bioreactor. Este último modelo utilizado será el que se considera en el capítulo siguiente y por lo cual detallado más adelante.

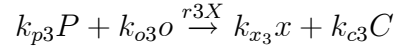
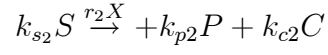
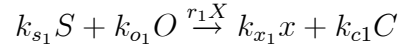
Otro modelo remarcable será el modelo en fase feed-batch sobre el metabolismo over flow, este será expuesto ampliamente en el

capítulo 3 de este manuscrito.

$$\begin{aligned} \dot{x} &= (k_{x1}r_1 + k_{x2}r_2 + k_{x3}r_3)x - \frac{u}{v}x \\ \dot{s} &= -(k_{s1}r_1 + k_{s2}r_2)x - \frac{u}{v}(s - s_{in}) \\ \dot{p} &= -(k_{p2}r_2 + k_{p3}r_3)x - \frac{u}{v}p \\ \dot{o} &= -(k_{o1}r_1 + k_{o3}r_3)x - \frac{u}{v}o + OTR \\ \dot{c} &= -(k_{c1}r_1 + k_{c2}r_2 + k_{c3}r_3)x - \frac{u}{v}o + CTR \\ \dot{v} &= u \end{aligned} \quad (2.11)$$

donde  $x$  denota la variable biomasa,  $s$  a la glucosa,  $p$  al etanol,  $o$  al oxígeno,  $c$  al  $\text{CO}_2$ ,  $v$  el volumen general del reactor y  $u$  representa el flujo de entrada. En tanto que, los parámetros  $k_i$  representan los rendimientos de la siguiente reacción metabólica:





$$r_1 = \min(r_s, r_{crit}) \quad (2.12)$$

$$r_2 = \max(0, r_s - r_{crit})$$

$$r_3 = \frac{\max(0, \frac{k_{os}}{k_{op}}(r_s - r_{crit})\frac{p}{p+k_p})}{k_{p3}}$$

$$r_s = \frac{\mu_{\max,s}S}{s + k_s}$$

$$r_{crit} = \frac{1}{k_{os}} \frac{\mu_{\max,o}O}{s + k_o} \frac{k_{ip}}{P + k_{ip}}$$

# Capítulo 3

## Observador de alta ganancia adaptativo para un bioproceso

### 3.1. Introducción

Se ha demostrado que cuando los sistemas no lineales presentan entradas universales y son detectables siempre es posible transformar el sistema no lineal en un sistema cuasi-lineal triangular. Una gran parte de las propiedades de un observador lineal son aplicables a dichos sistemas. La observabilidad para sistemas no lineales fue estudiada de manera amplia por la notable investigación mostrada en [21]. A partir de esta investigación se ha estudiado de manera más compleja las condiciones de observabilidad no lineal, donde más específicamente se ha estudiado el caso en donde se tiene sistemas con parámetros desconocidos, esto fue estudiado en las década de los años 70's del siglo pasado, ver por ejemplo [22]. Para el caso de multientradas y multisalidas en sistemas lineales, siempre y cuando estos sean detectables y se cuente con la propiedad de excitación persistente (PE), con esta restricción los parámetros

desconocidos siempre serán posibles de estimar en línea. Este tipo de estimadores de estados con estabilización exponencial fueron propuestos por ejemplo en [62]. Este tipo de conceptos puede ser extendido a algunos tipos de sistemas no lineales los cuales cuentan con buenas propiedades de entradas e inyección de salida, donde al igual se debe cumplir el concepto de PE. Algunos estudios teóricos sobre esto fueron propuestos en la década de los 80's del siglo pasado como el caso de [52] y en la década de los 90 los más sobresalientes sobre este tema [29, 66, 67]. Actualmente hay algunos trabajos y resultados para tratar este tema como los son los mostrados en [40, 65, 67]. Como alternativa al concepto de adaptabilidad se han considerado varias técnicas de tipo modos deslizantes (Slide Mode) [ 57, 38] o las de alta ganancia como las mostradas en [61].

El campo de la investigación de observadores actual es muy amplio, incluyendo el diseño de observadores para sistemas implícitos y sistemas descriptores [51, 59], con retardo en el tiempo [60] y sistemas de orden fraccional [64]. El concepto de observador también es aplicable en detección y control robusto a fallas [62, 63]. En este trabajo nos concretaremos en el concepto de observadores de tipo adaptativos y su uso para la detección de distorsiones en el sistema.

Como ya se ha señalado, el diseño de observadores para plantas con incertidumbre en el modelo es una tarea especialmente difícil. Mientras que algún tipo de perturbaciones acotadas variantes en el tiempo han sido tratadas más típicamente con observadores de alta ganancia, probando propiedades de robustez [19, 61] o también a través de modos deslizantes [34, 57], la perturbación constante desconocida puede ser tratada a través de observadores adaptativos. La combinación de ambos enfoques robustos y adaptables se puede encontrar en [68,58]. Los observadores de adaptación están divididos en estáticos y dinámicos. El Primer grupo sólo se suma una ecuación diferencial para los parámetros de estimación, esta tiene la misma dimensión que la

del vector de parámetros desconocidos. El segundo añade ecuaciones dinámicas extras para una mejor adaptación de dichos parámetros desconocidos. Se han obtenido resultados resaltables par este caso, ver [65, 66, 67].

Ahora, a la vista de estos resultados, el objetivo de esta parte de esta tesis es doble. En primer lugar proporcionar combinación del enfoque teórico de alta ganancia con los observadores adaptativos dinámicos. En segundo lugar, el uso de estos resultados, para hacer frente a una importante problema práctico en la estimación de estados en presencia de perturbaciones en el tratamiento de aguas residuales. La clase de sistemas a los cuales los observadores adaptativos pueden diseñarse son los llamados *sistemas estrictamente triangulares (SET)* [66], pero se supone que la perturbación entra en cada fila de dicho sistema **SET**, [65]. A menudo para el diseño de sistemas de observadores no lineales, incluyendo los adaptativos, se hace la suposición sobre la naturaleza Lipschitz del sistema para poder ser tratado a través de técnicas de estimación de estados, ver por ejemplo [51, 55, 58, 63].

## 3.2. Antecedentes: Un observador no lineal

Un observador es un sistema dinámico que tiene como tarea la estimación en línea de estados o variables de salida que no son medibles. La teoría de observadores aparece ante la necesidad de contar con información parcial o total de los estados de un sistema dinámico dado que, por ejemplo, algunas técnicas de control requieren de la información completa de los estados.

Consideremos un tipo de sistema no lineal de dimensión finita, con una sola entrada y una sola salida (SISO) descrito por el siguiente conjunto de ecuaciones diferenciales:

$$\dot{x} = \begin{pmatrix} x_2 \\ x_3 \\ \vdots \\ x_n \\ 0 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} f_1(x_1) \\ f_2(x_1, x_2) \\ \vdots \\ f_{n-1}(x_1, \dots, x_{n-1}) \\ f_n(x_1, \dots, x_n) \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} g_1(x_1) \\ g_2(x_1, x_2) \\ \vdots \\ g_{n-1}(x_1, \dots, x_{n-1}) \\ g_n(x_1, \dots, x_n) \end{pmatrix} u \quad (3.1)$$

$$y = x_1$$

donde  $x(t)$  es de  $n$ - dimensión, mientras que la entrada  $u(t)$  y la salida  $y(t)$  son escalares. El sistema anterior puede ser escrito de la siguiente forma compacta:

$$\dot{x} = A_0 x + f(x) + g(x)u, \quad y = h(x), \quad (3.2)$$

donde los campos de funciones  $f(x)$ ,  $g(x)$  son Lipschitz y  $C^\infty$ , tal que se obtiene lo siguiente:

$$A_0 = \begin{bmatrix} 0 & 1 & 0 & 0 \\ \vdots & & \ddots & \\ & & & 1 \\ 0 & \dots & & 0 \end{bmatrix}, \quad f(x) = \begin{pmatrix} f_1(x_1) \\ f_2(x_1, x_2) \\ \vdots \\ f_{n-1}(x_1, \dots, x_{n-1}) \\ f_n(x_1, \dots, x_n) \end{pmatrix}, \quad (3.3)$$

$$g = \begin{pmatrix} g_1(x_1) \\ g_2(x_1, x_2) \\ \vdots \\ g_{n-1}(x_1, \dots, x_{n-1}) \\ g_n(x_1, \dots, x_n) \end{pmatrix}, \quad h(x) = x_1. \quad (3.4)$$

Note que el sistema (3.2-3.4) presenta una estructura triangular, por lo que será llamado sistema en su *forma triangular estricta (STE)*, este tipo de sistema será tratado a largo del capítulo presente.

Se propone el siguiente sistema como observador **STE** del sistema anterior.

**Definición 1** *Observador STE*

Sea el siguiente sistema dinámico

$$\begin{aligned}\dot{z}(t) &= A_0 z(t) + f(z) + g(z)u(t) + \alpha(z, u, y) \\ z(t) &= \beta(z, u, y)\end{aligned}\tag{3.5}$$

donde  $z \in R^n$ , el sistema anterior es un observador asintótico de (3.2-3.4) si dados  $z_0, x_0 \in R^n$  y toda entrada  $u(t)$  acotada si cumple:

$$\begin{aligned}i) \quad z_0 = x_0 &\implies z(t, t_0) = x(t, t_0), t \geq 0 \\ ii) \quad \lim_{t \rightarrow \infty} \|z(t) - x(t)\| &= 0\end{aligned}$$

Donde  $x(t, t_0)$  es la solución de (3.2-3.4),  $x(t_0, t_0) = x_0$  mientras  $z(t, t_0)$  es la función solución de (3.5) con  $z(t_0, t_0) = z_0$ . El observador será globalmente asintótico si las condiciones **i)** y **ii)** se cumplen para todo  $z_0, x_0 \in R^n$ .

Enseguida se presenta uno de los resultados más referidos de observador de altas ganancias para el sistema STE (3.2-3.4), para el cual se presenta una prueba alternativa cuya notación y argumentación nos será útil para lo que resta de capítulo.

**Teorema 1** *Observador de alta ganancia (prueba alternativa).*

*Suponga que los campos de vectores en (3.2-3.4) son globalmente Lipschitz. En-*

tonces para cualquier  $n$ -tupla de ganancias  $l_1, l_2, \dots, l_n$  la matriz:

$$A_l = \begin{bmatrix} l_1 & 1 & 0 & \cdots & 0 \\ l_2 & 0 & 1 & \ddots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \ddots & \ddots & 0 \\ l_{n-1} & 0 & \cdots & 0 & 1 \\ l_n & 0 & \cdots & 0 & 0 \end{bmatrix} \quad (3.6)$$

es Hurwitz, existe un número real  $r > 0$  tal que el siguiente sistema,

$$\begin{aligned} \dot{z} = & \begin{bmatrix} z_2 \\ z_3 \\ \vdots \\ z_n \\ 0 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} f_1(x_1) \\ f_2(x_1, z_2) \\ \vdots \\ f_{n-1}(x_1, z_2, \dots, z_{n-1}) \\ f_n(x_1, z_2, \dots, z_n) \end{bmatrix} \\ & + \begin{bmatrix} g_1(x_1) \\ g_2(x_1, z_2) \\ \vdots \\ g_{n-1}(x_1, z_2, \dots, z_{n-1}) \\ g_n(x_1, z_2, \dots, z_n) \end{bmatrix} u + \begin{bmatrix} rl_1 \\ r^2l_2 \\ \vdots \\ r^{n-1}l_{n-1} \\ r^nl_n \end{bmatrix} (z_1 - x_1) \end{aligned} \quad (3.7)$$

es un observador exponencial de (3.2-3.4), siempre que las trayectorias de estado inicien en el interior de  $\Omega$  y que el estado inicial del observador se encuentre suficientemente cerca de éste. Si  $\Omega = R^n$  entonces el observador correspondiente será un observador exponencial global.

Este teorema ha sido tratado en la literatura a través de varios puntos de vista. En este trabajo se propone una prueba alternativa para dar consistencia a las secciones que siguen, que además permite obtener un valor razonable del parámetro de **alta-ganancia**  $r > 0$ , lo que incluye una forma constructiva de obtener dicho parámetro.

**Demostración 1.**

La dinámica del error de estimación  $e = z - x$ , está dada por:

$$\dot{e} = \begin{bmatrix} e_2 \\ e_3 \\ \vdots \\ e_n \\ 0 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} rl_1 \\ r^2l_2 \\ \vdots \\ r^{n-1}l_{n-1} \\ r^nl_n \end{bmatrix} e_1 + \begin{bmatrix} 0 \\ k_2(x_1, z_2, u) - k_2(x_1, x_2, u) \\ \vdots \\ k_{n-1}(x_1, z_2, \dots, z_{n-1}, u) - k_{n-1}(x_1, x_2, \dots, x_{n-1}, u) \\ k_n(x_1, z_2, \dots, z_n, u) - k_n(x_1, x_2, \dots, x_n, u) \end{bmatrix} \quad (3.8)$$

donde  $k_i(\cdot, u) = f_i(\cdot) + g_i(\cdot)u$  (para  $i = 1, \dots, n$ ). La ecuación (3.8) puede escribirse de la siguiente forma:

$$\dot{e} = \begin{bmatrix} rl_1 & 1 & 0 & \cdots & 0 \\ r^2l_2 & 0 & 1 & \ddots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \ddots & \ddots & 0 \\ r^{n-1}l_{n-1} & 0 & \cdots & 0 & 1 \\ r^nl_n & 0 & \cdots & 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} e_1 \\ e_2 \\ e_3 \\ \vdots \\ e_n \end{bmatrix} + U(t) \begin{bmatrix} e_1 \\ e_2 \\ e_3 \\ \vdots \\ e_n \end{bmatrix}$$

donde la matriz  $U(t)$  tiene la forma:

$$U(t) = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 & \cdots & 0 \\ u_{21} & u_{22} & 0 & \ddots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & 0 \\ u_{n-1,1} & u_{n-1,2} & \cdots & u_{n-1,n-1} & 0 \\ u_{n1} & u_{n2} & \cdots & u_{n,n-1} & u_{nn} \end{bmatrix}, \quad (3.9)$$



$$u_{i,j}(t) = \frac{k_i(x_1, \dots, x_{j-1}, z_j, x_{j+1}, \dots, x_n, u) - k_i(x_1, \dots, x_n, u)}{z_j - x_j}, \quad (3.10)$$

$$i = \overline{1, n}, j = \overline{1, i}. \quad (3.11)$$

Por otra parte, denotemos por  $\|\cdot\|$  a una norma matricial adecuada compatible con la norma vectorial Euclideana. Ahora bien, por la condición de Lipchitz sabemos que existe una constante fija  $M > 0$  tal que;

$$\|U(t)\| \leq M, \quad \forall t \geq t_0. \quad (3.12)$$

lo anterior siempre que, tanto la trayectoria por observarse como su estimado se encuentren en el conjunto donde el sistema (3.2-3.4) satisface la propiedad Lipchitz uniforme. Es claro que en el caso Lipchitz global en  $R^n$  la desigualdad anterior obviamente se cumple, mientras que en el caso de la propiedad Lipchitz en  $\Omega \subset R^n$  tal desigualdad se cumple siempre que la dinámica del error sea exponencialmente estable y el error inicial sea suficientemente pequeño. En resumen, ambas afirmaciones, por verificarse, son ciertas cuando la dinámica del error es estable para algún  $r > 0$ .

