



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA



TESIS

Presentada para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS

por

Vicente Peña Caballero

Ingeniero Biotecnólogo

**“Diseño de un sensor suave para
estimar el k_{La} de un sistema
fermentación utilizando
sistemas no lineales”**

Dirigida por

Dr. Agustín Ignacio Cabrera Llanos

México, Distrito Federal

Septiembre 2008



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

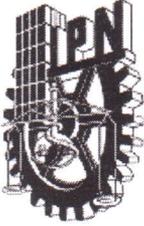
CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS

En la ciudad de México, D.F. el día 5 de septiembre del año 2008, el que suscribe Vicente Peña Caballero alumno del Programa de Maestría en Ciencias en Bioprocesos con número de registro A060447, adscrito a la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dr. Agustín Ignacio Cabrera Llanos y cede los derechos del trabajo titulado “Diseño de un sensor suave para estimar el K_{La} de un sistema de fermentación utilizando sistemas no lineales”, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deberán de reproducir el contenido textual, las gráficas o los datos del trabajo sin permiso expreso del autor o del director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección ibtvicente@yahoo.com.mx . Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.



Vicente Peña Caballero



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACION Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México siendo las 13:00 horas del día 18 del mes de agosto del 2008 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Posgrado de UPIBI para examinar la tesis de grado titulada: "Diseño de un sensor suave para estimar el KLa de un sistema de fermentación utilizando sistemas no lineales"

presentada por el alumno:

Peña
Apellido paterno

Caballero
materno

Vicente
Nombre

con registro: A 0 6 0 4 4 7

aspirante de:

Maestría en Ciencias en Bioprocesos.

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Director de tesis

Dr. Agustín Ignacio Cabrera Llanos

Dr. Edgar Salgado Manjarrez

Dr. Juan Silvestre Aranda Barradas

Dr. Sergio García Salas

Dr. Claudio Garibay Orijel

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

Dr. Edgar Salgado Manjarrez.

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
UNIDAD PROFESIONAL
INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA
SECCIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACION

0.3. Dedicatorias y Agradecimientos

Dedico este trabajo a:

Mi madre y en especial Gloria

Agradezco a:**Mi familia**

Mi mama

María Caballero García por darme la oportunidad de estar en este camino tan maravilloso que es la vida y por ayudarme entender que la vida podría ser lo que soñé, pero sobre todo por tu ejemplo de lucha día a día en tu forma de ver y entender la realidad y por darme amor con tan sólo una mirada.

A mi hermano José Juan Peña Caballero y su familia Teresa, Jenny, Fanny y Oscar por su apoyo.

A la familia Granados Mercado por la confianza depositada en mi persona, gracias Gloria por apoyarme en este sueño y sobre todo por darme la oportunidad de estar a tu lado.

A mi asesor

Dr. Agustín Ignacio Cabrera Llanos

Un especial agradecimiento por su ayuda y dirección en este trabajo, por su ejemplo de disciplina y constancia en el trabajo y por los conocimientos adquiridos pero sobre todo por sus consejos y amistad.

A mis evaluadores

Dr. Claudio Garibay Origel, Dr. Edgar Salgado Manjarrez, Dr. Juan Silvestre Aranda Barradas y Dr. Sergio García Salas gracias por su paciencia y tiempo dedicado a este trabajo. En especial a los Drs. Edgar y Juan por ser un ejemplo de pasión al trabajo en las aulas y en la ciencia y por su entrega por la biotecnología en UPIBI y por ser pilares de lo que fue, lo que es y lo que será nuestra casa de estudios.

A mis amigos

Sergio Medina Llanos, un especial agradecimiento por tu ayuda en aquellos momentos tan difíciles gracias, siempre te estaré agradecido y Naur Flores Uscanga.

Índice general

0.1. Índice de Figuras	9
0.2. Índice de Tablas	13
0.3. Dedicatorias y Agradecimientos	14
0.4. Resumen	15
0.5. Justificación	16
0.6. Objetivo General	17
0.7. Objetivos particulares	17
0.8. Contenido de la Tesis	17
1. Análisis del sistema: Biorreactor	1
1.1. Introducción	1
1.2. Consideraciones	1
1.3. Modelo del bioreactor tanque agitado continuo	2
1.4. Análisis del biorreactor	3
1.4.1. Balance general de masa	5
1.4.2. Biomasa	5
1.4.3. Substrato	6
1.4.4. Producto	6
1.4.5. Reactor lote	6
1.4.6. Reactor lote alimentado	7
1.4.7. Reactor continuo	9
1.5. Transferencia de Masa gas-Líquido	10
1.5.1. Transferencia de masa en interfase gas-líquido	12
1.5.2. Transferencia de masa gas-líquido	13
1.5.3. Velocidad volumétrica de transferencia de oxígeno	13
1.6. Balance de masa para C_t en fase líquida	14
1.7. Determinación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa	15
1.7.1. Métodos para determinar $k_L a$	15
1.7.2. Método dinámico modificado	17
1.8. Control de oxígeno en los procesos de fermentación	17

2. Sistemas no Lineales	19
2.1. Introducción	19
2.2. Sistema no lineal	19
2.3. Redes neuronales artificiales	21
2.3.1. Modelo de la neurona artificial	23
2.3.2. La función de activación $\varphi(\bullet)$	24
2.3.3. Estructuras de las redes neuronales artificiales	25
3. Sensores Virtuales	29
3.1. Introducción	29
3.1.1. Monitoreo de procesos de fermentación	30
3.1.2. Estimadores de estados y parámetros en bioprocesos	31
3.2. Estimación a través de elementos de balance	34
3.2.1. Estimación a través de observadores adaptables	34
3.2.2. Técnicas de filtrado	36
3.2.3. Redes neuronales artificiales	36
3.2.4. Redes neuronales diferenciales	36
4. Diseño del Estimador para el Parámetro $k_L a_t$	37
4.1. Introducción	37
4.2. Metodología experimental	37
4.2.1. Sistemas de cultivos	37
4.2.2. Fermentación: <i>S. cerevisiae</i>	38
4.2.3. Fermentación: <i>A. vinelandii</i>	38
4.3. Metodología para el software sensor: diagrama a bloques	39
4.4. Modelo del bioreactor: esquema básico	41
4.4.1. Dinámica general del modelo	42
4.5. Redes neuronales diferenciales	43
4.5.1. Identificador de estados	45
4.5.2. Observador de estados	46
4.5.3. Método de entrenamiento de la red	48
4.6. Estimación de parámetros: algoritmos	50
4.6.1. Modelo matemático del proceso de fermentación	50
4.7. Estado estable o cuasi-estable	52
4.8. Coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno aparente	54
4.9. Análisis de estabilidad del biorreactor	54
4.10. Estimador en línea para la velocidad específica de crecimiento, μ_t	55
4.10.1. Estabilidad y convergencia: caso libre de perturbaciones	56
4.10.2. Estabilidad y convergencia: caso con perturbaciones	60
4.11. Estimador 2: Coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $k_L a_t$	62
4.11.1. Prueba de estabilidad del estimador de $k_L a_t$	65
4.12. Solución de los algoritmos	66