Para continuar, recordemos que las ganancias  $l_1, \dots, l_n$  son escogidas tal que  $A_l$  is Hurwitz, por lo que existe una matriz  $S = S^T > 0$ , tal que:

$$SA_l + A_l^T S = -I.$$

ahora, para todo  $r > 0$  se introduce la matriz:

$$\begin{aligned} S(r) & : = \Theta^{-1}(r)S\Theta^{-1}(r) \\ \Theta(r) & = \text{diag}(1, r, \dots, r^{n-1}) \end{aligned}$$

Notamos que, para todo  $r > 0$ ,  $S(r)$  es una matriz definida positiva puesto que  $\Theta(r)$  es una matriz diagonal y no singular. Por simplicidad de notación se introduce la

matriz  $A(r)$  siguiente:

$$A(r) = \begin{bmatrix} rl_1 & 1 & 0 & \cdots & 0 \\ r^2l_2 & 0 & 1 & \ddots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \ddots & \ddots & 0 \\ r^{n-1}l_{n-1} & 0 & \cdots & 0 & 1 \\ r^nl_n & 0 & \cdots & 0 & 0 \end{bmatrix}$$

en particular,  $A(0) = A$ ,  $A(1) = A_l$ ,  $\Theta(1) = I_n$ ,  $S(1) = S$  y para toda  $r > 1$

$$\Theta^{-1}(r)A(r)\Theta(r) = rA_l, \quad \|S(r)\| \leq \|S\|, \quad \|\Theta^{-1}(r)x\| \leq \|x\|, \quad (3.13)$$

Note que  $S(r)$  es simétrica ya que  $S$  es simétrica y  $[\Theta^{-1}(r)]^T = \Theta^{-1}(r)$  por la diagonalidad de  $\Theta(r)$ . Por otra parte,  $S(r)$  es positiva definida, por lo que

$$e^T S(r)e = e^T \Theta^{-1}(r)S\Theta^{-1}(r)e = [\Theta^{-1}(r)e]^T S [\Theta^{-1}(r)e] > 0, \quad \forall e \neq 0$$

donde la última desigualdad es consecuencia de  $S$  definida positiva. Se propone la siguiente función de Lyapunov

$$V_r(x) = x^T S(r)x$$

cuya derivada bajo las trayectorias de (3.8) está dada por

$$\frac{dV_r(e)}{dt} = e^T [S(r)A(r) + A(r)^T S(r)] e(t) + e^T \tilde{A}_r e(t)$$

donde  $\tilde{A}_r(t) = S(r)U(t) + U(t)^T S(r).l_1 > 0$

$$\begin{aligned} \frac{dV_r(e)}{dt} &= e^T [\Theta^{-1}(r)S\Theta^{-1}(r)A(r) + A(r)^T \Theta^{-1}(r)S\Theta^{-1}(r)] e(t) + e^T \tilde{A}_r e(t) \\ &= [\Theta^{-1}(r)e]^T \left[ S\Theta^{-1}(r)A(r)\Theta(r) + (\Theta^{-1}(r)A(r)\Theta(r))^T S \right] [\Theta^{-1}(r)e(t)] + e^T \tilde{A}_r e(t) \\ &= r [\Theta^{-1}(r)e]^T [SA_l + A_l^T S] [\Theta^{-1}(r)e(t)] + e^T \tilde{A}_r e(t) \end{aligned}$$

donde la penúltima igualdad es de (3.13). Por lo que:

$$\frac{dV_r(e)}{dt} = -r [\Theta^{-1}(r)e]^T [\Theta^{-1}(r)e(t)] + e^T \tilde{A}e(t) = -r \|\Theta^{-1}(r)e\|^2 + e^T \tilde{A}_r e(t)$$

Por lo propiedad global de Lipschitz se cumple lo siguiente:

$$\|\tilde{A}_r\| \leq 2M \|S\|, \quad \forall t \in R, \forall r \geq 1,$$

tal que:

$$\frac{dV_r(e(t))}{dt} \leq -r \|\Theta^{-1}(r)e\|^2 + 2M \|S\| \|e\|^2 \leq -(r - 2M \|S\|) \|e\|^2$$

donde la desigualdad (3.13) fue usada nuevamente. Para toda  $r > 2M \|S\|$ , se cumple lo siguiente:

$$\frac{dV_r(e(t))}{dt} \leq -K \|e\|^2, \quad K := (r - 2M \|S\|) > 0,$$

Por lo que el sistema es asintóticamente estable, completandose así la prueba del teorema.

□

Finalmente, observe que  $r$  puede ser determinada de manera constructiva y más aún se puede pensar en la optimización de tal ganancia por medio de una selección adecuada de la matriz  $S$  y las ganancias  $l_1, l_2, \dots, l_n$ .

### 3.3. Resultados principales

En general, la estimación de estados se puede perder cuando el sistema está sujeto a perturbaciones externas que actúan sobre el sistema, a menos que estas sean tratadas de manera adecuada. Lo anterior depende fuertemente de las clase de perturbación a tratar. En esta sección, se consideran perturbaciones constantes de rango conocido. Para lo cual, consideraremos el sistema perturbado siguiente

$$\dot{x} = A_0x + f(x) + g(x)u + p(x)\delta \quad (3.14)$$

$$y = x_1 = cx \quad (3.15)$$

$$c = [1, 0, \dots, 0] \quad (3.16)$$

donde  $f(x), g(x)$  son como en (3.3,3.4) mientras  $p(x)$  es un campo vectorial estrictamente triangular tal como  $f, g$  solo son. Además,  $x \in R^n$  es el vector de estados, mientras  $y, u, \delta$  son funciones escalares de salida, entrada y parámetro constante. Se asume las mismas propiedades Lipschitzianas como en el Teorema 1 anteriormente mostrado.

En primer lugar, en aras de la integridad conceptual, se reescribe la conocida definición de la excitación persistente y sus propiedades, véase, por ejemplo [25].

**Definición 2** *Excitación persistente.*

Una función acotada y continua por pedasos  $\varphi(t) \in R^n$  se dice que satisface la condición de excitación persistente (PE) si existen  $\alpha, \beta \in R$ ,  $0 < \alpha \leq \beta$  y  $T > 0$  tal que  $\forall t \geq 0$  se cumple lo siguiente:

$$\alpha \leq \int_t^{t+T} \varphi^T(\tau)\varphi(\tau)d\tau \leq \beta$$

**Lema 1** *Convergencia de la excitación persistente.*

Sea  $\varphi(t) \in R^n$  una función que cumple con la condición de excitación persistente, entonces se cumple que el sistema

$$\dot{\eta} = -\varphi^T(t)\varphi(t) \cdot \eta, \quad \eta \in R$$

es globalmente exponencialmente estable.

Ahora, con dichas condiciones mostradas anteriormente, es posible presentar la principal aportación de este trabajo la cual es la combinación del concepto de alta ganancia y una adaptación dinámica como la mostrada en [39,41].

**Teorema 2** *Observador adaptativo de alta ganancia.*

Se concidera el siguiente (3.14) con una perturbación constante  $\delta \in R$ . Se denota respectivamente  $F(z), G(z), P(z)$  las matrices jacobianas de  $f(z), g(z), p(z)$  en  $z$ . Entonces, para cualquier  $n$ -uplas de ganancias  $l_1, l_2, \dots, l_n$  tal que la matriz  $A_l$  definida en (3.6) es Hurwitz y para  $k > 0$ , existe  $r > 1$  y  $\delta_0 > 0$  tal que para todo  $\phi_0 \in (\delta - \delta_0, \delta + \delta_0)$  el siguiente sistema

$$\begin{aligned}\dot{z} &= A_0 z + f(z) + g(z)u + [l_1 r, \dots, l_n r^n]^\top z_1 + p(z)\phi + \gamma(t)\dot{\phi} \\ \dot{\phi} &= -k\gamma^\top(t)c^\top ce, \quad \phi(0) = \phi_0, \\ \dot{\gamma}(t) &= [A(r) + F(z) + G(z)u + P(z)\phi]\gamma(t) + p(z)\end{aligned}\tag{3.17}$$

es un observador adaptativo exponencial (3.14) a condición de que  $\gamma^\top(t)c^\top$  sea una señal con excitacion persistente.

**Demostración 2**

Primero, notamos que el error  $e(\cdot)$  tiene la siguiente dinámica

$$\dot{e} = A(r)e + [f(z) + g(z)u - f(z - e) - g(z - e)u] + p(z)\phi - p(z - e)\delta + \gamma(t)\dot{\phi}$$

lo cual puede ser expresado

$$\dot{e} = A(r)e + [f(z) + g(z)u - f(z - e) - g(z - e)u + p(z)\phi - p(z - e)\phi] + p(z - e)(\phi - \delta) + \gamma(t)\dot{\phi}$$

Se propone el error de estimacion de parametro  $\epsilon$ , en base a lo siguiente:

$$\epsilon := \phi - \delta$$

por lo que es claro que

$$\dot{\epsilon} = \dot{\phi}\tag{3.18}$$

Además, se introduce el error combinado  $\bar{e}$  de la manera siguiente

$$\bar{e} = e - \gamma(t)\epsilon$$

Ahora, de las ecuaciones del sistema, del observador y las de adaptación, se tiene que

$$\dot{\bar{e}} = \dot{e} - \dot{\gamma}(t)\epsilon - \gamma(t)\dot{\epsilon} = A(r)e +$$

$$\begin{aligned} & [f(z) + g(z)u - f(z-e) - g(z-e)u + p(z)\phi - p(z-e)\phi] + p(z-e)(\phi - \delta) + \gamma(t)\dot{\phi} - \dot{\gamma}(t)\epsilon - \gamma(t)\dot{\epsilon} = \\ & = A(r)e + [f(z) + g(z)u + p(z)\phi - f(z-e) - g(z-e)u - p(z-e)\phi] + p(z-e)(\phi - \delta) - \dot{\gamma}(t)\epsilon \end{aligned}$$

y por lo tanto

$$\begin{aligned} \dot{\bar{e}} &= A(r)e + [f(z) + g(z)u + p(z)\phi - f(z-e) - g(z-e)u - p(z-e)\phi] + p(z-e)(\phi - \delta) \\ &\quad - [[A(r) + F(z) + G(z)u + P(z)\phi]\gamma(t) + p(z)]\epsilon = A(r)e + (p(z-e) - p(z))\epsilon - \\ & [A(r) + F(z) + G(z)u + P(z)]\gamma(t)\epsilon + [f(z) + g(z)u + p(z)\phi - f(z-e) - g(z-e)u - p(z-e)\phi] = \\ & = A(r)e - A(r)\gamma(t)\epsilon + (p(z-e) - p(z))\epsilon \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & [f(z - \gamma\epsilon) + g(z - \gamma\epsilon)u + p(z - \gamma\epsilon)\phi - f(z-e) - g(z-e)u - p(z-e)\phi] + o(\gamma\epsilon) = \\ & = A(r)\bar{e} + (F(z^*) + G(z^*)u + P(z^*)\phi)\bar{e} + o(\gamma\epsilon) + (p(z - \bar{e} - \gamma(t)\epsilon) - p(z))\epsilon \end{aligned}$$

aquí  $z^*$  es algún valor del vector de estados. Con lo cual se tiene

$$\dot{\bar{e}} = A(r)\bar{e} + (F(z^*) + G(z^*)u + P(z^*)\phi)\bar{e} + o([\epsilon, \bar{e}]^\top) \quad (3.19)$$

Ahora, recordando que las matrices  $F(z^*)$ ,  $G(z^*)$ ,  $P(z^*)$  son estrictamente triangulares y acotadas, por otro lado fijando una  $r$  suficientemente grande tal como el *Teorema 1* anterior, se tiene que:

$$\bar{e}(t) \rightarrow 0 \text{ cuando } t \rightarrow \infty \quad (3.20)$$

donde  $o([\epsilon, \bar{e}]^\top)$  es despreciada. A su vez, la ecuación de la adaptación intermedia de  $\epsilon(\cdot)$  dada por (3.17) se puede reescribir como:

$$\dot{\epsilon} = -k\gamma^\top(t)c^\top c\gamma(t)\epsilon - k\gamma^\top(t)c^\top c\bar{e} \quad (3.21)$$

donde el siguiente término:

$$\dot{\epsilon} = -k\gamma^\top(t)c^\top c\gamma(t)\epsilon$$

Con (3.21) es exponencialmente estable debido a la propiedad y suposición PE en el lema 2. Entonces recordando (3.20), se tiene argumentos sobre la aproximación lineal directa de (3.19,3.21) donde es exponencialmente estable y por lo tanto (3.19,3.21) es localmente estable. Por lo que, por definición de  $\bar{e}$  también  $e$  y  $\epsilon$  converge exponencialmente a cero cuando  $t$  tiende a infinito. ■

En el caso de que el vector de perturbación depende exclusivamente de la salida, entonces se puede obtener una mejor versión del resultado mostrado anteriormente en el teorema 2. Considere el sistema (3.14) de la siguiente forma:

$$\dot{x} = A_0x + f(x) + g(x)u + p(y)\delta \quad (3.22)$$

$$y = x_1 = cx \quad (3.23)$$

$$c = [1, 0, \dots, 0] \quad (3.24)$$

entonces, bajo las mismas suposiciones de teorema anterior se tiene el siguiente resultado.

**Teorema 3** *Observador adaptativo de alta ganancia (caso general)*

Considere el sistema (3.22) sujeto a una perturbación constante  $\delta \in R$ . Denotando respectivamente las matrices jacobianas  $F(z), G(z)$  de  $f(z), g(z)$  en  $z$ . Entonces, para

cualquier  $n$ -uplas de ganancias  $l_1, l_2, \dots, l_n$  tal que la matriz  $A_l$  definida en (3.6) es Hurwitz y  $k > 0$ , existe  $r > 1$  y  $\delta_0 > 0$  tal que para todo  $\phi_0 \in (\delta - \delta_0, \delta + \delta_0)$  el siguiente sistema

$$\begin{aligned}\dot{z} &= A_0 z + f(z) + g(z)u + [l_1 r, \dots, l_n r^n]^\top z_1 + p(y)\phi + \gamma(t)\dot{\phi} \\ \dot{\phi} &= -k\gamma^\top(t)c^\top ce\end{aligned}\tag{3.25}$$

$$\phi(0) = \phi_0,\tag{3.26}$$

$$\dot{\gamma}(t) = [A(r) + F(z) + G(z)u]\gamma(t) + p(y)$$

es un observador adaptativo exponencial (3.14) siempre que  $\gamma^\top(t)c^\top$  sea un señal con excitación persistente.

Se nota que el teorema 3 plantea una situación diferente a lo considerado en el teorema 2: Sin embargo, veremos que su prueba es muy similar.

### **Demostración 3**

Se introduce el mismo error de estimación de la perturbación  $\epsilon := \phi - \delta$  y el error combinado  $\bar{e} = e - \gamma(t)\epsilon$ , por lo que se obtiene

$$\dot{\bar{e}} = A(r)\bar{e} + (F(z^*) + G(z^*)u)\bar{e} + o(\epsilon)$$

junto con la dinámica de la estimación de la perturbación dada por,

$$\dot{\epsilon} = -k\gamma^\top(t)c^\top c\gamma(t)\epsilon - k\gamma^\top(t)c^\top c\bar{e}$$

Por lo tanto, escogiendo  $r > 1$  lo suficientemente grande como en el Teorema 1 y usando la condición PE del lema 1, se muestra que la aproximación lineal de las dinámicas  $[e, \epsilon]^\top$  es exponencialmente estable y con esto se concluye la prueba.

■



Note que además el carácter local con respecto  $\epsilon$ , en este caso tenemos una aproximación de primer orden que en principio puede permitir tener una convergencia más rápida en comparación con el caso del Teorema 2, donde los términos de orden superior de la variable global mostrada en  $[e, \epsilon]^T$ .

Ahora, de nuevo la propiedad PE es difícil comprobar y puede ser simplemente verificada en el curso de la estimación de estados. Cabe resaltar que el caso de los sistemas de la forma  $\dot{x} = Ax + bu + f(y, u, t) + p\delta$ ,  $y = cx$ , representa quizás el caso más general donde PE se puede comprobar a través de alguna prueba clara. El análisis se ha extendido a los llamados sistemas afines, asumiendo la existencia de algún observador exponencialmente estable y PE, esta última propiedad no es más fácil de verificar, ver [39,41].

Finalmente se nota que el vector  $p(x)$  multiplicado por un parámetro desconocido puede ser dependiente del tiempo y la entrada  $u$ , además de la salida, y el tratamiento de este sería exactamente el mismo.

### 3.4. Transformación *STE* para un sistema biológico

Como se menciono antes, uno de los principales objetivos de esta sección es el estudio y estimación de estados e incertidumbre a partir de un modelo de tratamiento de aguas residuales, sin necesidad del conocimiento preciso de la constante de dilución de alimentación. En este sentido, una variación de la razón de dilución puede ser considerado como una entrada de control activo. Por lo cual, en este caso, la perturbación constante desconocida entra a través del mismo sitio que la entrada conocida

y controlada.

El modelo adoptado para el presente estudio se basa en el balance de materia que tiene lugar dentro del biorreactor, ver capítulo 1 para mas detalles. Dentro de las diversas posibles formulaciones para la razón de crecimiento se considerará la llamada formula de Monod que es una de las más populares por su simplicidad y consistencia con la saturación del crecimiento de microorganismos por disponibilidad del sustrato. De manera concreta el modelo está dado por

$$\begin{aligned}\dot{x} &= x\mu(s) - x(u + \delta) \\ \dot{s} &= -a_3^{-1}x\mu(s) + (a_4 - s)(u + \delta) \\ \mu(s) &= \frac{a_1s}{a_2 + a_1s}\end{aligned}$$

donde el parámetro  $a_1$  es la razón de crecimiento máxima,  $a_2$  representa la constante de saturación de Monod.  $a_3$  es el factor de redimiento del microorganismo y  $a_4$  representa la concentración del sustrato de alimentación. La entrada de control es la razón de dilución  $u(t)$  que alimenta al biorreactor, la cual esta afectada por un factor desconocido de la razón de dilución

Como se mencionó antes, las técnicas de estimación adaptativas propuestas requieren que el sistema pueda ser llevado a una forma estrictamente triangular. Para ello se propondra a continuación un difeomorfismo clásico que hara dicho trabajo. Se proponen los siguientes cambios de coordenadas

$$\begin{aligned}x_1 &= \log(x) \\ x_2 &= \mu(s) \\ x &= \exp(x_1) \\ s &= \frac{a_2x_2}{a_1 - x_2}\end{aligned}$$

Notamos que la nueva variable  $x_1 \in R$  y puede ser definida para todo  $x > 0$ , esto no es una restricción física seria,  $x_2$  es definida dentro del intervalo  $[0, a_1]$ , lo cual es válido desde el punto de vista físico, dado que la nueva variable representa la velocidad de reacción y esta está siempre acotada por  $a_1$  que es la variable que denota la velocidad máxima de reacción. Con todo esto se obtiene el siguiente sistema,

$$\dot{x}_1 = x_2 - u - \delta \quad (3.27)$$

$$\begin{aligned} \dot{x}_2 = & -a_3^{-1}x_2 \exp(x_1) \frac{a_1 a_2}{\left(a_2 + \frac{a_2 x_2}{a_1 - x_2}\right)^2} \\ & + \left(a_4 - \frac{a_2 x_2}{a_1 - x_2}\right) \frac{a_1 a_2}{\left(a_2 + \frac{a_2 x_2}{a_1 - x_2}\right)^2} (u + \delta) \end{aligned}$$

simplificando el sistema anterior se llega a,

$$\dot{x}_1 = x_2 - u - \delta,$$

$$\begin{aligned} \dot{x}_2 = & -a_1^{-1} a_2^{-1} a_3^{-1} \exp(x_1) x_2 (a_1 - x_2)^2 \\ & + a_1^{-1} a_2^{-1} (a_4 a_1 - (a_2 + a_4) x_2) (a_1 - x_2) (u + \delta) \end{aligned}$$

Para estudiar la invariancia del modelo matemático biológico de Monod se propone la siguiente.

**Proposición 1.** *No negatividad del modelo de Monod*

Se considera el siguiente modelo:

$$\begin{aligned} \dot{x} &= x\mu(s) - x(u + \delta) \\ \dot{s} &= -a_3^{-1}x\mu(s) + (a_4 - s)(u + \delta) \\ \mu(s) &= \frac{a_1 s}{a_2 + a_1 s} \end{aligned} \quad (3.28)$$

Las siguientes propiedades se cumplen:

(i) El campo  $O^+$  es positivo invariante tal que:  $O^+ := \{x > 0, s > 0\}$  para cualquier entrada integrable  $u(t)$  y perturbación  $\delta$ .

(ii) Todas las soluciones del sistema anterior  $O^+$  están acotadas para cualquier entrada integrable  $u(t)$  y perturbación  $\delta$ .

#### **Demostración 4**

Para probar (i) solo se necesita verificar que el lado derecho del sistema anterior sea un campo positivo. Notamos que  $x = 0$  es invariante, además sobre el conjunto  $s = 0$  se tiene que,  $\dot{s} \geq 0$ . Para probar ii) se introduce el siguiente cambio de coordenadas:

$$\begin{aligned}\tilde{x} &= x + a_3s - a_3a_4 \\ \tilde{s} &= s\end{aligned}$$

Por lo que se obtiene el siguiente sistema transformado:

$$\begin{aligned}\dot{\tilde{x}} &= -(u + \delta)\tilde{x} \\ \dot{\tilde{s}} &= -a_3^{-1}(\tilde{x} - a_3\tilde{s} + a_3a_4)\mu(\tilde{s}) + (a_4 - \tilde{s})(u + \delta)\end{aligned}$$

Ahora se considera la siguiente función de Lyapunov,

$$V = \frac{1}{2}\tilde{x}^2$$

cuya derivada en las trayectorias del sistema transformado es

$$\dot{V} = -(u + \delta)\tilde{x}^2$$

Lo anterior permite concluir que para cualquier trayectoria inicial sobre un punto  $\tilde{x}_0, \tilde{s}_0$  en  $t = 0$  se permanecera para  $t \geq 0$  dentro de un conjunto donde  $|\tilde{x}| \leq \tilde{x}_0$  para cualquier entrada integrable.

### Diseño del observador adaptativo para un planta biológica y resultados numéricos

El principal objetivo de esta sección es el diseño de un observador robusto ante perturbaciones en la entrada. Dado que la perturbación en este tipo de sistemas cumple con la condición *Matching Condition*, es decir la distorsión entra por el canal de entrada, tal que  $p(x) = g(x)$ . Se obtiene el siguiente sistema **STE**:

$$\dot{x} = [x_2, x_3, \dots, x_n, 0]^\top + f(x) + g(x)(u + \delta) \quad (3.29)$$

Para contruir el observador de tipo alta ganancia para el sistema *SET* biológico móstrado en (3.27), con  $c = [1 \ 0]$ , tal que la matriz:

$$A - lc = A(1) = \begin{bmatrix} l_1 & 1 \\ l_2 & 0 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -1 & 1 \\ -0,25 & 0 \end{bmatrix}$$

por lo que se obtiene el siguiente observador de alta ganancia adaptativo.

$$\begin{aligned} \dot{z}_1 &= z_2 + g_1(z)(u + \phi) + r l_1(z_1 - x_1) + \gamma_1(t)\dot{\phi} \\ \dot{z}_2 &= f_2(z) + g_2(z)(u + \phi) + r^2 l_2(z_1 - x_1) + \gamma_2(t)\dot{\phi} \end{aligned} \quad (3.30)$$

$$\begin{aligned} f_1(x) &= 0 \\ f_2(x) &= -a_1^{-1} a_2^{-1} a_3^{-1} \exp(x_1) x_2 (a_1 - x_2)^2; \\ g_1(x) &= -1 \\ g_2(x) &= a_1^{-1} a_2^{-1} (a_4 a_1 - (a_2 + a_4) x_2) (a_1 - x_2) \end{aligned}$$

Las ganancias de adaptación deben satisfacer la ecuación diferencial siguiente.

$$\begin{aligned}\dot{\gamma}_1 &= rl_1\gamma_1 + \gamma_2 + p_1(z) \\ \dot{\gamma}_2 &= r^2l_2\gamma_1 + F_{21}(z)\gamma_1 + F_{22}(z)\gamma_2 + G_{22}(z)(u + \phi)\gamma_2 + p_2(z)\end{aligned}\quad (3.31)$$

donde:

$$\begin{aligned}p_1(z) &= g_1(z) = -1; p_2(z) = g_2(z) = a_1^{-1}a_2^{-1}(a_4a_1 - (a_2 + a_4)z_2)(a_1 - z_2) \\ F_{21}(z) &= \frac{\partial}{\partial z_1}f_2(z) = -a_1^{-1}a_2^{-1}a_3^{-1}\exp(z_1)z_2(a_1 - z_2)^2 \\ F_{22}(z) &= \frac{\partial}{\partial z_2}f_2(z) = -a_1^{-1}a_2^{-1}a_3^{-1}\exp(z_1)(a_1 - z_2)(a_1 - 3z_2) \\ G_{22}(z) &= \frac{\partial}{\partial z_2}g_2(z) = -2a_1^{-1}a_2^{-1}[a_4a_1 - (a_2 + a_4)z_2] - 1.\end{aligned}$$

En resumen, el observador HG con adaptación esta dado por,

$$\dot{z} = \begin{bmatrix} l_1r & 1 \\ l_2r^2 & 0 \end{bmatrix} \hat{x} + \begin{bmatrix} 0 \\ -(a_1a_2a_3)^{-1}\exp(z_1)z_2(a_1 - z_2)^2 \end{bmatrix}\quad (3.32)$$

$$\begin{aligned} &+ \begin{bmatrix} 1 \\ (a_1a_2)^{-1}(a_4a_1 - (a_2 + a_4)z_2)(a_1 - z_2) \end{bmatrix} (u + \phi) \\ &- [l_1r, l_2r^2]^T z_1 + \gamma(t)\dot{\phi}\end{aligned}\quad (3.33)$$

$$\begin{aligned}\dot{\phi} &= -10 * \gamma(t)c^Tce \\ \dot{\gamma}(t) &= \begin{bmatrix} l_1r & 1 \\ l_2r^2 & 0 \end{bmatrix} - \frac{(e^{z_1})}{a_1a_2a_3} \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ -z_2(z_2 - a_1)^2 & (a_1 - 3z_2)(z_2 - a_1) \end{bmatrix} \\ &+ \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{a_1a_2}(2a_2z_2 - 2a_1a_4 + 2a_4z_2) - 1 \end{bmatrix} (u + \phi)]\gamma(t) \\ &+ \begin{bmatrix} -1 \\ (a_1a_2)^{-1}(a_4a_1 - (a_2 + a_4)z_2)(a_1 - z_2) \end{bmatrix}\end{aligned}\quad (3.34)$$

Los parámetros del modelo nominal son ajustados de un cultivo de un microorganismo llamado *Saccoromices* la cual es una levadura que tiene la posibilidad de producir metanol y algunos productos necesarios para la fabricación de biopolímeros y alimentos. Los parámetros de Monod  $a_1, a_2$  y  $a_3$  fueron ajustados en base a los datos experimentales.

Los parámetros registrados en la literatura usados son los siguientes:  $a_1 = 0,51$ ,  $a_2 = 0,84$ ,  $a_3 = 1/7,33$  y  $a_4 = 105$ . Las condiciones iniciales así como los parámetros de estimación son expresados en la siguiente tabla:

Tabla 1 . Condiciones iniciales y ganancias

$x_1(0) = z_1(0)$	$x_2(0)$	$z_2(0)$	$r$	$l_1$	$l_2$	$k$
6,4	0,4541	0,5	1	-1	-0,25	50
<hr/>						
$t : 0 - 200hr$		$t : 200 - 400hr$		$t : 400 - 600hr$		
$u(t)$	0,283	0,2		0,08		
$\delta$	0	0,283		-0,566		

El estado a estimar será el  $z_2$  donde se propone la estimación del mismo a través de 2 observadores, uno de alta ganancia clásico y el propuesto en este trabajo. El observador de alta ganancia tendrá la mismas características en ganancias en parámetros que el adaptativo. En base a la tabla anterior se propone un experimento en donde en la primera parte del experimento ( $t : 0 - 200hr$ ) se tiene ausencia de perturbaciones y los siguientes 2 periodos de simulación ( $t : 200 - 400hr, t : 400 - 600hr$ ) se presentan distorsiones en la entrada. La idea de esto es probar la eficacia de la técnica mostrada en este trabajo en comparación con un tipo de técnica clásica en este ámbito. Ver resultados en figuras 3.1-3.2.

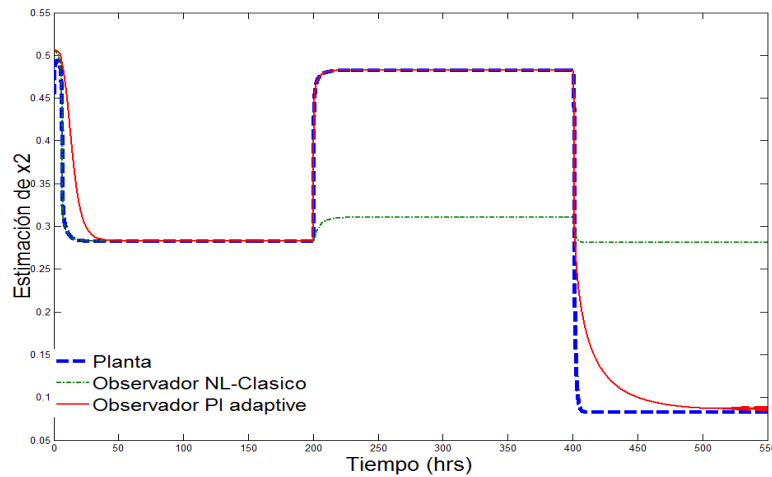


Figura 3.1: Estimación de estados en el cultivo de Sachoromices

### 3.5. Caso de estudio, estimación en tiempo real en reactor Batch

En esta etapa del trabajo se abordara la implementación de un observador NL-PI en un cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* por lote. Este microorganismo es una levadura de cerveza. Está formado por células muy pequeñas de forma ovalada. Cuando se juntan un subtotal de estas células se forma una especie de barrillo que suele ser de color blanco o gris. Esta levadura se cría desde hace muchísimos años en los depósitos de cerveza; vive cultivada en dicho líquido y se mantiene gracias a la glucosa que obtiene de la malta de la cerveza. Contiene un fermento que es capaz de convertir dicha glucosa en alcohol y gas carbónico, obteniendo la cerveza a partir del líquido con malta inicial. Los *Saccharomyces*, cuando crecen en ambientes controlados, maduran en tres días. Forman colonias húmedas, planas y suaves que varían de color crema a bronceado. Por otro lado la glucosa usualmente es medida mediante



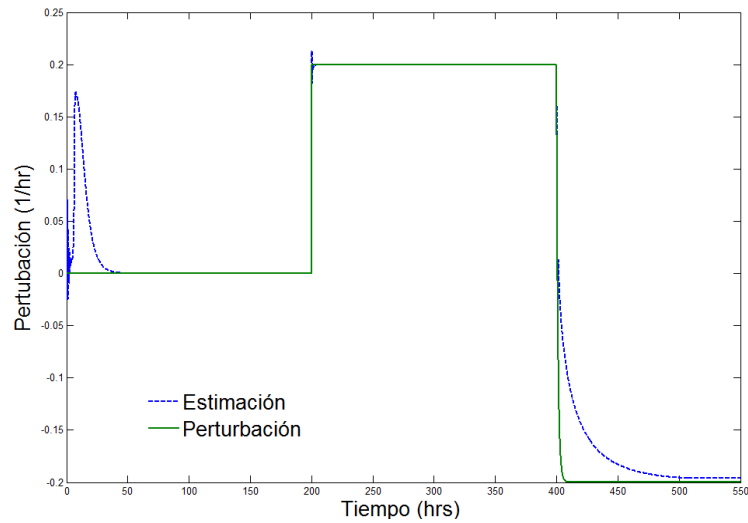


Figura 3.2: Estimación de la perturbación presente en la entrada

técnicas de laboratorio a través de la medida de ácidos reductores (DNS) técnica para la cual se necesita hacer fuera de línea. La medición de glucosa a través de un sensor electrónico es muy difícil y esto podría dificultar el control de dicho proceso. El modelo matemático que representa el crecimiento de esta microorganismo es el mostrado en (3.28).

### 3.5.1. Sensor óptico

Por otro lado para poder medir la variable biomasa en línea se diseñó un sensor de biomasa óptico, con el cual se puede calibrar y estandarizar el peso seco el cual es la medida más confiable para poder medir esta variable biológica. El sensor tiene el atractivo de otorgar una señal analógica, ser de bajo costo si compara con los existentes en el mercado. En base a un emisor de radiación visible es posible medir biomasa de manera confiable, mediante la propiedad espectroscópica, relacionando

la concentración de biomasa con una señal de absorbancia neta en un medio acuoso.

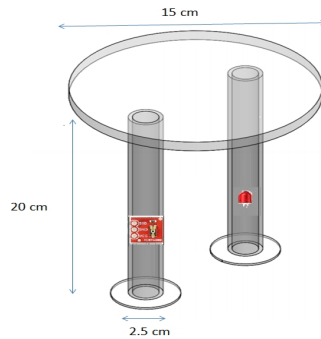


Figura 3.3: Estructura del sensor de biomasa en fase discontinua

### Calibración del sensor

En base a la absorción de radiación visible mediante el uso de la ley de Lambert y Beer, el sensor puede interrelacionar la variable biomasa con una variable indirecta como lo es el voltaje del sensor de radiación visible. En este caso la salida del sensor es un voltaje el cual debe ajustarse a una función matemática que lo relacione con la variable biomasa real que se desea medir. En el proceso de calibración de biomasa de nuestro microorganismo del sensor óptico se proponen 9 muestras de un biomasa por triplicado y obtener así su relación con el voltaje del sensor, haciendo 3 diferentes mediciones, ver tabla 2 y 3.

En base a lo anterior es posible así obtener una función no lineal de calibración y relación entre biomasa y voltaje. Se sabe que la relación de biomasa y absorbancia corresponde a un factor proporcional de 0.35.

$$x = -0,22 \ln(V) + 0,318$$

Resultados de las mediciones del voltaje para la calibración			
Concentración	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
4 %	0.145	0.165	0.128
	0.15	0.145	0.157
	0.175	0.173	0.12
3 %	0.241	0.283	0.234
	0.23	0.281	0.225
	0.228	0.287	0.228
2 %	0.63	0.76	0.603
	0.598	0.752	0.609
	0.616	0.768	0.628
1 %	1.34	1.63	1.39
	1.42	1.67	1.34
	1.39	1.65	1.35
0.5 %	2.41	2.78	2.27
	2.34	2.7	2.16
	2.31	2.69	2.23
0.3 %	2.7	3.13	2.65
	3	3.14	2.69
	2.98	3.12	2.68
0.1 %	3.13	3.41	3.04
	3.2	3.34	3.1
	3.2	3.38	3.1
0.05 %	3.33	3.34	3.22
	3.33	3.43	3.21
	3.31	3.53	3.29
0.03 %	3.38	3.55	3.15
	3.4	3.44	3.22
	3.53	4.07	3.19

Figura 3.4: Tabla 2. calibración del sensor con biomasa de *Sachoromices*.

La adquisición de datos de sensor a computadora se lleva a cabo mediante un micro controlador llamado Arduino. La estimación en tiempo real se llevó a cabo en un ambiente de trabajo Matlab, la señal del sensor es capturada y tratada a través del micro controlador sobre una plataforma Matlab –Simulink-Windows.

### 3.5.2. Observador NL-PI

En el estudio en tiempo real se estimara glucosa a través de un caso particular del observador adaptativo, este tipo de algoritmo como se ha mostrado anteriormente permite estimar variables de estados en presencia de incertidumbres en el modelo del

Voltaje	Absorbencia	Concentración
0.150888889	0.771	4%
0.248555556	0.597	3%
0.662666667	0.403	2%
1.464444444	0.234	1%
2.432222222	0.126	0.50%
2.898888889	0.087	0.30%
3.211111111	0.06	0.10%
3.332222222	0.047	0.05%
3.436666667	0.043	0.03%

Figura 3.5: Tabla 3. Relación absorbancia de biomasa, voltaje y concentración.