5. Resultados y Discusión	69
5.1. Introducción	69
5.2. Datos experimentales: Base de datos	69
5.2.1. Coeficientes de rendimiento de masa	71
5.3. Aplicación del software sensor a datos experimentales	71
5.4. Diseño de la red neuronal diferencial	72
5.5. Diseño de los parámetros del neuro-observador diferencial	73
5.6. Corrida experimental CDA: Reactor lote alimentado (<i>S. cerevisiae</i>)	74
5.6.1. Estados experimentales	74
5.6.2. Dinámica de alimentación al biorreactor	75
5.6.3. Estimación de los parámetros experimentales o teóricos $\hat{\mu}_t^{Exp}$ y $k_L a_t^{Exp}$	76
5.6.4. Diseño A de los parámetros C_1 y C_2	76
5.6.5. Observación del error $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$	77
5.6.6. Norma del error de \hat{X}_t^{Exp}	77
5.6.7. Evolución de la velocidad específica de crecimiento estimada, $\hat{\mu}_t^{Exp}$	78
5.6.8. Coeficiente volumétrico de transferencia de masa teórico $k_L a_t^{Exp}$	78
5.6.9. Diseño B los parámetros C_1 y C_2	79
5.6.10. Observación del error $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$	79
5.6.11. Norma del error de \hat{X}_t^{Exp}	80
5.6.12. Evolución de la velocidad específica de crecimiento estimada, $\hat{\mu}_t^{Exp}$	80
5.6.13. Coeficiente volumétrico de transferencia de masa teórico $k_L a_t^{Exp}$	81
5.6.14. Selección final de los parámetros C_1 y C_2	81
5.6.15. Observación del error $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$	82
5.6.16. Norma del error de \hat{X}_t^{Exp}	82
5.6.17. Evolución de la velocidad específica de crecimiento estimada, $\hat{\mu}_t^{Exp}$	83
5.6.18. Coeficiente volumétrico de transferencia de masa teórico $k_L a_t^{Exp}$	83
5.6.19. Estimación de estados experimentales	85
5.6.20. Identificación de estados experimentales	85
5.6.21. Dinámica de la ley de aprendizaje	86
5.6.22. Observación de estados experimentales	87
5.6.23. Biomasa observada, X_t^{Obs}	88
5.6.24. Substrato observado, S_t^{Obs}	89
5.6.25. Oxígeno observado, C_t^{Obs}	90
5.6.26. Volumen observado, V_t^{Obs}	90
5.6.27. Estimación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa $\hat{k}_L a_t^{obs}$	91
5.6.28. Velocidad específica de crecimiento, $\hat{\mu}_t^{Obs}$	91
5.6.29. Diseño de los parámetros C_1 y C_2 : Diseño A	91

5.6.30.	Diseño de los parámetros C_1 y C_2 : Diseño B	94
5.6.31.	Diseño de los parámetros C_1 y C_2 : Diseño C	94
5.6.32.	Diseño de los parámetros C_1 y C_2 : Diseño D	95
5.6.33.	Diseño de los parámetros C_1 y C_2 : Diseño E	95
5.6.34.	Diseño de los parámetros C_1 y C_2 : Diseño F	96
5.6.35.	Coefficiente volumétrico de transferencia de masa $\widehat{k_L a_t}^{obs}$	97
5.7.	Corrida experimental CDA-1: Reactor lote alimentado (<i>S. cere-</i> <i>viciae</i>)	99
5.7.1.	Estados experimentales	99
5.7.2.	Identificación de estados experimentales: X_t^{Exp} , S_t^{Exp} , V_t^{Exp} y $C_t^{Setpoint}$	100
5.7.3.	Evolución de los pesos	101
5.7.4.	Entrenamiento de la RND	101
5.7.5.	Flujo de alimentación al biorreactor	102
5.7.6.	Velocidad específica de crecimiento experimental	102
5.7.7.	Estimación de la velocidad específica de crecimiento ex- perimental (μ_t^{Exp})	103
5.7.8.	Observación del error $X_t^{Exp} - \widehat{X}_t^{Exp}$	104
5.7.9.	Norma del error de \widehat{X}_t^{Exp}	104
5.7.10.	Coefficiente volumétrico de transferencia de masa de ref- erencia, $k_L a_t^{Exp}$	105
5.7.11.	Observación de estados experimentales.	105
5.7.12.	Velocidad específica de crecimiento observada, $\widehat{\mu}_t^{Obs}$	108
5.7.13.	Coefficiente volumétrico de transferencia de masa $\widehat{k_L a_t}^{obs}$	109
5.8.	Corrida experimental CDA-2: Reactor lote alimentado (<i>S. cere-</i> <i>visiae</i>)	110
5.8.1.	Estados experimentales	110
5.8.2.	Flujo de alimentación al biorreactor	110
5.8.3.	Velocidad específica de crecimiento experimental, μ^{Exp}	111
5.8.4.	Estimación de la velocidad específica de crecimiento ex- perimental ($\widehat{\mu}_t^{Exp}$)	112
5.8.5.	Observación del error $X_t^{Exp} - \widehat{X}_t^{Exp}$	112
5.8.6.	Coefficiente volumétrico de transferencia de masa aparente	113
5.8.7.	Identificación de estados experimentales: X_t^{Exp} , S_t^{Exp} , V_t^{Exp} y $C_t^{Setpoint}$	114
5.8.8.	Evolución de los pesos	115
5.8.9.	Estimación de biomasa y substrato	116
5.8.10.	Evolución de los pesos	118
5.8.11.	Velocidad específica de crecimiento observada, $\widehat{\mu}_t^{Obs}$	119
5.8.12.	Norma del error	120
5.8.13.	Coefficiente volumétrico de transferencia de masa $\widehat{k_L a_t}^{obs}$	121
5.9.	Corrida experimental CDA-IBT: Reactor lote (<i>A. vinelandii</i>)	122
5.9.1.	Estados experimentales	122

0.1. Índice de Figuras

- 1-1: Arreglos para operación del biorreactor
- 1-2: Biorreactor
- 1-3: Modelo físico para la transferencia de oxígeno a través de la película de líquido
- 1-4: Resistencias que presenta el oxígeno antes de que sea consumido por las células
- 1-5: Método dinámico
- 1-6: Determinación grafica de $k_L a_t$
- 2-1. Biorreactor y su interacción con el medio ambiente
- 2-2. Modelo básico de la red neuronal artificial
- 2-3: Función sigmoide
- 2-4. Estructuras de las RNA
- 3-1: Mediciones comunes y control del biorreactor
- 3-2. Estructura de un observador de Luenberger
- 4-1: Esquema general de control de un biorreactor
- 4-2: Diagrama general a bloques de la metodología
- 4-3: Sistema (biorreactor)
- 4-4: Diagrama a bloque del observador basado en RND
- 4-5: Diagrama a bloques para el idendificador
- 4-6: Diagrama a bloques de la estructura del observado
- 4-8: Diagrama en Simulink para simular μ_t^{Exp} y $k_L a_t^{Exp}$.
- 4-7 Dinámica de S_t , reactor lote alimentado (*S. cerevisiae*)
- 5-1: Evolución de los datos experimentales **CDA**
- 5-2: Dinámica del flujo de alimentación en el biorreactor para **CDA**
- 5-3: **CDA**. Evolución de $X_t^{Exp} - \widehat{X}_t^{Exp}$ con $C_1 = 0,007 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-4: **CDA**. Norma del error de \widehat{X}_t^{Exp} con $C_1 = 0,007 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-5: **CDA**. Evolución de $\widehat{\mu}_t^{Exp}$ con $C_1 = 0,007 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-6: **CDA**. Evolución de $k_L a_t^{Exp}$ con $C_1 = 0,007 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-7: **CDA**. Evolución de $X_t^{Exp} - \widehat{X}_t^{Exp}$ con $C_1 = 0,07 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-8: **CDA**. Norma del error de \widehat{X}_t^{Exp} con $C_1 = 0,07 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-9: **CDA**. Evolución de $\widehat{\mu}_t^{Exp}$ con $C_1 = 0,07 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-10: **CDA**. Evolución de $k_L a_t^{Exp}$ con $C_1 = 0,07 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-11: **CDA**. Evolución de $X_t^{Exp} - \widehat{X}_t^{Exp}$ con $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-12: **CDA**. Norma del error de \widehat{X}_t^{Exp} con $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$