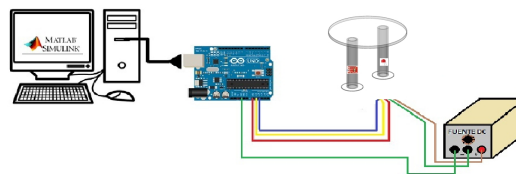


Figura 3.6: Diagrama de adquisición de datos a través de Arduino-Matlab

sistema biológico.

El observador NL-PI es un caso particular del observador adaptativo dado que en el observador NL-PI se maneja una ganancia de adaptación constante, por lo que este es mucho más fácil de poder programar en tiempo real que su caso más general evitando problemas en su implementación. Razón por la cual este algoritmo fue usado en esta etapa del algoritmo, ver [104]. Dado que el observador NL-PI puede ser llamado a su vez observador adaptativo fijo o de ganancia constante, se proponen enseguida una preposición y un lema para dicho caso.

**Proposición 2.**

Sea el sistema (3.2) un sistema triangular, existe un difeomorfismo inverso tal que el sistema puede ser llevado a sus coordenadas originales:

$$\dot{x}(t) = f(x) + g(x)u \quad (3.35)$$

**Demostración 5**

Dado que el sistema es un sistema UO (uniformemente observable) es fácil comprobar la biyectividad del difeomorfismo por lo que siempre se podrá regresar a las coordenadas originales, ver demostración completa en [20].

**Lema 2**

Sea el sistema (3.22) un sistema uniformemente observable, cumpliendo todas las propiedades pedidas por el teorema 3 y existe su difeomorfismo inverso, se dice que el siguiente sistema es un observador asintótico NL-PI de (3.35)

$$\begin{aligned} \dot{\hat{x}} &= f(\hat{x}) + g(\hat{x})(u + \phi) - [l_1 r, \dots, l_n r^n]^\top x_1 \lambda(\cdot) \\ \dot{\phi} &= -ke \end{aligned} \quad (3.36)$$

Donde la función  $\lambda(\cdot)$  es una función acotada, cuyo valor esta en función del difeomorfismo inverso, y las ganancias  $l_1, r > 0$ .

**Demostración 6**

El sistema (3.36) puede ser transformado a las coordenadas triangulares ya que es un sistema de tipo UO, por lo que en estas coordenadas la prueba de estabilidad de esta lema 2 es un caso particular de la mostrada en el teorema 2, cumpliendo a su vez de suma importancia como lo es la excitación persistente, ver [2],[20].

□

Por otro lado dado que en una tarea de tiempo real es necesario que el observador triangular del tipo (3.22) se encuentre en coordenadas generales, se propone el siguiente observador NL-PI (adaptativo fijo) en coordenadas del modelo de monod, ver (3.28).

$$\begin{aligned}
 \dot{\hat{x}}_1 &= (\mu(\hat{x}_2) - u - \phi_1)x_1 - 2rl_1e(t) \\
 \dot{\hat{x}}_2 &= \frac{\mu(\hat{x}_2)x_1}{a_3} + (a_4 - \phi_2)(u - \hat{\delta}_2) + w(\cdot)e(t) \\
 \dot{\phi}_1 &= -k_1e_1 \\
 \dot{\phi}_2 &= -k_2e_2 \\
 e(t) &= [e_1 \ e_2]^T \\
 \mu(\hat{x}_2) &= \frac{a_1\hat{x}_2}{a_2 + \hat{x}_2} \\
 w(\cdot) &= \frac{2r^2l_2(a_2 - \hat{x}_2)}{a_2\hat{x}_1} - \frac{2r^3l_2^2(a_2 - \hat{x}_2)^2}{a_1a_2\hat{x}_1}
 \end{aligned} \tag{3.37}$$

Donde las ganancias de adaptación  $k_1, k_2$  son ganancias constantes y positivas

Planta	$a_1(\text{h}^{-1})$	$a_2(\text{mg/L})$	$a_3(\cdot)$	$u(\text{h}^{-1})$	$a_4(\text{mg/L})$
nominal	0,51	0,84	7,33	0,283	100
1	0,43	0,64	7,33	0,283	100
2	0,31	0,60	7,33	0,283	100

Figura 3.7: Tabla 3.- Parámetros de simulación

### 3.5.3. Simulación numérica

A través de un cultivo llevado a cabo en condiciones de laboratorio en un bioreactor, fue posible determinar un tipo de sensibilidad paramétrica, (ver [100]-[103]). Esta situación motiva la necesidad de contar con observadores dinámicos, diseñados para una planta nominal, capaces de mantener su desempeño cuando ocurra una variación paramétrica eventual, tal que el comportamiento entrada salida del cultivo continuo sea el mismo. Como se ha mencionado anteriormente los observadores adaptativos como el mostrado (3.37), han probado su eficacia en la estimación de estados. El hecho anterior será probado mediante una simulación y un estudio en tiempo real. Los resultados numéricos están basados en la simulación de la estimación de sustrato. Dichas simulaciones se llevaron a cabo en ambiente Matlab-Simulink. Estas simulaciones consideran parámetros de manera repentina, tal como indica en la tabla 3. El modelo simulado corresponde a (3.37), más ruido de tipo gaussiano en las mediciones. Los parámetros nominales son los iniciales en la simulación del proceso, y ambos observadores fueron diseñados con estos valores. Cada 100 h de simulación se cambiaron dichos parámetros, considerando un tiempo total de simulación de 550 h. El valor de la alta ganancia es de 1 y el valor de la ganancia integral es de 0.1, esto es, un 10% de la alta ganancia. Dichas ganancias es escogieron en base a la literatura, ver [13]. Dichos resultados se muestran las figura 3.8 y 3.9.

Las simulaciones ilustran las ventajas del observador NL-PI. Para validar estos resultados, se realiza una prueba de estimación de sustrato en tiempo real, utilizando el observador NL-PI en el cultivo continuo de *Saccharomyces cerevisiae*. Se diseñó un sensor de biomasa óptico (UMI-fotobiomass) de salida analógica.

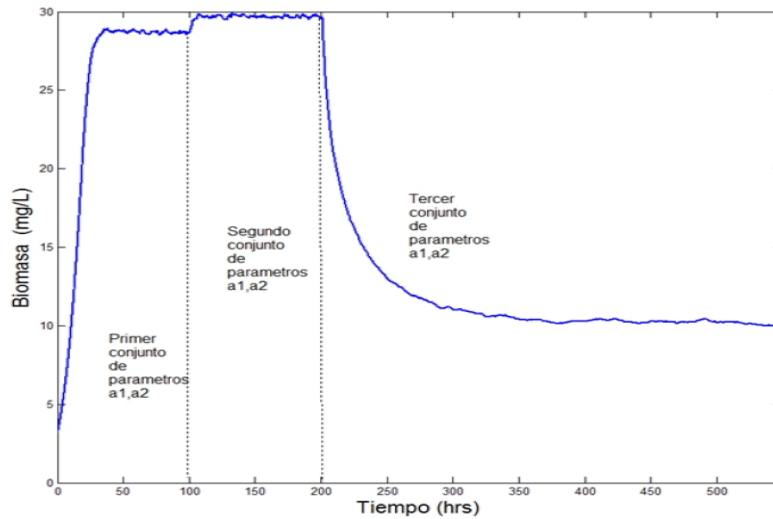


Figura 3.8: Señal de biomasa en la simulación de la estimación de glucosa en un reactor Batch

### 3.5.4. Implementación del algoritmo

Se estima la variable  $x_2$  (sustrato, glucosa) en base a un caso particular observador adaptativo no lineal, ver (3.37). Se mide de manera indirecta sustrato en un proceso biológico de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*. El modelo matemático de dicho proceso es representado en la ecuación (3.28). Por otro lado los parámetros del observador están mostrados en la tabla 1 del apartado anetior, cabe señalar que dichos parámetros son los mismos que fueron utilizados en la etapa de simulación, pero dado que este algoritmo será utilizado en un bioreactor de tipo batch la  $u = 0$ . A través del sensor óptico de biomasa se alimenta la señal de biomasa como salida del sistema y se estima la variable sustrato que representa la glucosa neta en el proceso.



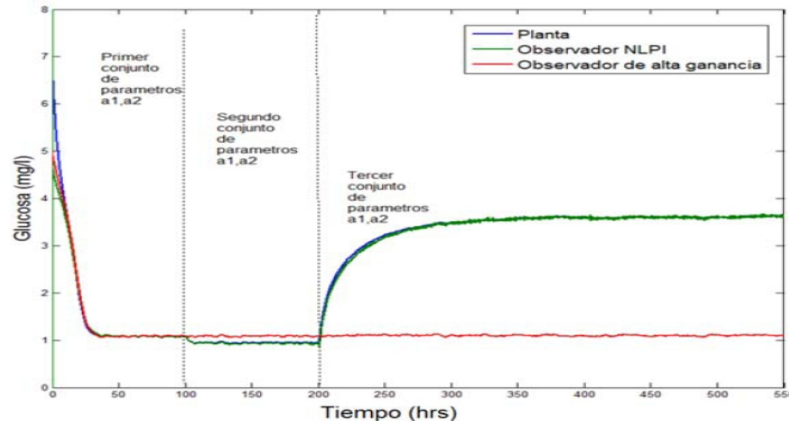


Figura 3.9: Estimación de sustrato en precesencia perturbaciones paramétricas

### 3.5.5. Resultados de la experimentación en tiempo real

Los resultados de la experimentación en la fermentación del microorganismo fueron obtenidos en base a una comparación entre las señales analógicas del sensor, la señal obtenida del observador NL-PI con los resultados obtenidos mediante pruebas hechas fuera de línea. Es usual que en este tipo de experimentos las pruebas fuera de línea se hagan por triplicado para poder así tener un resultado más confiable desde el punto de vista estadístico, razón por la cual se triplicaron las muestras de la obtención de biomasa a través de peso seco y la de la variable glucosa a través del método de ácidos reductores (DNS). El proceso fue llevado a cabo de 100 horas las cuales son aproximadamente el tiempo de consumo total de sustrato. La experimentación fue llevada en un reactor de boro-silicato de alrededor de dos litros, bajo condiciones de pH y temperatura constantes y controladas. Los resultados se muestran en las siguientes figuras:



Figura 3.10: Sensor de biomasa en modo discontinuo

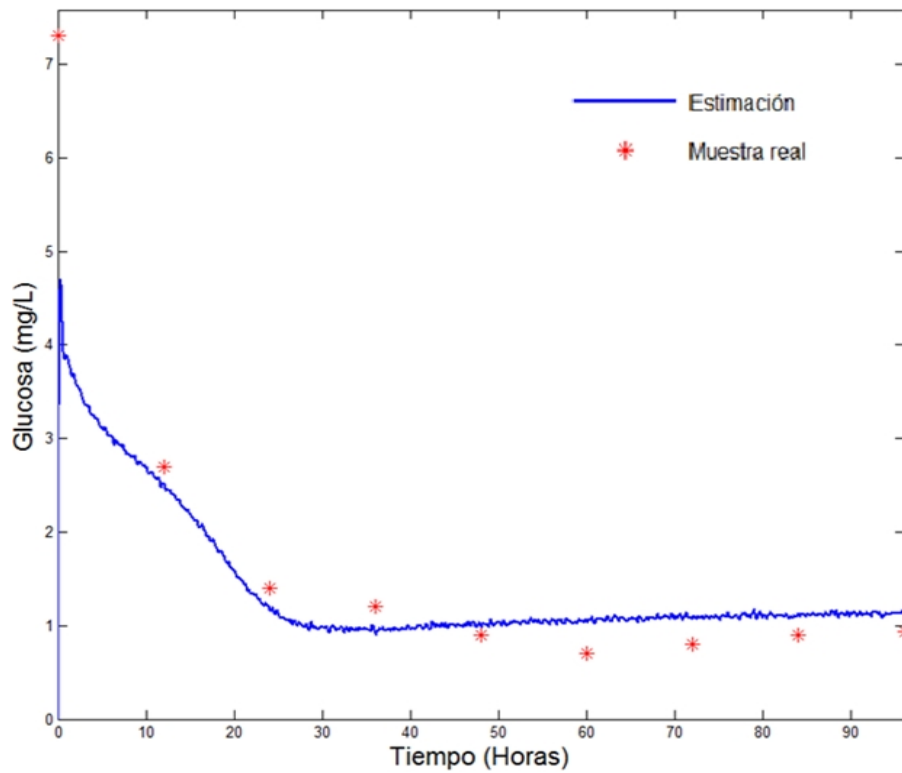


Figura: 3.8 Sustrato estimado con el observador no lineal. Se muestra la señal real y estimada.

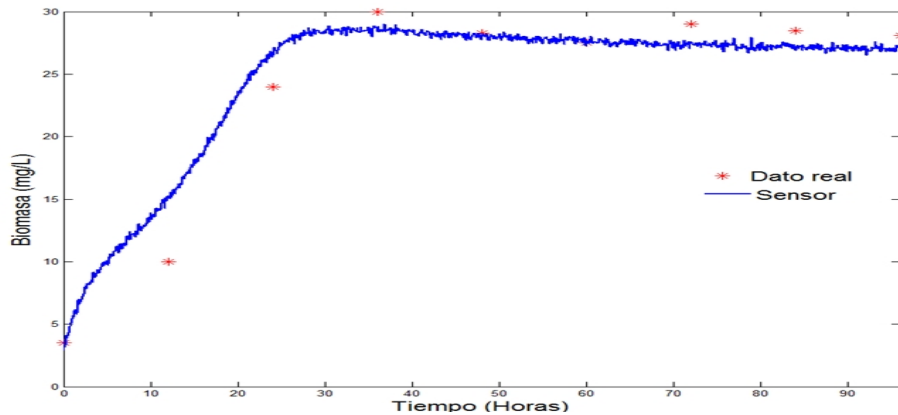


Figura 3.9 Señal de biomasa obtenida por el sensor

UMI-Fotobiomass

### 3.6. Conclusiones del capítulo

En este trabajo se presenta el diseño de observadores de tipo adaptativo como una alternativa para lograr estimaciones de estado robustas. Se demostró que este tipo de observadores presentan convergencia asintótica en el sentido de Lyapunov para sistemas estrictamente triangulares (SET). Se mostró la efectividad del observador diseñado por medio de simulaciones para un cultivo de un bioreactor continuo. Dados los resultados teóricos se puede concluir que la herramienta desarrollada es idónea para sistemas que cumplan las características propuestas en este capítulo. Se probó mediante una experimentación en tiempo real que el uso de este tipo de observadores puede alcanzarse en su implantación sobre la estimación de estados en procesos biológicos. Este trabajo deja abierto el problema de detección y rechazo de fallas o perturbaciones para sistemas de tipo biológico.

# Capítulo 4

## Control robusto para un cultivo de microorganismos

### 4.1. Resumen

En este trabajo se propone un esquema no lineal para el control adaptativo de un biorreactor tipo discontinuo pre-alimentado con cultivos de alta densidad. El control de estos procesos es una tarea difícil ya que los parámetros cambian con el tiempo y el proceso está sujeto a fuertes perturbaciones por lo que se tiene una alta sencibilidad paramétrica. El esquema de control se basa en una reducción del modelo dinámico de la biomasa, incluyendo un terminos de incertidumbre, que se estima a través de una técnicaa de adaptación. La convergencia dinámica de la biomasa es estudiada sobre el modelo reducido en vecindad de la convergencia a través de funciones de Lyapunov El rendimiento del esquema de control se verifica sobre modelo completo del biorreactor a través de simulaciones numéricas. Se probó mediante un experimento en tiempo real la eficacia de dicho observador no lineal destimacion de estados mediante un

cultivo de una levadura llamada *Sachoromices* en un reactor en fase discontinua.

## 4.2. Introducción

Actualmente una parte importante de los productos biológicos se obtiene por medio del cultivo de microorganismos, y esta es una tendencia creciente. Por ello, desarrollar nuevas herramientas para satisfacer dicha necesidad como, por ejemplo aumentando la eficiencia y productividad de los cultivos microbianos, es un desafío permanente de la biotecnología [98]. Para aumentar la eficiencia y productividad se requiere aumentar las tasas de crecimiento y producción de los microorganismos y alcanzar altos niveles de densidad celular. Además, estas condiciones de cultivo deben ser reproducibles entre lotes. Por lo tanto, el modelado, la optimización y el control automático son herramientas fundamentales para lograr estos objetivos. Por otro lado, los microorganismos se han adaptado de tal forma que tienen diversas formas de captar la energía del sustrato según las condiciones del medio [100,101]. En el caso particular de los cultivos de alta densidad, las limitaciones a la transferencia de oxígeno hacen que el microorganismo deba utilizar rutas metabólicas alternativas para obtener la energía necesaria para el crecimiento y el mantenimiento celular.

En los organismos aeróbicos, la ruta principal y la que primero se utiliza es la oxidación del sustrato, dado que es la más eficiente desde el punto de vista energético. Sin embargo, cuando el oxígeno es limitante, los microorganismos utilizan la fermentación, que es una vía alternativa normalmente menos eficiente. Es decir, si todos los sustratos y el oxígeno están disponibles sin limitación para el microorganismo, éste escogerá la ruta metabólica primaria, es decir, la oxidación directa del sustrato. En caso de presentar limitaciones de oxígeno, éste fermentará el sustrato y producirá

subproductos que por lo general inhiben el crecimiento del microorganismo [97,100]. Además, el oxígeno disponible en un bioreactor no siempre está distribuido en forma homogénea, dado que la tasa de transferencia de masa gas-líquido es limitante y muy dependiente de la composición del cultivo.