5.9.2. Velocidad específica de crecimiento experimental estimada, $\widehat{\mu}_t^{Exp}$ 122

5.9.3. Identificación de estados experimentales: X_t^{Exp} , S_t^{Exp} , V_t^{Exp} 124

5.9.4. Evolución de los pesos 125

5.9.5. Observación de los estados experimentales con el NOD . . 126

5.9.6. Substrato 127

5.9.7. Oxígeno 128

5.9.8. Evolución de los pesos 128

5.9.9. Velocidad específica de crecimiento observada, $\widehat{\mu}_t^{Obs}$. . . 129

5.9.10. Norma del error $\widehat{\mu}_t^{Exp} - \widehat{\mu}_t^{Obs}$ 130

5.9.11. Observación del error de $X_t^{Obs} - \widehat{X}_t^{Obs}$ 131

5.9.12. Norma del error de \widehat{X}_t^{Obs} 132

5.9.13. Coeficiente volumétrico de transferencia de masa $\widehat{k_L a_t}^{obs}$. 133

5.9.14. Desviación de los valores estimados con respecto a los datos experimentales 135

5.9.15. Observación de estados experimentales con el observador basado en RND 136

5.9.16. Desempeño del estimador con perturbaciones 138

6. Conclusiones Generales **141**

Apéndices **143**

.1. Apéndice 1: Medios de cultivo: *S. cerevisiae* 143

.1.1. Medio de conservación de la levadura 143

.1.2. Medio de cultivo sintético 143

.1.3. Solución de minerales 143

.1.4. La solución de vitaminas 144

.1.5. Preparación del inóculo 144

.2. Apéndice 2: Estimador para μ_t 144

.3. Apéndice 3: Estimador para $k_L a_t$ 146

.4. Apéndice 4: Eigenvalores 148

.5. Apéndice 5: Sistema lineal de segundo orden 149

.6. Apéndice 6: Corolario A 151

.7. Apéndice 7: Solución de la ecuación de Lyapunov 151

.8. Apéndice 8: Prueba de la función de Lyapunov para la RND . . . 152

.9. Apéndice 9: Teoría de Estabilidad de Lyapunov 157

.9.1. Teoría de estabilidad de Lyapunov 157

.9.2. Matriz definida positiva 157

.9.3. Función definida positiva 158

.9.4. Función definida negativa 158

.9.5. Funciones de Lyapunov 158

.9.6. Método indirecto de Lyapunov 159

.9.7.	Método directo de Lyapunov	159
.9.8.	Sistemas autónomos	160

- 5-13: **CDA**. Evolución de $\widehat{\mu}_t^{Exp}$ con $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-14: **CDA**. Evolución de $k_L a_t^{Exp}$ con $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-15: **CDA**. Norma del error de \widehat{X}_t^{Exp} con $C_1 = 9,8 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 24,01 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-16: **CDA**. Estados identificados
- 5-17: **CDA**. Evolución de $W_{1,t}$ identificación de estados
- 5-18: **CDA**. Evolución de $W_{2,t}$ identificación de estados
- 5-19: **CDA**. Evolución de $W_{1,t}$ observador de estados
- 5-20: **CDA**. Evolución de $W_{1,t}$ observador de estados
- 5-21: **CDA**. Biomasa observada, X_t^{Obs}
- 5-22: **CDA**. Biomasa observada, S_t^{Obs}
- 5-23: **CDA**. Oxígeno observado, C_t^{Obs}
- 5-24: **CDA**. Biomasa observada, V_t^{Obs}
- 5-25: **CDA**. Evolución de $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ con $C_1 = 0,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-26: **CDA**. Evolución de \widehat{X}_t^{Obs} con $C_1 = 0,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-27: **CDA**. Norma del error de \widehat{X}_t^{Obs} con $C_1 = 0,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-28: **CDA**. Evolución de $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ con $C_1 = 1,4 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,49 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-29: **CDA**. Evolución de $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ con $C_1 = 2,1 h^{-1}$ y $C_2 = 1,1025 g^2L^{-2}h^{-1}$
- 5-30: **CDA**. Evolución de $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ con $C_1 = 2,8 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 1,96 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-31: **CDA**. Evolución de $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ con $C_1 = 3,5 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 3,0625 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-32: **CDA**. Evolución de $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ con Diseño F: $C_1 = 4,2 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 4,41 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-33: **CDA**. Error relativo absoluto en el diseño de C_1 y C_2
- 5-34: **CDA**. Evolución de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ para $C_1 = 100 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 250 * 10^3 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-35: **CDA**. Evolución de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ para $C_1 = 3000 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 2250 * 10^3 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-36: **CDA**. Evolución de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ para $C_1 = 7000 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 12250 * 10^3 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-37: **CDA**. Evolución de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ para $C_1 = 10000 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 25000 * 10^3 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-38: **CDA**. Error relativo absoluto en el diseño de C_1 y C_2
- 5-39: **CDA-1**. Evolución de los datos experimentales
- 5-40: **CDA-1**. Estados experimentales identificados con la **RND**
- 5-41: **CDA-1**. Evolución de $W_{1,t}$ en el identificador
- 5-42: **CDA-1**. Evolución de $W_{2,t}$ en el identificador
- 5-43: **CDA-1**. Dinámica del flujo de alimentación en el biorreactor
- 5-44: **CDA-1**. Evolución de la velocidad específica de crecimiento calculada
- 5-45: **CDA-1**. Evolución de $\widehat{\mu}_t^{Exp}$ con $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$

- 5-46: **CDA-1.** Evolución de \widehat{X}_t^{Exp} con $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-47: **CDA-1.** Norma del error de \widehat{X}_t^{Exp} con $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-48: **CDA-1.** Evolución de $k_L a_t^{Exp}$
- 5-49: **CDA-1.** Biomasa observada, X_t^{Obs}
- 5-50: **CDA-1.** Substrato observado, S_t^{Obs}
- 5-51: **CDA-1.** Volumen observado, V_t^{Obs}
- 5-52: **CDA-1.** Oxígeno observado, C_t^{Obs}
- 5-53: **CDA-1.** Evolución de $W_{1,2}$ observador de estados
- 5-54: **CDA-1.** Evolución de $W_{2,t}$ observador de estados
- 5-55: **CDA-1.** Evolución de $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ con $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-56: **CDA-1.** Evolución de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ para $C_1 = 10 * 10^3 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 25 * 10^8 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-57: **CDA-2.** Evolución de los estos experimentales
- 5-58: **CDA-2.** Dinámica del flujo de alimentación al biorreactor
- 5-59: **CDA-2.** Velocidad específica de crecimiento experimental
- 5-60: **CDA-2.** Evolución de $\widehat{\mu}_t^{Exp}$ con $C_1 = 5,6 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 7,84 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-61: **CDA-2.** Evolución de \widehat{X}_t^{Exp} con $C_1 = 5,6 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 7,84 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-62: **CDA-2.** Norma del error de X_t^{Exp} con $C_1 = 5,6 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 7,84 L^2h^{-2}g^{-2}$
- 5-63: **CDA-2.** Coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno experimental o aparente
- 5-64: **CDA-2.** Estados identificados por la **RND**
- 5-65: **CDA-2.** Evolución de $W_{1,t}$ en el identificador
- 5-66: **CDA-2.** Evolución de $W_{2,t}$ en el identificador
- 5-67: **CDA-2.** Biomasa observada, X_t^{Obs}
- 5-68: **CDA-2.** Substrato observado, S_t^{Obs}
- 5-69: **CDA-2.** Volumen observado V_t^{Obs}
- 5-70: **CDA-2.** Oxígeno observado., C_t^{Obs}
- 5-71: **CDA-2.** Evolución de $W_{1,t}$ observador de estados
- 5-72: **CDA-2.** Evolución de $W_{2,t}$ observador de estados
- 5-73: **CDA-2.** Evolución de $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ con $C_1 = 3,5 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 3,0625 L^2h^{-2}g^{-2}$ para c)
- 5-74: **CDA-2.** Norma del error de $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ con $C_1 = 3,5 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 3,0625 L^2h^{-2}g^{-2}$ para c)
- 5-75: **CDA-2.** Evolución de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ para $C_1 = 11 * 10^4 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 30,25 * 10^8 L^2h^{-2}g^{-2}$ para c)
- 5-76: **CDA-IBT.** Estados experimentales
- 5-77: **CDA-IBT.** Evolución de $\widehat{\mu}_t^{Exp}$ con diferentes valores de C_1 y C_2
- 5-78: **CDA-IBT.** Evolución de $\widehat{\mu}_t^{Exp}$ con diferentes valores de C_1 y C_2

- 5-79: **CDA-IBT**. Estados experimentales (X_t^{Exp} , S_t^{Exp} , V_t^{Exp}) identificados con la **RND**
- 5-80: **CDA-IBT**. Estado experimental C_t^{Exp} identificado con la **RND**
- 5-81: **CDA-IBT**. Evolución de $W_{1,t}$ en el identificador
- 5-82: **CDA-IBT**. Evolución de $W_{2,t}$ en el identificador
- 5-83: **CDA-IBT**. Biomasa observada, X_t^{Obs}
- 5-84: **CDA-IBT**. Substrato observado, S_t^{Obs}
- 5-85: **CDA-IBT**. Oxígeno observado, C_t^{Obs}
- 5-86: **CDA-IBT**:volumen observado, V_t^{Obs}
- 5-87: **CDA-IBT**. Magnitud de $W_{1,t}$, observación de estados
- 5-88: **CDA-IBT**. Magnitud de $W_{2,t}$, observación de estados
- 5-89: **CDA-IBT**. Evolución de $\hat{\mu}_t^{Obs}$ para diferentes diseños de C_1 y C_2
- 5-90: **CDA-IBT**. Norma del error de $\hat{\mu}_t^{Obs}$
- 5-91: **CDA-IBT**. Evolución \hat{X}_t^{Obs} con diferentes diseños de C_1 y C_2
- 5-92: **CDA-IBT**. Norma del error de \hat{X}_t^{Obs}
- 5-93: **CDA-IBT**. Evolución \hat{X}_t^{Obs} acercamiento en $10 h \geq t \geq 0 h$
- 5-94: **CDA-IBT**. Estimación de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$
- 5-95: **CDA-IBT**. Observación del error $C_t^{Exp} - \hat{C}_t^{Obs}$
- 5-96: Señal de ruido blanco
- 5-97: Observación de la desviación entre $C_{m,t}$ y \hat{C}_t^{Obs}
- 5-98 Evolución de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ y $k_L a_t^{Exp}$ en presencia de perturbaciones

0.2. Índice de Tablas

- Tabla 2.1. Funciones de activación
- Tabla 5.1: Datos experimentales (Base de datos) de estados disponibles.
- Tabla 5.2: Condiciones iniciales de los cultivos.
- Tabla 5.3: Condiciones iniciales de los cultivos: reactor lote
- Tabla 5.4: Condiciones finales de los cultivos: reactor lote alimentado
- Tabla 5.5. Marcadores para la evolución de estados y parámetros en las figuras
- Tabla 5.6. Coeficientes de rendimiento para masa y energía
- Tabla 5.5 Parámetros en las funciones sigmoidales en la **RND**
- Tabla 5.6 Matriz A en el **NOD**
- Tabla 5.7 Parámetros en las funciones sigmoidales en el **NOD**
- Tabla 5.5: Diferentes diseños para los parámetros C_1 y C_2 en el proceso de estimación de $\widehat{\mu}_t^{Exp}$
- Tabla 5.6. Diseño de C_1 y C_2 , estimación de $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ en **CDA-IBT**
- Tabla 5.7. Diseño de C_1 y C_2 , estimación de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ en **CDA-IBT**
- Tabla 5.8. Diseño de los parámetros C_1 y C_2 para los estimadores $\widehat{\mu}_t^{Exp}$, $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ y $\widehat{k_L a_t}^{obs}$

0.4. Resumen

En la presente tesis se introduce el uso de sistemas no lineales (observadores) para estimar el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno, $k_L a_t$, de un biorreactor.

El modelo utilizado para estimar los estados que no pueden ser medidos en el sistema de fermentación (biomasa y substrato principalmente) son las Redes Neuronales Diferenciales (**RND**). Con las **RND** es posible realizar la estimación de los estados aun cuando existe incertidumbre en la estructura o en los parámetros, de hecho, es posible realizar la estimación en ausencia de un modelo matemático del sistema y en presencia de perturbaciones acotadas en el estado y la salida. La velocidad específica de crecimiento experimental estimada, $\hat{\mu}_t^{Exp}$, se estima observando el error entre la biomasa experimental y la biomasa estimada, $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$, utilizando el algoritmo de estimación propuesto por Dochain (estimador de μ_t).

El algoritmo matemático propuesto en este trabajo para estimar el parámetro $k_L a_t$, esta basado en la observación del error entre la dinámica de evolución del oxígeno disponible en línea (mediciones) y la dinámica de estimación de oxígeno estimado, $C_t^{Exp} - \hat{C}_t^{Exp}$. El algoritmo de estimación contiene en su estructura información que debe de estar disponible en línea (*información a priori*) del proceso de biotransformación, a saber, biomasa, substrato y oxígeno. Razón por la cual, el algoritmo diseñado se acopla con el modelo de la **RND** y el estimador de Dochain (para estimar μ_t) con lo cual se logra un sistema de estimación completamente determinado, es decir, el sensor virtual. Para probar el desempeño de el observador propuesto se emplean en una base de datos experimentales, para dos tipos de cultivos (*S.cerevisiae* y *A. vinelandii*), reactor lote alimentado y reactor lote, respectivamente. Los resultados obtenidos muestran un aceptable desempeño del estimador para $k_L a_t$ en toda la evolución de los cultivos. Para *A. vinelandii* el porcentaje de error del proceso de estimación fue de 1.45% para el cultivo de *A. vinelandii* y 7.1% para *S.cerevisiae*.