Desde el punto de vista de la ingeniería de biosistemas, la dinámica del cultivo de microorganismos en bioreactores se caracteriza por no linealidades significativas, y por presentar fuertes interacciones entre productos, sustratos, biomasa, pH y temperatura [93,95]. Una dificultad adicional es que usualmente los modelos matemáticos que describen estos procesos son inciertos, es decir, los parámetros y estados son comúnmente difíciles de predecir y estimar ó simplemente desconocidos. Por lo tanto, el control automático y la operación óptima de bioreactores tipo fed-batch en cultivos de alta densidad es un desafío difícil de abordar con herramientas convencionales, incluso con herramientas más modernas [95].

Desde el punto de vista de la ingeniería de biosistemas, la dinámica del cultivo de microorganismos en bioreactores se caracteriza por no linealidades significativas, y por presentar fuertes interacciones entre productos, sustratos, biomasa, pH y temperatura [93]. Una dificultad adicional es que usualmente los modelos matemáticos que describen estos procesos son inciertos, es decir, los parámetros y estados son comúnmente difíciles de predecir y estimar o simplemente desconocidos. Por lo tanto, el control automático y la operación óptima de bioreactores tipo fed-batch en cultivos de alta densidad es un desafío difícil de abordar con herramientas convencionales, incluso con herramientas más modernas [95].

En la literatura se han reportado importantes avances teóricos en la resolución de este tipo de problemas [97,100]. Un resultado destacable es la búsqueda de un control óptimo en lazo abierto utilizando la técnica llamada “búsqueda del extremo”. Esta metodología presenta buenos resultados, pero tiene la desventaja de ser en lazo

abierto, por lo cual es poco robusta a perturbaciones en el modelo y en las entradas al sistema. Se han utilizado además técnicas adaptables [93,95] especialmente útiles para controlar sistemas que contienen parámetros inciertos. Por lo general, los métodos adaptables presuponen el conocimiento pleno de la estructura del modelo matemático y suelen ser robustos a variaciones en los parámetros. Sin embargo, estos métodos no son robustos a perturbaciones diferentes a las variaciones paramétricas [95]. Por ejemplo, en [100] se plantea una ley de control de este tipo que asegura un buen desempeño a pesar de la incertidumbre en la gran mayoría de los parámetros del sistema, pero que no puede compensar bien otro tipo de perturbaciones. Por lo tanto, el diseño de un sistema de control robusto que optimice la operación de cultivos tipo fed-batch de alta densidad sigue siendo un desafío no resuelto completamente.

En el presente capítulo, se propone un esquema de control para el seguimiento de una trayectoria deseada en la dinámica de la biomasa de un bioreactor de tipo fed-batch. El diseño de dicho esquema está basado en un modelo para la dinámica de la biomasa que incluye un término de incertidumbre, de acuerdo a las ideas planteadas en [93], el cual es estimado por medio de técnicas adaptables. Utilizando el enfoque de estabilidad de Lyapunov se demuestra la convergencia asintótica de la dinámica de la biomasa, en el modelo reducido, a una vecindad de la biomasa deseada en un modelo de referencia dado. El esquema de control propuesto, además de ser robusto ante incertidumbre paramétricas y dinámicas no modeladas, tiene una estructura simple comparado con otros esquemas de control propuestos en la literatura (véase por ejemplo, [95] y [100]). El desempeño del esquema de control es evaluado al aplicarlo al modelo completo del bioreactor por medio de simulaciones numéricas.

En esta segunda parte la tesis está organizada como sigue. En la sección 2 se describe el modelo matemático del bioreactor considerado junto con sus características principales. En la sección 3 se plantea el problema de control y se propone un

esquema para el seguimiento de la biomasa. Los resultados en simulación numérica se describen en la sección 4. Finalmente se presentan algunas conclusiones en la sección 5.

### **4.3. Modelo matemático de fermentación tipo Over-flow**

Es un hecho que los modelos matemáticos, en el mejor de los casos, describen parcialmente el comportamiento de un sistema dado. Sin embargo, con frecuencia al aumentar la precisión del modelo se aumenta la complejidad tanto de su representación como para su análisis. Es por esto que se al realizar un modelo se debe cumplir un compromiso entre su precisión y su factibilidad analítica. Para ello se aplican supuestos básicos que permiten plantear un modelo matemático fácil de simular y analizar, y que sea capaz de representar adecuadamente la parte más significativa del proceso.

A escala industrial, por lo general el cultivo de microorganismos se lleva a cabo en fases líquidas en bioreactores discontinuos (lote y lote alimentado), perfectamente agitadas. En estos equipos normalmente se controlan algunas variables básicas como temperatura, presión y pH. En un cultivo de alta densidad es necesario, además, monitorear o controlar la biomasa, el sustrato principal (limitante), el oxígeno disuelto (OD) y algunos productos del cultivo. En este trabajo se utiliza un modelo de la literatura [97] que incluye las siguientes suposiciones básicas para un modelo de un cultivo fed-batch de alta densidad:

1. El sistema es completamente homogéneo (mezcla perfecta).
2. El Modelo es no estructurado (no incluye detalles de la dinámica interna)



de los microorganismos).

3. Se tiene un control perfecto de la temperatura (cultivo isotérmico), por lo cual no se requiere balance de energía.
4. Se cuenta con un control perfecto de la presión (cultivo isobárico).
5. Se cuenta con un control perfecto de pH.
6. El microorganismo presenta metabolismo de sobre flujo (overflow, por sus siglas en inglés).
7. La cinética de crecimiento se puede modelar utilizando Monod [77].

El problema de sobre flujo mencionado arriba consiste en un cambio de la velocidad de reacción o cinética, debido a modificaciones en alguna condición ambiental o experimental, de tal manera que se afectan algunos de los estados involucrados en la reacción tales como oxígeno, carbono orgánico y dióxido de carbono.

Puntualmente se sabe que cuando la tasa de concentración de oxígeno cambia de manera que se tenga menor oxígeno que sustrato para ser oxidado, muchos microorganismos conmutan de ruta metabólica de tal forma que se garantiza así una constante reserva de energía. Este hecho ha sido tratado extensamente en trabajos anteriores (véase, por ejemplo, [98] y [101]). Dado que hay rutas metabólicas energéticamente más eficientes, y dada la optimalidad de los procesos biológicos, los microorganismos siempre elegirán a priori la ruta con mayor energía. El problema de obtener un modelo matemático que represente de mejor manera este caso es un tema actual de investigación en el área.

De investigaciones anteriores se sabe que los cultivos de alta densidad tienen el problema de presentar un déficit en la tasa de suministro de oxígeno, lo cual dispara la aparición del problema overflow [99]; es decir, una alimentación de sustrato más alta que la tasa de oxidación del mismo repercute con un cambio de ruta metabólica.

Este puede ser un problema o un beneficio, dependiendo del objetivo. Si se desea producir a gran escala algún tipo de metabolito se debe inducir al microorganismo a la ruta metabólica fermentativa, pero si se requiere producir biomasa a gran escala se debe mantener el nivel de oxígeno de manera adecuada, ya que la producción de algunos metabolitos secundarios tienen un efecto inhibidor en el crecimiento. De esta manera, siempre que se tenga suficiente oxígeno disponible, el microorganismo usará éste para oxidar directamente el sustrato, de no ser así se abrirá una nueva ruta para fermentar un subproducto (respiración anaeróbica). De acuerdo a esto, en este trabajo, a través de balances de materia, es posible representar el fenómeno descrito arriba mediante el siguiente modelo:

$$\begin{aligned}
 \dot{x} &= (k_{x1}r_1 + k_{x2}r_2 + k_{x3}r_3)x - \frac{u}{v}x & (4.1) \\
 \dot{s} &= -(k_{s1}r_1 + k_{s2}r_2)x - \frac{u}{v}(s - s_{in}) \\
 \dot{p} &= -(k_{p2}r_2 + k_{p3}r_3)x - \frac{u}{v}p \\
 \dot{o} &= -(k_{o1}r_1 + k_{o3}r_3)x - \frac{u}{v}o + OTR \\
 \dot{c} &= -(k_{c1}r_1 + k_{c2}r_2 + k_{c3}r_3)x - \frac{u}{v}o + CTR \\
 \dot{v} &= u
 \end{aligned}$$

Donde  $x$  denota la variable biomasa,  $s$  a la concentración de glucosa,  $p$  a la concentración de etanol,  $o$  a la concentración de oxígeno,  $c$  a la concentración de  $\text{CO}_2$ ,  $v$  al volumen general del reactor y  $u$  representa el flujo de entrada. Por su parte, los parámetros  $k_i$  representan los rendimientos de la siguiente reacción metabólica:

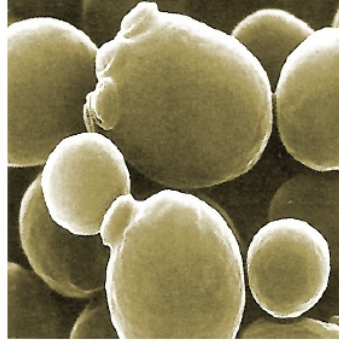
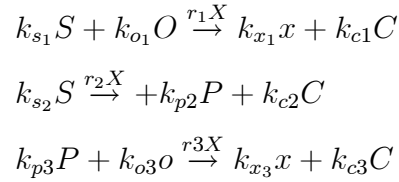


Figura 4.1: Imagen ampliada en microscopio de la enzima *Saccharomyces cerevisiae*



donde  $s$  denota el sustrato limitante,  $x$  la biomasa,  $o$  el oxígeno,  $p$  un subproducto inhibitorio del crecimiento y  $c$  el dióxido de carbono. Los parámetros  $k_{s_i}$ ,  $k_{o_1}$ ,  $k_{c_i}$  y  $k_{p_i}$  son los coeficientes estequiométricos de las reacciones metabólicas respectivas. Estos coeficientes son por lo general conocidos pero pueden cambiar con las condiciones del cultivo [99], dada la fuerte sensibilidad de los organismos vivos a los cambios en su entorno y al factor evolutivo que adapta el metabolismo a los cambios del entorno. El control  $u$  corresponde al flujo volumétrico de entrada del sistema,  $v$  denota el volumen del reactor,  $S_{in}$  denota la concentración de sustrato en la entrada,  $OTR = kla(O^* - O)$ ,  $CTR = k_{l_a}(C^* - C)$ , siendo  $C^*$  la concentración de saturación de  $CO_2$  y  $O^*$  la concentración de saturación de oxígeno,  $k_{l_a}$  denota el coeficiente de transferencia de masa. Las tasas específicas son representadas por  $r_i(t)$  las cuales

están dadas por las relaciones siguientes:

$$\begin{aligned}
 r_1 &= \text{mín}(r_s, r_{crit}) \\
 r_2 &= \text{máx}(0, r_s - r_{crit}) \\
 r_3 &= \frac{\text{máx}(0, \frac{k_{os}}{k_{op}}(r_s - r_{crit})\frac{p}{p+k_p})}{k_{p3}}
 \end{aligned} \tag{4.2}$$

$$\begin{aligned}
 r_s &= \frac{\mu_{\text{máx},s} S}{s + k_s} \\
 r_{crit} &= \frac{1}{k_{os}} \frac{\mu_{\text{máx},o} O}{s + k_o} \frac{k_{ip}}{P + k_{ip}}
 \end{aligned}$$

donde  $r_s(t)$  denota la tasa de velocidad oxidativa neta y  $r_{crit}(t)$  denota velocidad máxima oxidativa antes de entrar en la fase de sobre flujo. En [8] se describe más detalladamente el significado de los parámetros cinéticos que aparecen en (2).

## 4.4. Planteamiento del problema de control

El modelo dinámico del bioreactor dado por ecuaciones (4.1) y (4.2) se puede representar en la forma de espacio de estados:

$$\dot{\eta} = Krx + A\eta - u_1\eta + B(u_1) \tag{4.3}$$

donde  $\eta = [x \ s \ p \ o \ c \ v]^T$  es el vector de estados,  $u_1 = u/v$ ,  $r = [r_1 \ r_2 \ r_3]^T$  representa el vector de las tasas de reacción y

$$K = \begin{pmatrix} k_{x1} & k_{x2} & k_{x3} \\ -k_{s1} & -k_{s2} & 0 \\ 0 & k_{p2} & k_{p3} \\ -k_{o1} & 0 & -k_{o3} \\ k_{c1} & k_{c2} & k_{c3} \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}$$

También se proponen las siguientes matrices A y B:

$$A = \begin{pmatrix} 0_{3x3} & 0_{3x2} & 0_{3x1} \\ 0_{2x2} & -kla * I_{2x2} & 0_{2x2} \\ 0_{1x3} & 0_{1x2} & 0 \end{pmatrix} \quad B = \begin{pmatrix} 0 \\ S_{in}u_1 \\ 0 \\ k_{la}O_{sat} \\ k_{la}C_{sat} \\ 0 \end{pmatrix}$$

Un sistema biológico como el representado por (4.1) - (4.2) puede ser perturbado con gran facilidad, debido a cambios que pueden ocurrir en las condiciones físico-químicas del sistema o por cambios en el metabolismo interno del microorganismo. Además, el modelo incluye varios parámetros que no se conocen con certeza. Por esta razón, es conveniente plantear un problema de diseño de una ley de control robusta para garantizar un buen funcionamiento del bioreactor. En particular, interesa encontrar una ley de control que optimice el crecimiento de biomasa. Como se mencionó anteriormente, un microorganismo puede tener diversas rutas metabólicas para obtener energía (metabolismo oxidativo y metabolismo fermentativo) [99]. El metabolismo fermentativo desacelerará el crecimiento neto de biomasa, debido a que se produce una desviación en el flujo de energía hacia una ruta metabólica con

menos rendimiento energético, además se genera un subproducto que normalmente inhibe la tasa de crecimiento. Por ello es deseable plantear una estrategia de control que evite dicha ruta metabólica. Este tema ha sido investigado con anterioridad en [98], en el cual se plantea una estrategia de control para resolver el problema de seguimiento de trayectoria en un bioreactor tipo fed-batch con metabolismo de tipo overflow. Generalmente ese tipo de técnicas de control tiene buenos resultados para sistemas que no están sujetos a perturbaciones. Sin embargo, cuando se presentan perturbaciones o cuando las incertidumbres están mal modeladas, este tipo de control presenta problemas de convergencia [97].

Para responder a este problema se plantea en el presente trabajo el diseño de un control robusto en base a un modelo reducido. Este enfoque se deriva de la gran complejidad mostrada por el sistema representado por la ecuación (4.3). De hecho, la tarea de diseñar una ley de control para un sistema de orden completo es difícil, por lo que en trabajos como [96] se ha mostrado que es posible diseñar controladores robustos en base a los estados que más importancia tengan en el proceso. En el caso particular del proceso considerado aquí, se considera la biomasa  $x$ , como la variable más importante de controlar.

En este trabajo se propone la siguiente metodología para evitar los problemas que genera la variabilidad del proceso:

- Proponer un sistema de referencia en base a un modelo reducido.
- Plantear un esquema de control para el modelo reducido.
- Analizar la convergencia del error entre la dinámica de la biomasa deseada y la dinámica de la biomasa del modelo reducido con el esquema de control.
- Evaluar por medio de simulaciones numéricas el comportamiento del proceso controlado utilizando el modelo dinámico completo con la ley de control diseñada para el modelo reducido.

#### 4.4.1. Modelo de referencia

El modelo de overflow propuesto en este trabajo tiene la forma:

$$\dot{\eta}_r = Kr_{crit}x + A\eta_r - u_1\eta_r + B(u_{1,r}) \quad (4.4)$$

donde  $r_{crit} = [r_{scrit} \ 0 \ 0]^T$ . El subíndice  $r$  denota al sistema de referencia, el cual incorpora a la velocidad máxima de crecimiento con el metabolismo respiratorio,  $r_{crit}$ . La operación cercana a  $r_{crit}$  es un desafío desde el punto de vista de control, debido a que habitualmente este término es incierto y variable. Cualquier falla en la operación o alguna perturbación no controlada pueden llevar el sistema al metabolismo fermentativo, lo que afecta la velocidad de crecimiento. Por esta razón se propone el siguiente modelo reducido con término de ajuste, en función de la biomasa:

$$\begin{aligned} \dot{x}_1 &= r_{crit}x_1 - ux_1w + \delta x_1 \\ w &= \left(\int u dt\right)^{-1} \end{aligned} \quad (4.5)$$

donde  $x_1$  es ahora la biomasa y representa cualquier dinámica no conocida debida a la diferencia en las trayectorias del sistema y la planta de referencia o cualquier perturbación interna o externa; también incluye las distorsiones debidas a la reducción del modelo completo. Se supone que el término  $\delta$  y su derivada con respecto al tiempo están acotadas.