Abstract

Mass transfer from the gas to liquid phase has a decisive importance for the description of systems involving absorption, chemical reactions and fermentation. Usually the mass transfer rate is described as proportional to the concentration gradient, where the proportionality is given by the volumetric mass transfer coefficient (k_La). The oxygen ($C(t)$) transfer represents the most important parameter implied on the design and operation of mixing-sparging equipment of the bioreactors. It can be described and analyzed by means of k_La .

In this work we use the Differential Neural Networks (DNN) structure and a non linear observer, to estimate k_La in the dynamic evolution for the fed-batch model reactor.

The estimation of the k_La is driven by observation error $C(t) - \hat{C}(t)$. To identify a *Saccharomyces cerevisiae* fed-batch fermentation process, it is suggested that a DNN (dynamic in continuous time) be implemented and then the states are using to estimate the k_La parameter with the application of a non linear observer. We assume the oxygen's evolution in the aerobic system fermentation is the only state measure on line. This evolution is used in the non linear observer in order to estimate the k_La parameter and the results obtained proved the applicability and efficiency of this methodology because the corresponding experimental results demonstrate the good performance: the identification (and observation) error has a small value.

0.5. Justificación

La transferencia de masa en los sistemas de fermentación desempeña un papel importante en la economía del proceso. Particularmente en los cultivos aerobios, donde la transferencia de oxígeno es un factor clave a considerar para el éxito del proceso de biotransformación a una escala planta piloto o industrial. En un biorreactor tipo tanque agitado la capacidad de transferencia de oxígeno es caracterizada por el coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $k_L a_t$. Numerosos estudios se han realizado para determinar el parámetro $k_L a_t$ en situaciones particulares, utilizando métodos como oxidación del sulfito o el dinámico, entre otros. También, se hace uso de correlaciones empíricas. Recientemente modelos que utilizan conceptos fundamentales o la aplicación de ciencia artificial, sin embargo, la metodología existente para estimar el $k_L a_t$ esta relacionada con grandes esfuerzos de trabajo experimental o altos costos para instrumentación, los resultados son particulares y depende de las características de operación para cada caso. Por otro lado el valor estimado es puntal, es decir, en los casos donde si hay una evolución completa del parámetro $k_L a_t$ de manera dinámica a lo largo de todo el proceso implica una fuerte inversión de recursos en equipo. Por ello el contar con una nueva metodología que permita estimar el parámetro $k_L a_t$ para toda la evolución de la dinámica de biotransformación de los substratos a células y productos en un biorreactor de manera más práctica y económica, es importante y necesario para el diseño y control de los procesos a diferentes escalas de operación.

En los procesos de biotransformación se tiene conocimiento previo que los estados pueden tomar un conjunto restringido de valores, de acuerdo a la naturaleza del proceso que se estudia; por ejemplo, en el caso de sistemas biológicos la velocidad específica de crecimiento no puede tomar valores negativos; así mismo, ninguna de las concentraciones de los componentes nunca pueden superar el valor correspondiente al balance de materia. Por lo tanto, se puede aprovechar el conocimiento previo para diseñar observadores que permitan estimar estados y/o parámetros que no pueden ser medidos en línea.

0.6. Objetivo General

Diseñar, analizar y evaluar el desempeño de un *software sensor* o *sensor virtual*, (observador) para estimar el coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $k_L a_t$, en un biorreactor tipo tanque agitado utilizando sistemas no lineales.

0.7. Objetivos particulares

- Diseñar un sensor suave para estimar el $k_L a_t$ de un sistema de fermentación utilizando redes neuronales diferenciales
- Diseñar el identificador de estados utilizando redes neuronales diferenciales
- Diseñar el observador adaptable para estimar el parámetro $k_L a$
- Diseñar el neuro-observador de estados

0.8. Contenido de la Tesis

Se diseñó (diseño computacional) el software para estimar el $k_L a_t$ del modelo del biorreactor lote alimentado (fed-batch) utilizando la herramienta de computación Simulink-MATLAB. El sensor se diseñó en tres etapas, en la primera etapa se diseñó el software de simulación para el biorreactor y la Red Neuronal Diferencial (**RND**). En esta etapa con la **RND** se identificaron todos los estados (biomasa, substrato, oxígeno y volumen) proporcionados por el modelo del biorreactor (reactor lote y lote alimentado). En la segunda etapa se desarrolló el observador adaptable para estimar el $k_L a$, por medio de la observación directa del error entre la dinámica del oxígeno proporcionado por **RND** (como neuro-observador) y la dinámica de identificación del oxígeno generada por el observador adaptable. En la tercera parte se diseñó el neuro-observador para observar los estados que no son conocidos en el biorreactor (que no pueden ser medidos en línea), por ejemplo, biomasa, substrato y volumen. La **RND** diseñada para identificar los estados del modelo del biorreactor en la primera etapa, es utilizada para entrenar el neuro-observador de estados y finalmente los estados observados (biomasa, substrato y volumen) por el neuro-observador se utilizaron en el algoritmo del observador adaptable y se estimó la dinámica del $k_L a$.

Capítulo 1

Análisis del sistema: Biorreactor

1.1. Introducción

Una gran variedad de técnicas de cultivo de microorganismos han sido desarrolladas para cultivos sumergidos, por ejemplo, los cultivos en lote y lote alimentado, los cuales han sido parte del estado del arte en el campo de las biotransformaciones antiguamente y que son usados en la actualidad por muchas industrias de fermentación[1]. Las técnicas de cultivos en continuo son relativamente nuevas y no han encontrado fuertes aplicaciones a nivel industrial, sin embargo, son una herramienta invaluable en los estudios de laboratorio. En este capítulo se presenta de manera breve los diferentes modelos matemáticos (balances de materia) para cada tipo de biorreactor: reactor lote (batch), lote alimentado (feed-batch o fed-batch) y continuo (continuous) que son el punto de partida en el análisis del sistema (biorreactor). También, se describe la importancia del proceso de transferencia de oxígeno en un sistema de fermentación aerobio y sus efectos sobre el desempeño de los cultivos y finalmente las metodologías existentes en la literatura para estimar el parámetro llamado coeficiente volumétrico de transferencia de masa, k_{La} , siendo este el parámetro más utilizado para describir la transferencia de oxígeno en el biorreactor.

1.2. Consideraciones

Dado que el conocimiento de la dinámica del fluido (volumen de la mezcla de reacción) en el biorreactor es limitado, no se puede establecer una teoría verdaderamente satisfactoria sobre este tema. Esta dificultad se debe, al conocimiento insuficiente de la estructura del fluido y de las fuerzas intermoleculares. Para superar esta dificultad, ha sido frecuente enfocar la atención al criterio de un mezclado perfecto (estado ideal), sobre todo cuando se consideran pequeños

volúmenes de reacción. Para lo cual se hace necesario de las siguientes consideraciones:

1. El volumen de la mezcla de reacción se considera completamente mezclado, esto es, las condiciones son uniformes a través de todo el volumen de reacción.
2. La corriente de alimentación es inmediatamente mezclada dentro del volumen de la mezcla de reacción.
3. La temperatura y la composición de la mezcla de reacción (células y medio de cultivo) son uniformes en todas las partes del reactor, es decir, la densidad es constante, $\rho = cte$, la temperatura es constante, $T = cte$.
4. La corriente de producto tiene la misma composición como en la mezcla de reacción.