Por otro lado dado siendo  $r_{crit}$  la razón crítica máxima en el bioreactor se propone el siguiente modelo reducido de referencia:

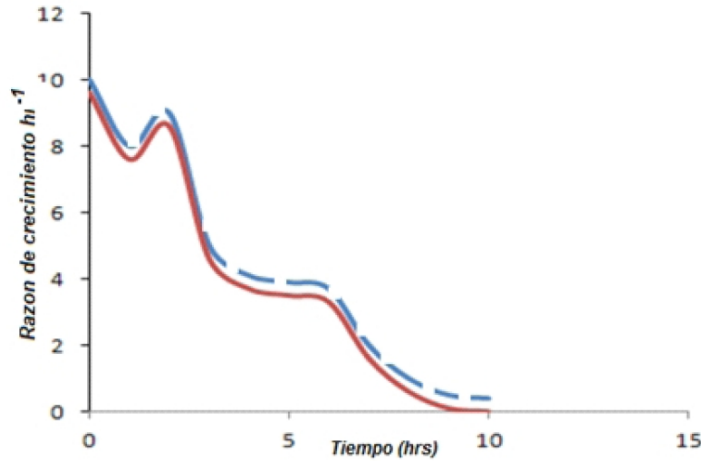


Figura 4.2: Razón de crecimiento óptima y subóptima en proceso de tipo overflow

$$\dot{x}_r = r_{crit}x_r - u_r x_r w_r \quad (4.6)$$

$$w_r = \left( \int u_r dt \right)^{-1} \quad (4.7)$$

Se considera, además, la señal del error:

$$e = x_r - ax_1 \quad (4.8)$$

Esta última ecuación representa el error por seguimiento utilizando un modelo reducido, donde  $a$  es una constante real. La importancia de incluir el parámetro positivo  $a$  en (4.8) se debe a que la dinámica de la biomasa jamás puede ser exactamente igual a la referencia ya que, automáticamente, se entraría en la zona de sobre flujo (véase la siguiente figura):

Por otro lado, y por razones de carácter conservativo, todas las variables implicadas en los modelos matemáticos tienen propiedades analíticas las cuales son



importantes de resaltar:

1. Las señales  $x_1, x_r, u,$  y  $u_r$  están acotadas, más precisamente

$$\begin{aligned}\|x\| &< x_{\text{máx}}, \quad \|x_r\| < x_{r \text{ máx}}, \quad \|u_r\| < x \\ \|u\| &< x\end{aligned}$$

2. Las señales  $x_1, x_r, u,$  y  $u_r$  son funciones invariantes

$$\begin{aligned}x &\in X \subset \mathbb{R}^+/\{0\} \\ x_r &\in X_r \subset \mathbb{R}^+/\{0\} \\ u_r &\in U_r \subset \mathbb{R}^+/\{0\} \\ u &\in U \subset \mathbb{R}^+/\{0\}\end{aligned}$$

#### 4.4.2. Algoritmo de control

Al derivar con respecto al tiempo la señal del error  $e$  y sustituyendo las dinámicas de  $x_1$  y  $x_r$  dadas por (5) y (7) se tiene que:

$$\dot{e} = r_{crit}x_r - u_r x_r w_r - a(r_{crit}x_1 - ux_1w + \delta x_1) \quad (4.9)$$

Considerando que se cuenta con un sensor de biomasa, se propone un algoritmo de control robusto a través del siguiente resultado.

#### **Teorema 4**

Sean los sistemas (4.5) y el sistema de referencia en modo reducido. Considérese la ley de control adaptable

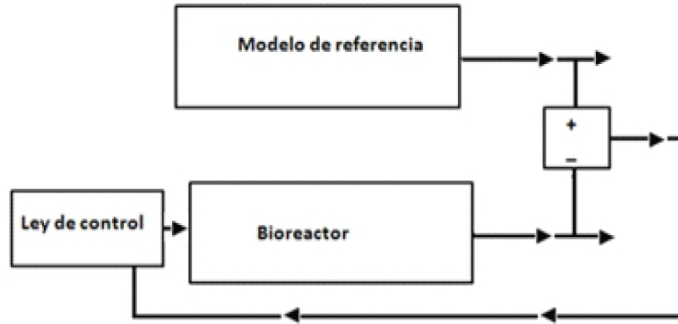


Figura 4.3: Diagrama del algoritmo de control propuesto en este trabajo

$$\begin{aligned}
 u &= \frac{1}{ax_1w}(-k_p e - r_{crit}e + u_r w_r x_r) + \frac{\hat{\delta}}{w} \\
 \dot{\hat{\delta}} &= x_1 e
 \end{aligned} \tag{4.10}$$

Entonces el error de seguimiento (4.8) tendrá una última cota estable para toda ganancia  $k_p > 0$ .

### **Demostración 6**

Defínase el error de estimación del término incierto  $\delta$  como  $\tilde{\delta} = \hat{\delta} - \delta$  es decir la diferencia entre la estimación de  $\delta$  y su valor real. Entonces la ley de control (4.10) se puede escribir como:

$$u = \frac{1}{ax_1w}(-k_p e - r_{crit}e + u_r w_r x_r) - \frac{\tilde{\delta}}{w} + \frac{\delta}{w}$$

Al sustituir (4.10) en la ecuación de la dinámica del error (4.9), se obtiene:

$$e = -k_p e + a\tilde{\delta}x_1 + a\delta x_1$$

Se propone entonces la siguiente función candidata de Lyapunov:

$$v(e, \hat{\delta}) = 0,5e^2 + 0,5a\tilde{\delta}^2$$

Derivando dicha función con respecto al tiempo y evaluando en las trayectorias del error, se obtiene:

$$\begin{aligned} \dot{v}(\cdot) &= -k_p e^2 + a\tilde{\delta}x_1e + a\tilde{\delta}\dot{\tilde{\delta}} + ax_1\delta e \\ &= -k_p e^2 + a\tilde{\delta}x_1e - a\tilde{\delta}\dot{\tilde{\delta}} + ax_1\delta e \\ &= -k_p e^2 + a\tilde{\delta}(x_1e + \dot{\hat{\delta}}) + ax_1\delta e \end{aligned}$$

ya que,  $\hat{\delta}(x_1e + \dot{\hat{\delta}}) = 0$ . Así que puede mayorarse a la derivada anterior en la forma:

$$\begin{aligned} \dot{v}(\cdot) &\leq -|e|^2 + \frac{a|x_1||\dot{\delta}|}{k_p}|e| \\ \dot{v}(\cdot) &\leq -|e|^2 + \frac{h}{k_p}|e| \\ h &= a \sup(x_1) \sup(\dot{\delta}) \end{aligned}$$

En [61] se muestra el metodo completo para obtener la cota última de convergencia (ver paguina 169) dado que si existe una constante  $c > 0,5(\frac{h}{k_p})^2$ . Existe una  $\varepsilon$  tal que  $0,5(\frac{h}{k_p})^2 < \varepsilon < c$ , ya que en este conjunto se cumple  $\dot{v}(\cdot) < 0$ . Por lo que el error denominado  $e$  convergerá asintóticamente a la bola definida como:

$$B_\varepsilon \triangleq \left\{ |e| \in \mathbb{R} : |e| < \frac{h}{k_p} \right\}$$

## 4.5. Resultados numéricos

La simulación considera un cultivo de levadura en un bioreactor por lote alimentado de alta densidad, cuyo objetivo es maximizar la concentración final de biomasa.

El control propuesto en este trabajo es un control robusto en base a un modelo reducido de referencia (similar al propuesto en [97]). Este algoritmo de control en modo reducido permite obtener buenos resultados en el control del sistema completo (4.3), incluso mejores que los obtenidos con algoritmos más complejos.

La simulación considera 10 horas de fermentación con el parámetro  $r_{crit}$  tomado de la literatura (véase, por ejemplo, [8]), es decir:

$$r_s = \frac{\mu_{m\acute{a}x,s} S}{s + k_s}$$

$$r_{crit} = \frac{1}{k_{os}} \frac{\mu_{m\acute{a}x,o} O}{s + k_o} \frac{k_{ip}}{P + k_{ip}}$$

donde  $\mu_{max}$ ,  $s$ ,  $k_s$ ,  $\mu_{max,o}$ ,  $k_{ip}$  y  $k_o$  son parámetros cinéticos que dependen de las condiciones internas del microorganismo. El término crítico depende de la concentración y dinámica del oxígeno disuelto en el bioreactor. A su vez, la ecuación (4.1) muestra que la dinámica del oxígeno depende de la biomasa, de la entrada y de la transferencia de masa gas-líquido. Este último término suele ser el más sensible ya que depende fuertemente del nivel de biomasa en el bioreactor.

La simulación se llevó a cabo utilizando MATLAB<sup>®</sup>/Simulink<sup>®</sup> 2013, con los parámetros de las tablas 1 y 2. Además se consideraron las siguientes condiciones de operación: concentración de glucosa  $S_{in} = 0,9$  g/L,  $K_{La} = 0,95$  h<sup>-1</sup>, concentración de saturación de oxígeno  $O_{sat} = 0,035$  g/L y concentración de saturación de  $CO_2$ ,  $C_{sat} = 1,286$  g/L. Por otro lado las condiciones iniciales de las variables de estado son las siguientes:  $x(0) = 0,4$  g/L,  $s(0) = 0,5$  g/L,  $p(0) = 0$  g/L,  $o(0) = 0,035$  g/L,

$c(0) = 1,286g/L$ ,  $v(0) = 6,8l$  y  $k_{os} = k_{o1}$ . La dinámica deseada para la biomasa se muestra en la figura 3.

$$\begin{pmatrix} k_1 = & 0,49 \\ k_2 = & 0,05 \\ k_3 = & 0,72 \\ k_4 = & 1 \\ k_5 = & 1 \\ k_6 = & 0,48 \\ k_7 = & 1 \\ k_8 = & 0,39 = k_{os} \\ k_9 = & 0 \\ k_{10} = & 1,104 = k_{op} \\ k_{11} = & 0,58 \\ k_{12} = & 0,46 \\ k_{13} = & 0,62 \end{pmatrix}$$

$$\begin{pmatrix} \mu_{\text{máx},s} = & 3,5 \\ \mu_{\text{máx},p} = & 0,256 \\ k_o = & 0,0001 \\ k_s = & 0,1 \\ \hat{k}_p = & 0,1 \\ k_{ip} = & 10 \end{pmatrix}$$

Como se considera que el cultivo se lleva a cabo en un bioreactor de alta densidad, la transferencia de oxígeno puede verse gravemente afectada, y con ello toda la dinámica del cultivo. Con el propósito de evaluar el controlador en condiciones real-

istas, se cambia el término  $k_{La}$  desde el valor 1.1 h<sup>-1</sup> al valor 0.95 h<sup>-1</sup>, modificando la tasa de crecimiento representada por la siguiente ecuación:

$$\mu_{total} = k_{x1}r_1 + k_{x2}r_2 + k_{x3}r_3$$

El efecto de este cambio se ve representado en la figura 4. Para compensar este cambio en el sistema se emplea la ley de control propuesta en este trabajo con  $v = 1/w$  y  $a = 1$ , es decir:

$$u = \frac{v}{x}(-10e + r_{crit}e + u_r w_r x_r) + \frac{\hat{\delta}}{w} \quad (4.11)$$

Se incluye, además, una señal de ruido blanco asociado a la medición de biomasa. Los resultados obtenidos se muestran en las figuras 5 a 7. Puede observarse que el control propuesto puede compensar las variaciones en el coeficiente volumétrico de transferencia de masa, a pesar del ruido en la medición de biomasa, manteniendo una trayectoria predefinida para la misma. En la figura 7 se observa que la evolución del sustrato en el modelo perturbado no difiere apreciablemente de la evolución nominal.

Es importante notar que la ley de control (16) debe cumplir con las restricciones del bioreactor, es decir tiene que ser positiva para tener sentido físico. Para analizar el rango de efectividad de dicha ley, considérese nuevamente la ley de control (4.11) con  $U \rightarrow U \subset \mathbb{R}^+$ , es decir:

$$\begin{aligned} u &= \frac{v}{x}(-k_p e + r_{crit}e + u_r w_r x_r) + \hat{\delta}v \\ &= \frac{v(e(-k_p + r_{crit}) + u_r w_r x_r) + \hat{\delta}x}{x} \end{aligned}$$

Ahora bien, si se considera que  $u_r v_r^{-1} = D_r, v, x > 0$ , para generar una entrada factible, se tiene que:

$$|x_r - x| \geq \frac{(D_r + |\hat{\delta}|v)x}{k_p + |r_{crit}|v} \quad (4.12)$$

La desigualdad (4.12) estará acotada superiormente por un número positivo. Entonces, la señal de control será factible para toda señal de error que cumpla con (4.12).

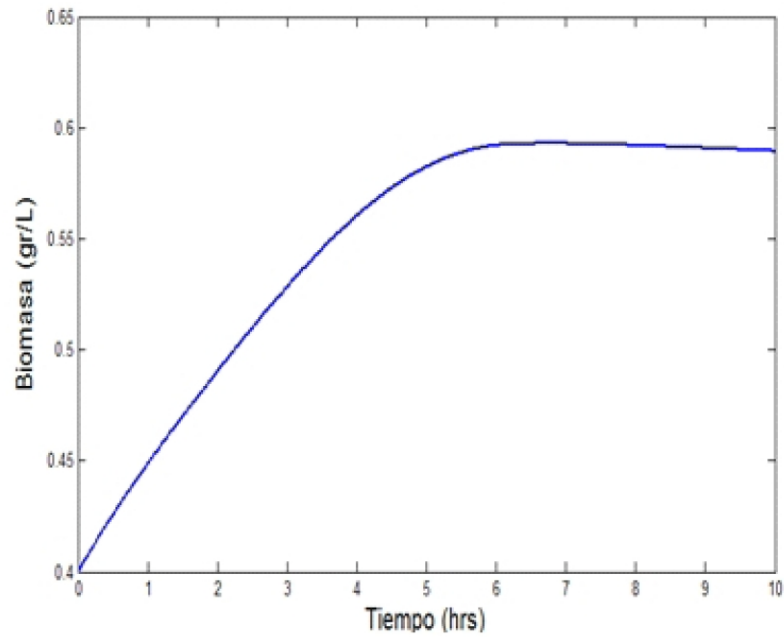


Figura 4.4: Dinámica de referencia de biomasa en un proceso de tipo Over-Flow (gr/L)

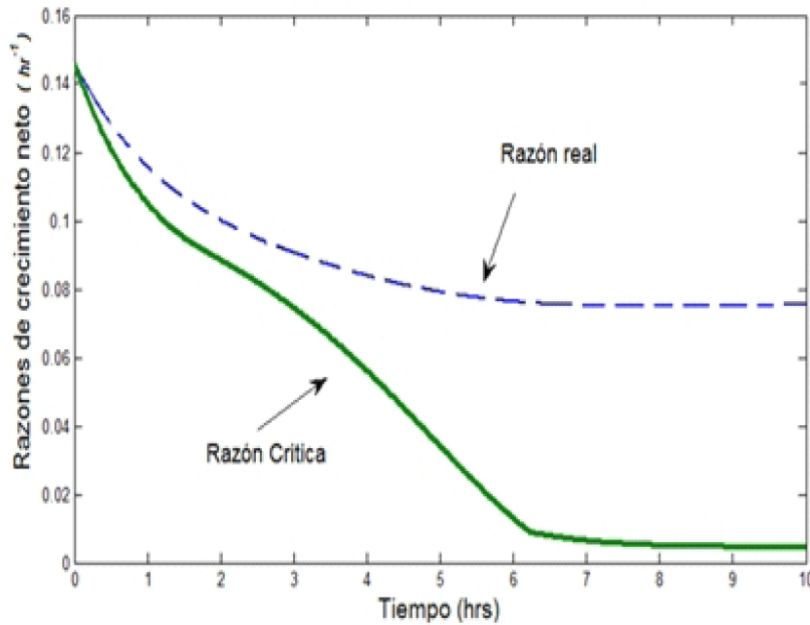


Figura 4.5: Razón de crecimiento crítica y real en proceso de overflow ( $\text{hr}^{-1}$ )

## 4.6. Análisis de estabilidad en lázo cerrado.

Se propone un análisis de estabilidad en base al estudio de las propiedades del sistema linealizado. Para poder así estudiar la estabilidad en un punto de operación. En este trabajo se propone estudiar el punto de operación más interesante y tratable analíticamente, las coordenadas donde el sistema cambia de tasa de reacción  $r_{crit}$ . En este estado particular  $r_2, r_3 = 0$  dado que se tiene en este punto un total de metabolismo oxidativo. Cabe señalar que en este punto es donde la variable  $p, o, kla = 0$ . Por lo que se tiene así el modelo principal en las variables críticas:



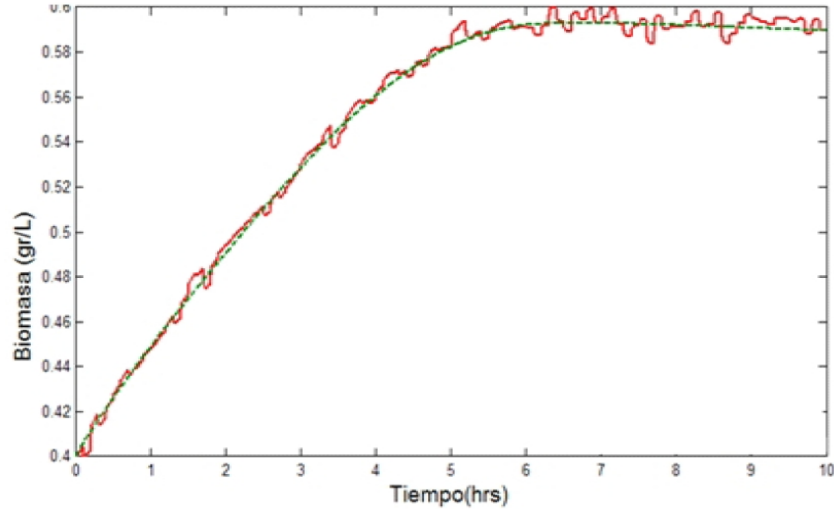


Figura 4.6: Dinámica del sistema overflow en presencia del control propuesto

$$\dot{x} = k_{x1}r_1x - \frac{u}{v}x$$

$$\dot{s} = -k_{s1}r_1x - \frac{u}{v}s + \frac{u}{v}s_{in}$$

$$\dot{p} = 0$$

$$\dot{o} = -k_{o1}r_1x - \frac{u}{v}o$$

$$\dot{c} = -k_{c1}r_1x - \frac{u}{v}c$$

$$\dot{v} = u$$

$$r_1 = r_{crit} = \frac{\alpha o}{s + k_o} \quad (4.13)$$

$$\alpha = \frac{\mu_{m\acute{a}x,o}}{k_{os}} \quad (4.14)$$

Ahora bien, se debe analizar la estabilidad de lazo cerrado en base a la ley de control principal propuesta con  $u_r = 0$  y dado este hecho reescribiendo la ley de control propuesta el teorema 4 :

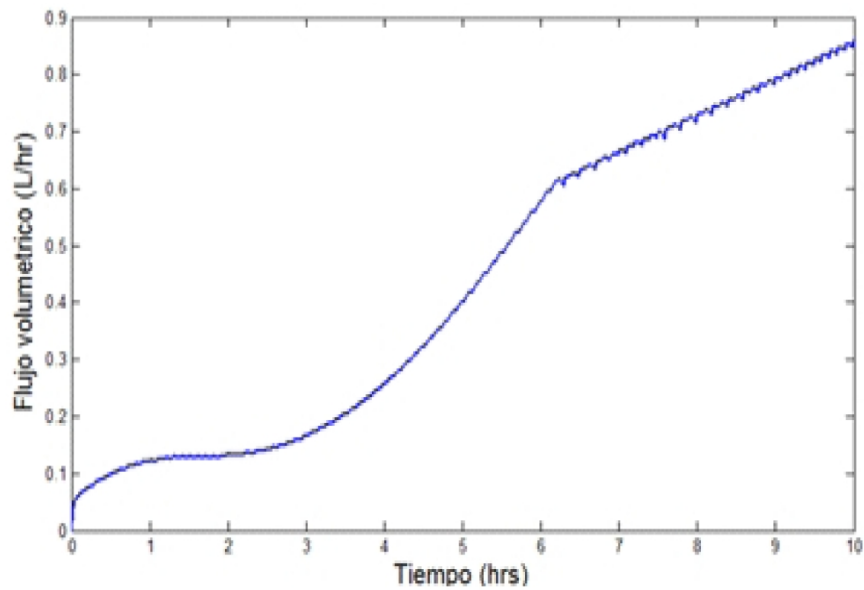


Figura 4.7: Señal de control implementada sobre el sistema biológico ( $L^*hr^{-1}$ )

$$\begin{aligned}
 -\frac{u}{v} &= b\frac{e}{x} - \hat{\delta} \\
 \dot{\hat{\delta}} &= -xe \\
 e &= x_r - x \\
 b &= k_p + r_1
 \end{aligned}$$

### Nota 1

Generalmente se requiere que el sistema de referencia sea un reactor en fase Batch, por lo que  $u_r = 0$ . Por lo tanto se tiene:

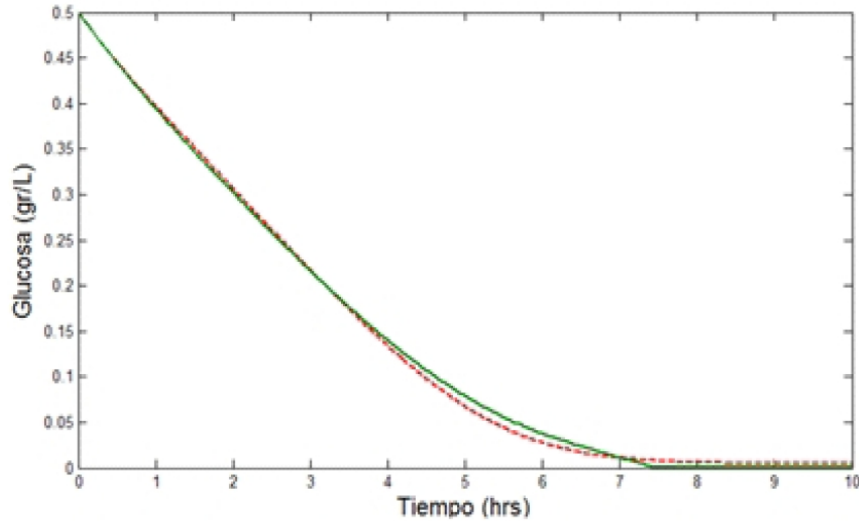


Figura 4.8: Dinámica del sustrato (glucosa) en presencia de control overflow (gr/L)

$$\begin{aligned}
 u &= \left(-b\left(\frac{x_r}{x} - 1\right) + \hat{\delta}\right)v \\
 \dot{\hat{\delta}} &= -x(x_r - x) \\
 b &= k_p + r_1
 \end{aligned}$$

Dado que el cociente  $\frac{x_r}{x} > 1$  ya que la biomasa de  $x < x_r$ , en este trabajo siempre emplearemos esta hipótesis dado que siempre la dinámica de referencia de biomasa siempre será más grande que la de la planta ya que siempre se  $x_r$  simboliza el crecimiento neto máximo. La ecuación diferencial  $\dot{\hat{\delta}} = -xx_r + x^2$  será siempre una ecuación diferencial convergente:

$$xx_r > x^2$$

$$\begin{aligned}\dot{\hat{\delta}} &= -f(x) \\ \hat{\delta} &= \hat{\delta}(0) - \int f(x)dt\end{aligned}$$

Se puede denotar que la dinámica de  $\hat{\delta}$  siempre estará acotada para  $x < x_r$  y la no negatividad de la variable  $x$ . Ya que físicamente la  $x_r$  denota el máximo posible, por lo que  $e$  siempre será un escalar positivo.

Con los siguientes cambios de variable siguientes, el sistema en lazo cerrado se propone de la siguiente forma:

$$\begin{aligned}\dot{s}_{dis} &= \dot{s} \\ s_{dis} &= s - s_{in}\end{aligned}\tag{4.15}$$

$$\dot{x} = k_{x_1}r_1x + be - \hat{\delta}x\tag{4.16}$$

$$\dot{s}_{dis} = -k_{s_1}r_1x + b\frac{e}{x}s_{dis} - \hat{\delta}s_{dis}$$

$$\dot{o} = -k_{o_1}r_1x + b\frac{e}{x}o - \hat{\delta}o$$

$$\dot{c} = -k_{c_1}r_1x + b\frac{e}{x}c - \hat{\delta}c$$

$$\dot{v} = -(b\frac{e}{x} - \hat{\delta})v$$

$$\dot{\hat{\delta}} = -xe$$

$$\dot{e} = k_{x_1}r_1x_r - a(k_{x_1}r_1x + be - \hat{\delta}x)$$

$$b = k_p + r_o$$

$$r_1 = r_o = \frac{\alpha o}{o + k_o}$$

$$\alpha = \frac{\mu_{\text{máx},o}}{k_{os}}$$

$$b = k_p + r_{o^*}\tag{4.17}$$

La siguiente matriz Jacobiana del sistema anterior:

$$\begin{bmatrix} a_1 & 0 & 0 & 0 & 0 & -x & b \\ a_2 & b\frac{e}{x} - \hat{\delta} & 0 & 0 & 0 & -s_{dis} & b\frac{s_{dis}}{x} \\ a_3 & 0 & b\frac{e}{x} - \hat{\delta} - k_{la} & 0 & 0 & o & b\frac{(o_{dis}+o^*)}{x} \\ a_4 & 0 & 0 & b\frac{e}{x} - \hat{\delta} - k_{la} & 0 & c & b\frac{(c_{dis}+c^*)}{x} \\ a_5 & 0 & 0 & 0 & -(b\frac{e}{x} - \hat{\delta}) & v & \frac{bv}{x} \\ -e & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -x \\ \hat{\delta}a & 0 & 0 & 0 & 0 & xa & -ba \end{bmatrix}$$

$$\begin{aligned} a_1 &= k_{x1} \frac{\alpha o}{o + k_o} - \hat{\delta} \\ a_2 &= -k_{s1} \frac{\alpha o}{o + k_o} - bes_{dis} \left( \frac{1}{x^2} \right) \\ a_3 &= -k_{o1} \frac{\alpha o}{o + k_o} \alpha k_o - be(o - o^*) \left( \frac{1}{x^2} \right) \\ a_4 &= -k_{c1} \frac{\alpha o}{o + k_o} - be(c - c^*) \left( \frac{1}{x^2} \right) \\ a_5 &= bev \left( \frac{1}{x^2} \right) \end{aligned}$$

Se sabe bien por la teoría de control moderna que si los valores propios de la matriz jacobiana son diferentes de cero, se puede hablar que los estados son acotados Usando los valores propios obtenidos por medio de la simulación numérica, una ganancia  $k_p = -10$  se obtienen los siguientes puntos de equilibrio los cuales serán utilizados para poder así calcular los valores propios:

$$\begin{aligned}
x_{op} &= 0,19 \\
e &= x_r - ax \\
a &= 0,98 \\
x_{r,op} &= 0,1862 \\
o_{op} &= 0 \\
s_{dis,op} &= -0,9 \\
c_{op} &= 0,02 \\
v_{op} &= 6,81 \\
e_{op} &= x_r^* - x^* = 0,19 - 0,1862 = 0,003 \\
\hat{\delta}_{op} &= -x^* e^* t = 0,00114 \\
r_1 &= 0 \\
b &= -10
\end{aligned} \tag{4.18}$$

**Nota 2**

1).- Para probar que los puntos de equilibrio anteriores de proponen el análisis de algunas relaciones sobre el modelo 4.17, dado que en este punto de trabajo el  $r_1 = 0$  dado que el valor de equilibrio de la variable oxígeno es cero,  $e = 0$  se obtiene

$$\begin{aligned}
be - \hat{\delta}x &= 0 \\
-10(0) &= 0,0014(0,19) \\
0 &\simeq 0,00012
\end{aligned}$$

Al sustituir los puntos de equilibrio (ver, 4.18) en el punto crítico el lado izquierdo del sistema 4.17 tiene prácticamente valor de cero, por lo que con esto podemos hablar

de que precisamente los valores 4.18 encontrados numéricamente son precisamente valores de equilibrio del sistema en lazo cerrado.

2).- El sistema en lazo cerrado en el punto de crítico tiene un punto de equilibrio anteriormente mencionado, el sistema fuera del punto de crítico y en presencia de los cambios discontinuos de la variable  $r_1$  es probable que tenga más de un punto de equilibrio, pero esto sale de los objetivos de este trabajo, ya que para motivos de este trabajo nos enfocamos en el estudio de los puntos de operación críticos.

La matriz jacobiana del sistema en lazo cerrado evaluada en los puntos de equilibrio (ver, 4.17) evaluada tiene la siguiente estructura:

$$\begin{bmatrix} -0,000114 & 0 & 0 & 0 & 0 & -0,19 & -10 \\ -0,9 & -0,15 & 0 & 0 & 0 & 0,9 & 47 \\ 0 & 0 & -1,1090 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1,66 & 0 & 0 & -1,1090 & 0 & 0,02 & -1,05 \\ -5,65 & 0 & 0 & 0 & -0,15 & 6,81 & -358,42 \\ -0,003 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -0,19 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0,00054 & 0,03 \end{bmatrix}$$

El espéctro de la matriz evaluada es el siguiente:  $\sigma(-3,491, -2,538 2 \times 10^{-3}, -0,15, -1,109, -1,109, -1,130 2, -2,508 4)$ . Donde es fácil apreciar que el sistema en lazo cerrado en este punto de operación es estable, el primer valor propio corresponde a la dinámica de la biomasa y dado que el objetivo es lograr maximizarla, es positivo. Pero para los demás estados incluyendo al error es negativos razón por la cual el menos en este punto de operación el sistema completo es estable al menos en esta región de trabajo.

## 4.7. Conclusiones del capítulo

En este trabajo se propone un controlador robusto y adaptable diseñado en base a un modelo reducido para resolver el problema de seguimiento de trayectoria de biomasa en un cultivo de alta densidad. El controlador resultante tiene una estructura simple con respecto a otros controladores propuestos en la literatura, lo que motiva su implementación en un proceso real. Se estudió, además la convergencia asintótica de la dinámica de la biomasa a una vecindad de la biomasa deseada, utilizando los modelos reducidos. Por medio de simulaciones numéricas, se evaluó el desempeño del controlador al utilizarlo sobre el modelo completo del bioreactor. Se observó en las simulaciones que la dinámica de la biomasa sigue la trayectoria predefinida a pesar de las perturbaciones del sistema.





# Capítulo 5

## Conclusiones generales

La demanda de bioproductos como lo son alimentos y medicamentos en el mundo crece exponencialmente, al igual que la población mundial. Actualmente una parte importante de estos productos se obtiene por medio del cultivo de microorganismos. En esta tesis fue tratado ampliamente dos problemas pertinentes al área de control de sistemas biológicos y bioprocesos: la estimación robusta de estados en un transformación estrictamente triangular de un modelo de bioproceso y el diseño de una ley de control para un sistema biológico complejo llamado de tipo over-flow.

La estimación de estados a través de observadores de alta ganancia como se mencionó anteriormente presento excelentes resultados en la estimación de estados en presencia de perturbaciones constantes en la entrada. Fue probada la estabilidad del error de estimación a través de funciones con estructura de Lyapunov. Se pudo llegar a criterios de convergencia a través de la proposición de una nueva prueba de estabilidad de observadores de alta ganancia de tipo LMI mediante el cumplimiento de la propiedad de excitación persistente (PE). Dicho trabajo deja abierto el problema de rechazo activo de distorsiones en la estimación de estados de un bioproceso en

línea.

Por otro lado el capítulo de titulado "Control robusto para el cultivo de microorganismos en bioreactor fed-batch de alta densidad" se planteó un modelado y un diseño de un control robusto a incertidumbres en el modelamiento de un cultivo complejo de un microorganismo en un bioreactor en lote alimentado. Se diseñó un control robusto en base a un modelo reducido el cual sirvió como base para aplicar a su después dicho control sobre la planta completa, se probó estabilidad en el sentido de Lyapunov del error de seguimiento. Este trabajo representa una manera de como la teoría de control puede abordar problemas de carácter complejo, queda abierto la implementación en tiempo real de dichas técnicas lo cual es una tarea ardua dado la complejidad y la cantidad de las variables involucradas en el modelo de dicho bioproceso.

# Capítulo 6

## Bibliografía

- [1] P. Agrawal, H. Lim., S.L. Chen, G. Bastin, V. van Breusegem, Analyses of various control schemes for continuous bioreactors. *Advances in Biochemical Engineering/biotechnology*, 30, 61-90.
- [2] K. Busawon and J. de León, An observer design for uniformly observable non-linear systems. *International Journal of Control*, 73,1375-1381,2000.
- [3] K. Busawon and P. Kabore, Disturbance attenuation using proportional integral observers. *International Journal of Control*, 72,618-627, 2001.
- [4] F. Celle, J. Gauthier, D. Kazakos and G. Sallet, Orthogonal representations of nonlinear systems and input-output maps. *Systems & Control Letters*, 7,365-372, 1986.
- [5] F. Celle, J. Gauthier, D. Kazakos y G. Sallet, Synthesis of nonlinear observers: A harmonic analysis approach. *Math. Syst. Theory*, 22, 291-322, 1989.
- [6] F. Deza, E. Busvelle, J.P. Gauthier, D. Rakotopara, High gain estimation for nonlinear systems. *Systems & Control Letters*, 18, 295-299,1992.
- [7] S. Diop y M. Fliess, Nonlinear observability, identifiability, and persistent.

30th Proceedings of the IEEE Conference on Decision and Control, 1,714-719, 1991.

[8] M. Farza, K. Busawon and H. Hammouri, Simple nonlinear observers for on-line estimation of kinetic rates in bioreactors. *Automatica*. 34,301-318, 1998.

[9] M. Farza, I. Bouraoui, T. Menard and R. Abdenmour, M'Saad, Adaptive observers for a class of uniformly observable systems with nonlinear parametrization and sampled outputs. *Automatica* 50, 2951-2960, 2014.

[10] M. Fliess and I. Kupka, A finiteness criterion for nonlinear input-output differential systems. *SIAM J. Contr. Optimiz.*, 21, 721-728, 1983.

[11] V. Lemesle and L. Gouzé, Hybrid bounded error observers for uncertain bioreactor models, *Bioprocess and Biosystems Engineering*, August 27, 311-318, 2005.