1.3. Modelo del bioreactor tanque agitado continuo

El bioreactor puede ser operado óptimamente en un número de diferentes arreglos de flujo, la selección depende del sistema en particular y del desempeño deseado. En la Figura 1-1 se ilustran algunos de estos arreglos: a) arreglo en un sólo reactor; b) dos reactores en serie, c) un sólo reactor con recirculación y d) en serie con un reactor en flujo pistón [2].

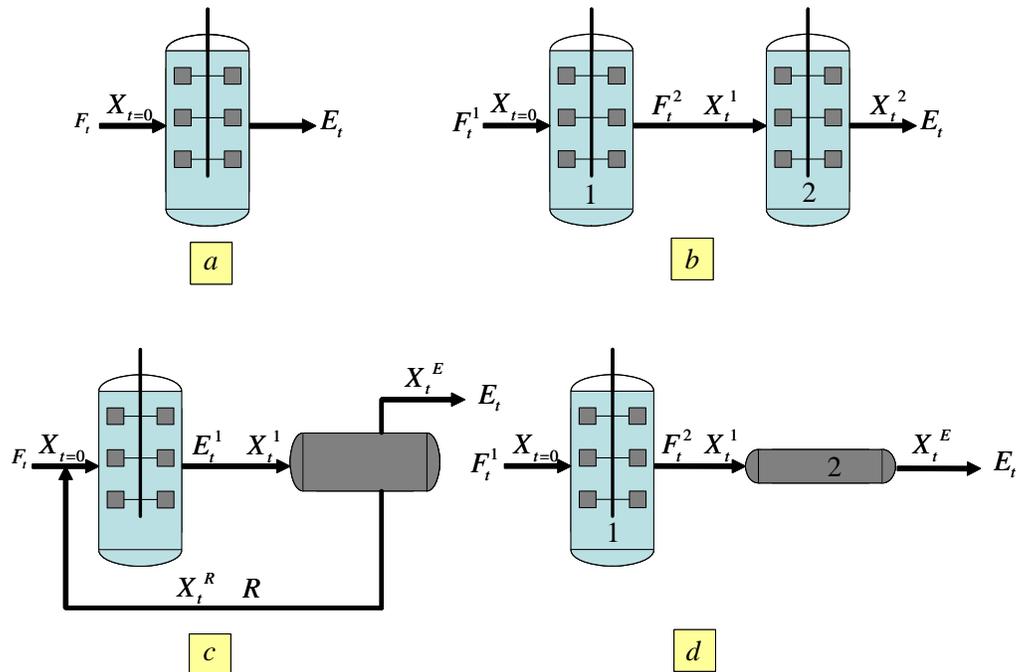


Figura 1-1: Arreglos para operación del biorreactor tipo tanque agitado.

1.4. Análisis del biorreactor

En la Figura 1-2 se muestra esquemáticamente un biorreactor tipo tanque agitado y sus la principales corrientes relacionadas con su balance de materia a la entrada y salida.

Para el análisis del sistema (formulación de las ecuaciones de balance) se tomo en cuenta la simbología de la Figura 1-2, donde:

- F_t : Velocidad volumétrica en la corriente de alimentación, L/h .
- E_t : Velocidad volumétrica en la corriente de salida, L/h .
- $X_t|_{t=0}$: Concentración de células en la corriente de alimentación, $g_{células}/L$.
- X_t : Concentración de células en la mezcla de reacción, $g_{células}/L$.
- X_t^E : Concentración de células en la corriente de salida, $g_{células}/L$.
- S_o : Concentración de sustrato en la corriente de alimentación, g/L .
- S_t : Concentración de sustrato en la mezcla de reacción, g/L .
- S_t^E : Concentración de sustrato en la corriente de salida, g/L .
- P_t : Concentración de producto en la mezcla de reacción, g/L .
- P_o : Concentración de producto en la corriente de alimentación (usualmente cero), g/L .
- P_t^E : Concentración de producto en la corriente de salida, g/L .

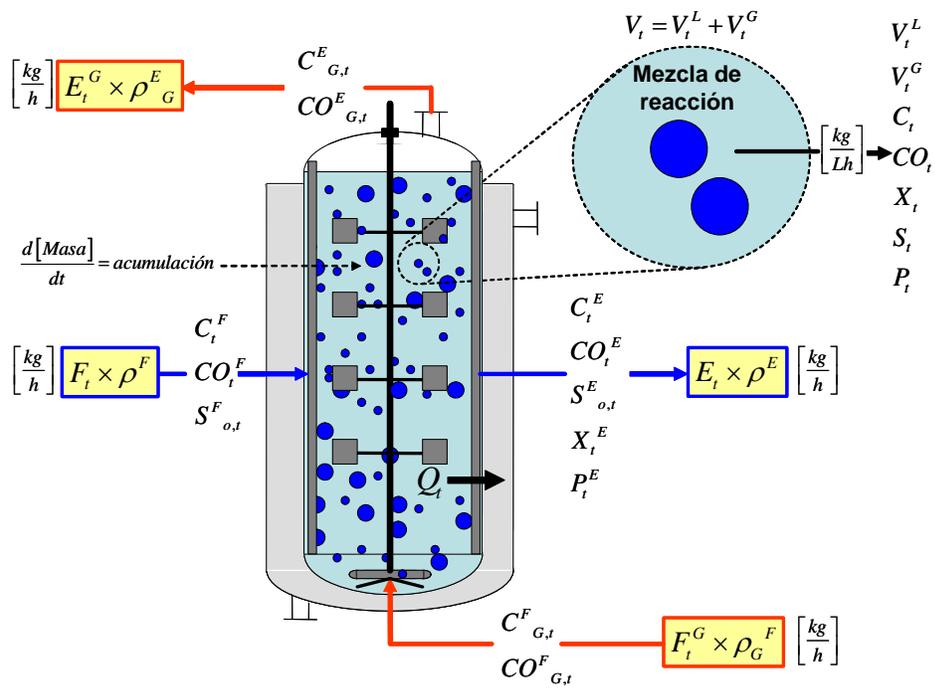


Figura 1.1: Figura 1-2: Principales corrientes consideradas para el análisis de un biorreactor tipo tanque agitado.

V : Volumen de la mezcla de reacción, L .

Y de acuerdo con las consideraciones 1 a 4 tenemos que:

$$X_t = X_t^E \quad (1.1)$$

$$S_t = S_t^E \quad (1.2)$$

$$P_t = P_t^E \quad (1.3)$$

La formulación de las ecuaciones de balance para el biorreactor, están relacionadas con dos tipos de ecuaciones de balance de masa: 1) balances en estado estable y 2) balances en estado inestable. Uno de los principios básicos de modelado es el referente a la conservación de la masa en el sistema, el cual para un estado estable se expresa como [3], [4]:

$$\left(\begin{array}{c} \text{Flujo de masa} \\ \text{a la entrada al sistema} \end{array} \right) = \left(\begin{array}{c} \text{Flujo de masa} \\ \text{a la salida del sistema} \end{array} \right)$$

Y para un balance en estado inestable se tiene

$$\left(\begin{array}{c} \text{velocidad de} \\ \text{acumulación} \\ \text{de masa en} \\ \text{el sistema} \end{array} \right) = (\text{dinámica de transporte}) \pm \left(\begin{array}{c} \text{Velocidad de} \\ \text{consumo o} \\ \text{producción del} \\ \text{componente por} \\ \text{por la reacción} \end{array} \right)$$

Aquí, el término de acumulación representa la velocidad de cambio en la masa total del sistema, con respecto al tiempo y en estado estable ésta es igual a cero. Las definiciones anteriores están en términos de la masa total en el sistema, sin embargo, se pueden aplicar para cada componente en el sistema.

1.4.1. Balance general de masa

Los balances generales de masa en el biorreactor, están referidos principalmente a biomasa, substrato, producto y volumen [1].

1.4.2. Biomasa

La velocidad de cambio de la concentración celular en el biorreactor se expresa por el siguiente balance general de masa,

$$\frac{d}{dt}X_t = \frac{F_t}{V_t}X_{t,0} - \frac{E_t}{V_t}X_t + \left(\frac{d}{dt}X_t \right)_{\text{crecimiento}} - \frac{X_t}{V_t} \frac{d}{dt}V_t \quad (1.4)$$

Donde $\frac{d}{dt}X_t$ es término de acumulación, es decir, la velocidad de cambio neta de concentración de células en la mezcla de reacción debido a todas las contribuciones. $\left(\frac{d}{dt}X_t \right)_{\text{crecimiento}}$ contribución de la multiplicación celular al cambio de

incremento de concentración celular. Para cultivos que obedecen la ley de Monod, por ejemplo, este término es,

$$\begin{aligned} \left(\frac{d}{dt} X_t \right)_{\text{crecimiento}} &= X_t \mu_t \\ &= X_t \left[\mu_m \frac{S_t}{K_s + S_t} \right] \end{aligned} \quad (1.5)$$

Y $\frac{d}{dt} V_t$ es la velocidad de cambio del volumen total en la mezcla de reacción,

$$\frac{d}{dt} V_t = F_t - E_t \quad (1.6)$$

1.4.3. Substrato

El balance de masa general para el substrato,

$$\frac{d}{dt} S_t = \frac{F_t}{V_t} S_{t,0} - \frac{E_t}{V_t} S_t + \left(\frac{d}{dt} S_t \right)_{\text{reacción}} - \frac{S_t}{V_t} \frac{d}{dt} V_t \quad (1.7)$$

1.4.4. Producto

Velocidad de cambio de la concentración de producto es,

$$\frac{d}{dt} P_t = \frac{F_t}{V_t} P_{t,0} - \frac{E_t}{V_t} P_t + \left(\frac{d}{dt} P_t \right)_{\text{reacción}} - \frac{P_t}{V_t} \frac{d}{dt} V_t \quad (1.8)$$

Los balances (1.4 -1.8) son las ecuaciones generales de balance . De estos balances se definen los diferentes modos de operación del biorreactor: reactor lote, lote alimentado, y continuo.

1.4.5. Reactor lote

El sistema de cultivo que opera sin intercambio de materia (alimentación o salida de producto) es un reactor lote ideal y puede ser tratado como un Reactor Tanque Agitado Continuo (RTAC), en estado inestable con ambas corrientes F_t y E_t son igual a cero. Así, la velocidad de incremento de la población celular es solamente el resultado de multiplicación (y/o la muerte) celular. Por tanto, las expresiones para multiplicación limitada por cinéticas de crecimiento, suministro de substrato, o transporte de masa, también son las expresiones de velocidad de cultivo. Por ejemplo, consideremos las cinéticas para un cultivo en lote siguiendo la ley de Monod con muerte celular de primer orden.

La velocidad de incremento celular es

$$\frac{d}{dt} X_t = X_t \left[\mu_m \frac{S_t}{K + S_t} \right] - k_d X_t$$

Consumo de sustrato esta dado por

$$\frac{d}{dt}S_t = q_{S_t}X_t \quad (1.9)$$

Donde q_S = la velocidad específica de consumo de sustrato. Para un cultivo con un apreciable factor de mantenimiento, entonces

$$q_{S_t} = Y_{\frac{S}{X}} \left[\mu_m \frac{S_t}{K_S + S_t} \right] + m \quad (1.10)$$

La velocidad de producción de producto

$$\frac{d}{dt}P_t = q_{P_t}X_t \quad (1.11)$$

Donde q_{P_t} velocidad específica de aparición del producto.

En el caso donde hay síntesis de producto no asociado al crecimiento,

$$q_{P_t} = Y_{\frac{P}{X}} \left[\mu_m \frac{S_t}{K_S + S_t} \right] + B \quad (1.12)$$

Donde B es la velocidad específica de aparición del producto no asociada al crecimiento. Casos simplificados pueden ser resueltos analíticamente. Por ejemplo, la velocidad específica de multiplicación, $(\frac{d}{dt}X_t)_{\text{crecimiento}}$, puede ser esencialmente constante sobre todo el rango de concentración de sustrato y biomasa. Los valores $Y_{\frac{P}{X}}$ y $Y_{\frac{S}{X}}$ pueden ser también constantes, y también el factor de mantenimiento en la ecuación (1.10) puede ser despreciado. Tomando en cuenta todas las simplificaciones realizadas, el reactor lote puede ser analizado de la siguiente manera,

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}X_t &= \mu_t X_t \\ \frac{d}{dt}S_t &= -Y_{\frac{S}{X}} \frac{d}{dt}X_t \\ \frac{d}{dt}P_t &= Y_{\frac{P}{S}} \frac{d}{dt}X_t \\ \frac{d}{dt}V_t &= cte \end{aligned} \quad (1.13)$$

1.4.6. Reactor lote alimentado

Una desventaja del cultivo en lote es que algunos cultivos exhiben inhibición por sustrato (fuente de carbono). Otro es el suministro impráctico de todos los nutrientes al comienzo del cultivo, lo cual limita la solubilidad de los sustratos, inestabilidad de sustratos, o la presión osmótica del cultivo. Una solución posible para todos estos problemas es usar un reactor lote alimentado. En un cultivo en lote alimentado, la alimentación de medio es mantenida continuamente o por

intervalos. El modelo desarrollado aquí es para un cultivo en lote alimentado con alimentación continua y no hay salida de producto hasta el final del ciclo de cultivo. Para un reactor lote alimentado los balances de materia son los siguientes [5]:

Volumen

$$\frac{d}{dt}V_t = F_t = D_t V_t \quad (1.14)$$

Donde $D_t = \frac{F_t}{V_t}$, es el término de dilución del cultivo.