[12] J.A. Moreno, Proportional-Integral Observer design for nonlinear systems. 7th IEEE Conference on Decision and Control, CDC, DOI 10.1109/CDC.2008.4739282, 2008.

[13] J.P. Gauthier, H. Hammouri, S. Othman, A simple observer for nonlinear systems applications to bioreactors, *Automatic Control, IEEE Transactions on*, 37, 875-880, 1992.

[14] H. Niemann, J. Stoustrup y B. Shafai, LTR Design of Proportional Integral Observers. *Int. J. of Robust and Nonlinear control*, 5, 671-693, 1995.

[15] M. Perrier, J. Feyo de Azevedo, E. C. Ferreira and D. Dochain, Tuning of Observer-Based Estimators: Theory and Application to the On-line Estimation of Kinetic Parameters. *Control Engineering Practice*, 8: 377-388, 2000.

[16] A. Rodríguez-Mata, J.A. Torres-Muñoz, A.R. Domínguez, D. Hernandez-Villagran and S. Celikovsky, Nonlinear high-gain observers with integral action: Application to bioreactors. 8th Int. Conf. on Electrical Engineering Computing Science and Automatic Control (CCE), DOI 10.1109/ICEEE.2011.6106611, 2011.

[17] B. Shafai y R. L. Carroll, Design of proportional integral observers for

linear time varying multivariable systems. Proceedings of the IEEE CDC, Piscataway, N.J, 1985.

[18] K. Schugerl, Progress in monitoring, modelling and control of bioprocesses during the last 20 years. *Journal of Biotechnology*, 85, 149-173, 2001.

[19] M. Zeitz. The extended Luenberger observer for nonlinear systems. *Systems & Control Letters*, 9,149-156, 1987.

[20] Gauthier J.P., Hammour, H., Othman S., (1991). A simple observer for nonlinear systems applications to bioreactors. *Automatic Control, IEEE Transactions on* 37: 875-880.

[21] R. Hermann and A.J. Krener, (1977). Nonlinear controllability and observability. *IEEE Trans. on Automatic Control*, 22(5):728–740.

[22] Shafai B. and Carroll R. L., (1985). Design of proportional integral observers for linear time varying multivariable systems. Proceedings of the IEEE CDC, Piscataway, N.J.

[23] Perrier M., Feyo de Azevedo J., Ferreira E. C. and Dochain D., (2000). Tuning of Observer-Based Estimators: Theory and Application to the On-line Estimation of Kinetic Parameters. *Control Engineering Practice*, 8: 377-388..

[24] Schugerl K., (2001). Progress in monitoring, modelling and control of bioprocesses during the last 20 years. *Journal of Biotechnology*, 85, 149-173.

[25] Domínguez A.R., Torres-Muñoz J.A., Carmona R. and Aguilar R., (2009). Estudio teórico practico de la remoción de contaminantes presentes en el rio de Los Remedios, Estado de México. (In Spanish) *Ingenieria hidráulica en México*, 24: 81-91.

[26] Travieso L., Sánchez E. and Bora R., (2004). Evaluation of laboratory and full-scale microalgae pond for tertiary treatment of piggery wastes. *Environmental Technology*. 25:565-576.

[27] Vega-Estrada J., Montes-Horcasitas M.C. and Domínguez-Bocanegra A.

R., (2004). Haematococcus pluvialis cultivation in split-cylinder internal-loop air-lift photobioreactor under aeration conditions avoiding cell damage. *Appl Microbiol Biotechnol* 68: 31–35.

[28] Anderson B. and Moore J., (1991). *Linear Optimal Control*, Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J.

[29] Diop S. and Fliess M., (1991). Nonlinear observability, identifiability, and persistent ..... 30th Proceedings of the IEEE Conference on Decision and Control, 1:714- 719.

[30] Lemesle V., Gouzé L. (2005), Hybrid bounded error observers for uncertain bioreactor models, *Bioprocess and Biosystems Engineering*, August 27: 311-318.

[31] Mairet F., Bernard O., Masci P., Lacour T. and Sciandra A. (2011), Modelling neutral lipid production by the microalga *Isochrysis aff. galbana* under nitrogen limitation, *Bioresource Technology* 102: 142–149.

[32] Gouzé L., Rapaport A., Hadj-Sadok M. (2000), Interval observers for uncertain biological systems, *Ecological Modelling*, 133: 45–56.

[33] Alcaraz-González V., Harmand J., Rapaport A. and Steyer J. P., (2002). Software sensors for highly uncertain WWTPs: a new approach based on interval observers, *Water research*, 36: 2515–2524.

[34] Bejarano F. and Fridman L. (2010), High order sliding mode observer for linear systems with unbounded unknown inputs, *International Journal of Control*, 83: 1920–1929.

[35] Sanchez-Torres J., Loukianov G. and Moreno J. (2012), An Equivalent Control Based Sliding Mode Observer Using High Order Uniform Robust Sliding Operators 2012 American Control Conference 27-June 29.

[36] Busawon and J. De León, An observer design for uniformly observable non-linear systems, *Internationalo Journal of Control*:73, 2000,1375-1381

- [37] Traoré D., De Leon J. and Glumineau J. (2012), Adaptive interconnected observer-based backstepping control design for sensorless induction motor, *Automatica* 48: 682–687
- [38] Fridman L., Shtessel Y., Edwards C. and Yan X. (2007), Higher-order sliding-mode observer for state estimation and input reconstruction in nonlinear systems, *International journal of robust and nonlinear control*, DOI: 1002/rnc.1198
- [39] Liang X., Zhang J., and Xia X. (2008), Adaptive Synchronization for Generalized Lorenz Systems, *IEEE Transactions on automatic control*, 53:1740-1746.
- [40] Besançon G., D. León-Morales J., and Huerta-Guevara O. (2006), On adaptive observers for state affine systems, *International Journal. Control*, 79: 581–591.
- [41] Zhang Q. (2002), Adaptive observer for multiple-input-multiple-output (mimo) linear time-varying systems, "IEEE Transsctions on Automatic Control, 47:525–529.
- [42] Dochain D. Bastin G., (1984), Adaptive identification and control algorithms for nonlinear bacterial growth systems, *Automatica* 20, 621-634.
- [43] Rolf M., Lim H., (1985), Experimental adaptive on-line chemical bioreactor, *Chem Eng. Common*, 229-255.
- [44] Harmon J., Snoronos S., Adaptive steady-state optimization of biomass productivity in continuous fermentors, *Biotechnol Bioeng* 30, 335-344.
- [45] Hammer J., Richenberger C., (1988), On-line optimization control of a packer-bed immobilized cell reactor, *CheR. J.*, 626-632.
- [46] Semones G, Lim H., (1989) Experimental multivariable adaptive optimization of the steady cellular production of a continuous baker's yeast culture, *Biotech Bioeng*, 16-25.
- [47] Patwardhan S.C., (1993) Nonlinear predictive control using approximate



second order perturbation model, *Ind. Egn Res*, 334-344.

[48] Henson M.A., Seborg D.E., Nonlinear control strategies for continuous fermenters, *Chem*, 821-835.

[49] Rangiah, G. (1997), Robust control of a continuous fermenter, *Proceedings of the Indian Institute of chemical engineering golden jubilee congress*, 1059-1067.

[50] Liang X., Zhang J., and Xia X. (2008), Adaptive Synchronization for Generalized Lorenz Systems, *IEEE Transactions on automatic control*, 53:1740-1746.

[51] Abbaszadeh, M., Marquez, H.J, (2012) A generalized framework for robust nonlinear filtering of Lipschitz descriptor systems with parametric and nonlinear uncertainties, *Automatica* 2012, 48, (5), 894-900.

[52] Bastin, G. and Gevers, M. (1988), Stable adaptive observers for nonlinear time varying systems, *IEEE Trans. on Automatic Control*, (33), 650-658.

[53] Bornard, G., Celle-Couenne, F. and Gilles, G., (1995) Observability and observers. In *Nonlinear Systems - T.1, 'Modeling and Estimation'*, Chapman & Hall, London, 173-216

[54] Cañiñares, R.O., Dominguez (1993), A.R., Growth of *Spirulina maxima* on swine waste, *Bioresource Technology* 1993, 45, 73-75

[55] Chen, M.-S., Chen, C.C., (2007), Robust nonlinear observer for Lipschitz nonlinear systems subject to disturbances', *IEEE Trans. on Automatic Control*, 2365-2369.

[56] Dominguez -Bocanegra, A.R., Torres-Muñoz J.A., and Aguilar R.: 'Production of Bioethanol from agro-industrial wastes', *FUEL* 2014, DOI: 10.1016/j.fuel.09.062

[57] Emov, D., Fridman, L., (2011), Global sliding-mode observer with adjusted gains for locally Lipschitz systems', *Automatica*, 565-570

[58] Ekramian, M., Sheikholeslam, F., Hosseinnia, S., et al, (2013), Adaptive state observer for Lipschitz nonlinear systems', *Syst. Control Lett.*, 315 -323.

- [59] Hammouri, H., Nadri, M.. (2013), An observer design for a class of implicit systems, *Syst. Control Lett.*, 256-261.
- [60] Karimi, H.R., Zapateiro, M. and Luo, N., (2008), A linear matrix inequality approach to robust fault detection design of linear systems with mixed time-varying delays and nonlinear perturbations, *J. Franklin Ins.*, 957-973.
- [61] H. Khalil.: *Nonlinear Systems*, (2002), Prentice Hall, 3rd edition, NJ.
- [62] Kreisselmeier, G., (1977) Adaptive observers with exponential rate of convergence, *IEEE Trans. on Automatic Control*, 2-8.
- [63] Khosrowjerdi, M.J., (2011), Mixed H<sub>2</sub>/H<sub>∞</sub> approach to fault-tolerant controller design for Lipschitz non-linear systems, *IET Control Theory A.*, 299-307.
- [64] Lan, Y.-H., Zhou. Y., (2013), Non-fragile observer-based robust control for a class of fractional order nonlinear systems, *Syst. Control Lett.*, 1143-1150
- [65] R. Marino and P. Tomei, (1995), *Nonlinear Control Design. Geometric, Adaptive and Robust* Prentice Hall.
- [66] Marino, R. and Tomei, P., (1995) Adaptive observers with arbitrary exponential rate of convergence for nonlinear systems, *IEEE Trans. on Automatic Control*, 1300-1304.
- [67] Zhang, Q. (2002), Adaptive observer for multiple-input-multiple-output (mimo) linear time-varying systems, *IEEE Trans. on Automatic Control*, 525-529
- [68] Wu, H., (2013), A class of adaptive robust state observers with simpler structure for uncertain non linear systems with time varying delays, *IET Control Theory Appl.*, 218-227
- [69] Álvarez J., Álvarez J. y E. González. (1989) Global nonlinear control of a continuous stirred tank reactor, *Chemical Engineering Science*, 5, 1147-1160.
- [70] Alvarez-Ramirez J. y Morales A. (2000) Pi control of continuously stirred Tank reactors: stability and performance, *Chemical Engineering Science*, 5497-5507.

- [71] Bourriot, S., Garnier, C. y Doublier, J.L. (1999). Phase separation, Theology and microstructure of micellar casein-guar gum mixtures. *Food Hydrocolloids* 7, 90-95.
- [72] Bastin G. and Dochain D., (1990). *On-line estimation and adaptive control of bioreactors*, Elsevier.
- [73] Bulsari, *Neural Networks for Chemical Engineers*. 1995. Amsterdam: Elsevier.
- [74] Latrille E., Corrieu G., Thibault J. (1994). Neural network models for final process time determination in fermented milk production. *Computers Chem Eng*, 1171-81.
- [75] Notie J., and Bassdres A. (1994). Biotreatment of anaerobically digested swine manure with microalgae, 17-31.
- [76] Pauw N., Bruggerman E, Persoone B. (1976). Research on the tertiary treatment of swine waste by mass culturing of algae,
- [77] Monod J. (1954). La technique de cultures continues; théorie et applications. *Ann. Inst. Pasteur*, 390-410.
- [78] Olgún, Galicia S., Mercado G., Pérez T. (2003). Annual productivity of *Spirulina* (*Arthrospira*) and nutrient removal in a pig wastewater recycling process under tropical conditions. *Journal of Applied Phycology*, 249-257.
- [79] Oswald W.J. (2001). Introduction to advanced integrated wastewater ponding systems. *Wat.SciTech*, pp. 1-7.
- [80] Lee J., Lee J., Park S., Middelberg A. (1999). Control of fed-batch fermentations, *Biotechnology Advances*, 29-48.
- [81] Johnson A. (1987). The Control of Fed-batch Fermentation, *Automatica*, 691-705.
- [82] Radhakrishnan T.K., Sundaram S., Chidambaram M. (1999). Non-linear

control of continuous bioreactors, *Bioprocess Engineering*, 173-178.

[83] H. Hussain (1999). Review of the applications of neural networks in chemical process control and simulation and online implementation, *Artificial Intelligence in Engineering*, 55-68.

[84] Aguilar R., González J., Barrón M. , Martínez-Guerra R. , Maya-Yescas R.(2001). Robust  $PI^2$  controller for continuous bioreactors, *Process Biochemistry*, 1007-1013.

[85] SchaumA., Alvarez J. , Lopez-Arenas T.(2012), Saturated PI control of continuous bioreactors with Haldane kinetics, *Chemical Engineering Science*, 520–529.

[86] Cañizares R.O., RivasL., Montes.L., Domínguez A.R. (2004). Aereated swime wastewater treatment with k-carrageenan immobilized *Spirulina maxima*. *Bioresouce Technology*, 89-91.

[87] Bernard O.(2011). Hurdles and challenge for modeling and control of microalgae for CO<sub>2</sub> mitigation and biofuel production, *Journal of process control*,1378-1389

[88] Aguilar R., Martínez-Guerra R. and Maya-Yesca R.(2003). State estimation for partially unknown nonlinear systems: a class of integral high gain observers, *IEEE Proc.- Control Theory Appl.*, 240-244.

[89] Sanchez A., Alvarez J.,Suarez R. (1989). Control robusto no lineal de un reactor continuo de polimerización ,*Avances en ingeniería química*, 769-780.

[90] Alvarez J., Suarez R., Sanchez A. (1990). Nonlinear decoupling control of free-radical polymerization continuous stirred tank reactors, *Chemical Engineering Science*,3341-3357

[91] Aguilar R., Soto G., Martínez S., Maya-Yescas R.(2004). Sunstrate regulation in fixed bed bioreactor via feedback control, *Revista mexicana de ingeniería*

química,1-11.

[92] Ruiz-Leza H., Rodríguez-Jasson R.N., Rodríguez-Herrera, Contreras-Esquivel J.C., Aguilar C.N. (2007). Diseño de bioreactores para fermentación en medio solido, revista mexicana de ingeniería química,1,33-10

[93] Bastin G., Dochain D.,(1990), On-Line Estimation and Adaptive Control of Bioreactors, Process Measurement and Control, vol. 1. Elsevier, Amsterdam,

[94] Boyd S., El-Ghaoui L., Feron E., Balakrishnan V., (1994), Linear Matrix Inequalities in System and Control Theory. SIAM, Philadelphia.

[95] Chen L., Bastin G., Breusegem V. van, (1995) A case study of adaptive nonlinear regulation of fed-batch biological reactors. Automatica, , 55–65.

[96] Sira-Ramirez H. , Luviano-Juarez A. y Cortes-Romero J., (2012), Flatness-based linear output feedback control for disturbance rejection and tracking tasks on Chua's circuit, International Journal of control, 594-602.

[97] Dewasme L , Vande Wouwer A., Srinivasan, (2009), M. Perrier, Adaptive extremum-seeking control of fed-batch cultures of micro-organisms exhibiting overflow metabolism. In: Proceedings of the ADCHEM Conference in Istanbul, Turkey, July.

[98] Villadsen J., Patil K,(2007), Optimal Fed-Batch cultivation when mass transfer becomes limiting Biotechnology and Bioengineering, 706-709.

[99] Xu B., Jahic M. y Enfors, S. (1999) Modeling of overflow metabolism in batch and fed- batch cultures of Escherichia coli, Biotechnol, 81-90.

[100] Dewasme L., D. Coutinho y A. Wouwer, (2011) Adaptive and Robust Linearizing Control Strategies for Fed-Batch Cultures of Microorganisms Exhibiting Overflow Metabolism, Informatics in Control, Automation and Robotics, 283-305.

[101] Dewasme L., Srinivasan B., Perrier M. y Wouwer A. (2011), Extremum-seeking algorithm design for fed-batch of microorganisms with overflow metabolims, Journal of process control, 1092-1104.

- [102] Kim Beom, Lee, S. , Y., B. Srinivasan, Perrier y Wouwer A., (2011), Extremum-seeking algorithm design for fed-batch of microorganisms with overflow metabolism, *Journal of process control*, 1092-1104.
- [103] A. Rodríguez-Mata, J. Torres-Muñoz, A.R. Domínguez; D. Hernandez-Villagranand S. Celikovsky, Nonlinear high-gain observers with integral action: Application to bioreactors, *IEEE congress, CCE 2011*.
- [104] A. E. Rodriguez , J. Torres Muñoz, J. Pérez-Correa, A. Dominguez , Gerardo R. Flores, Robust State Estimation in Presence of Uncertainty by NL-PI observers. An Application to Continuous Microbial Cultures, authors, *IEEE transtions latinoamerica*, aceptado en espera de publicación en Junio 2016.