Biomasa

$$\frac{d}{dt}X_t = \frac{F_t}{V_t} X_t|_{t=0} + \left(\frac{d}{dt}X_t \right)_{\text{crecimiento}} - \frac{X_t}{V_t} \frac{d}{dt}V_t \quad (1.15)$$

Considerando la ecuación (1.14), la ecuación (1.15) se hace

$$\frac{d}{dt}X_t = \frac{F_t}{V_t} X_t|_{t=0} + \left(\frac{d}{dt}X_t \right)_{\text{crecimiento}} - \frac{F_t X_t}{V_t} \quad (1.16)$$

Substrato

$$\frac{d}{dt}S_t = \frac{F_t}{V_t} S_t|_{t=0} + \left(\frac{d}{dt}S_t \right)_{\text{reaccion}} - \frac{S_t}{V_t} \frac{d}{dt}V_t \quad (1.17)$$

De manera similar considerando (1.14) la dilución la ecuación (1.18) se hace

$$\frac{d}{dt}S_t = \frac{F_t}{V_t} S_t|_{t=0} + \left(\frac{d}{dt}S_t \right)_{\text{reaccion}} - \frac{F_t S_t}{V_t} \quad (1.18)$$

Producto

$$\frac{d}{dt}P_t = \frac{F_t}{V_t} P_t|_{t=0} + \left(\frac{d}{dt}P_t \right)_{\text{reaccion}} - \frac{F_t P_t}{V_t} \quad (1.19)$$

Control del proceso

El principal objetivo cuando se utiliza un sistema reactor lote alimentado es para controlar la concentración en la dinámica de alimentación de substrato al biorreactor. Para este control (en términos simples) puede ser definido como el proceso en el cual una cantidad física medible (x) es comparada con una referencia (w) (set point), y la desviación ($w - x$) es reducida por el algoritmo

de control diseñado) las relaciones pueden ser derivadas de la ecuación (1.18) como sigue,

$$\frac{d}{dt}S_t = \frac{F_t}{V_t}(S_t|_{t=0} - S_t) + \left(\frac{d}{dt}S_t\right)_{reaccion} \quad (1.20)$$

Con

$$\left(\frac{d}{dt}S_t\right)_{reaccion} = -Y_{\frac{S}{X}} \left[\mu_m \frac{S_t}{K_S + S_t} \right] X_t - mX_t$$

Partiendo del hecho que $S_t = cte$, es decir, estado estable que implica que $\frac{d}{dt}S_t = 0$,

$$0 = \frac{F_t}{V_t}(S_t|_{t=0} - S_t) - Y_{\frac{S}{X}} \left[\mu_m \frac{S_t}{K_S + S_t} \right] X_t - mX_t$$

$$F_t = \left[\frac{Y_{\frac{S}{X}} \mu_t + m}{S_t|_{t=0} - S_t} \right] X_t V_t \quad (1.21)$$

La ecuación (1.21) es simplificada a

$$F_t = CX_t V_t \quad (1.22)$$

Donde $C = \left[Y_{\frac{S}{X}} \mu_t + m \right] \left[\frac{1}{S_t|_{t=0} - S_t} \right]$, La velocidad de alimentación es una función simple de X_t y V_t .

1.4.7. Reactor continuo

La dinámica de un reactor continuo sin recirculación es la de producir a cierta concentración de células a la salida o mantener cierta conversión de sustrato o producto. En el caso general, el sistema está en estado estable hidrodinamicamente. Esto es, el volumen de reacción, V_t , es mantenido esencialmente constante, ya que, $F_t = E_t$, sobre un promedio. Las ecuaciones que describen el reactor continuo son las siguientes: el balance general de masa para X_t está dado por

$$\frac{d}{dt}X_t = D_t(X_t|_{t=0} - X_t) + \left(\frac{d}{dt}X_t\right)_{crecimiento} \quad (1.23)$$

Si la concentración celular, $X_t|_{t=0}$, en la alimentación es cero,

$$\frac{d}{dt}X_t = -D_t X_t + \mu_t X_t \quad (1.24)$$

La velocidad de cambio de S_t en general es

$$\frac{d}{dt}S_t = D_t(S_t|_{t=0} - S_t) - Y_{\frac{S}{X}} \mu_t X_t \quad (1.25)$$

En estado estable, ambas $\frac{d}{dt}S_t$ y $\frac{d}{dt}X_t$ son cero. De esta manera de la ecuación (1.25),

$$\begin{aligned} D_t X_t &= \mu_t X_t \\ D_t &= \mu_t \end{aligned} \quad (1.26)$$

y de la ecuación (1.26),

$$D_t (S_t|_{t=0} - S_t) = Y_{\frac{S}{X}} \mu_t X_t \quad (1.27)$$

Pero $D_t = \mu_t$, entonces

$$(S_t|_{t=0} - S_t) = Y_{\frac{S}{X}} X_t \quad (1.28)$$

Un RTAC continuo basado en la cinética de Monod es

$$\begin{aligned} D_t &= \mu_t = \mu_m \frac{(S_t|_{t=0} - Y_{\frac{S}{X}} X_t)}{K_S + S_t|_{t=0} - Y_{\frac{S}{X}} X_t} \\ S_t|_{t=0} &= \frac{\mu_m Y_{\frac{S}{X}} X_t + K_S D_t - D_t Y_{\frac{S}{X}} X_t}{\mu_m - D_t} \end{aligned} \quad (1.29)$$

donde $S_t|_{t=0}$ = concentración de substrato requerida en la corriente de alimentación, F_t , para producir una concentración de células, X_t , en la corriente de producto, E_t .

En este trabajo se utilizarón los modelos para un reactor lote y lote alimentado.

1.5. Transferencia de Masa gas-Líquido

En los procesos de biotransformación aerobios, la transferencia de oxígeno representa el parámetro más importante en el diseño y la operación de mezclado de los biorreactores. En el biorreactor la transferencia de oxígeno puede ser descrita y analizada por medio del coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $k_L a$ [6]. La transferencia de oxígeno juega un rol importante en el desempeño de los procesos aerobios. La eficiencia de aireación de un sistema dado es normalmente expresado por $k_L a$ [7]. El mezclado es indispensable en biotecnología, ya que este define el ambiente durante el cultivo en el biorreactor. La actividad celular en el reactor conduce a continuas modificaciones en la reología del medio de cultivo. En estas condiciones, uno de los más importantes problemas es establecer un régimen hidrodinámico óptimo. El tiempo de mezclado contiene información útil acerca del flujo y el mezclado dentro del biorreactor y puede ser utilizado para el escalamiento del proceso [8]. El mezclado adecuado en el biorreactor permite llegar a un grado de homogeneidad, es decir, se busca que no exista la presencia de gradientes espaciales de concentración en los parámetros fundamentales del cultivo, como la acción de disolver gases, pH, concentración de substratos, entre otros. Por tanto, la deficiencia de mezclado afecta directamente la fisiología de las células, y en muchos casos el rendimiento del producto, y la calidad depende fuertemente de las condiciones ambientales en el medio de cultivo [9]. Lo anterior ha sido investigado en [10] donde demostró el efecto que tuvo la variación de la concentración del porcentaje de saturación de oxígeno (1, 10, 40 y 60%) en las rutas catabólicas en *Torulopsis glabrata* en la producción de piruvato. De igual manera el desempeño del proceso de fermentación puede ser estudiado por medio de los valores

de $k_L a$. Un estudio similar al anterior fue desarrollado en [11] para *Brevibacterium lactofermentum* sobre la producción de L-lisina, se demostró que para diferentes estados en el proceso de fermentación requiere diferentes niveles de tensión de oxígeno y los efectos que este tiene sobre el desempeño del cultivo, por ejemplo, se observó un efecto inhibitorio al comienzo del cultivo el cual correspondió para tensiones altas de oxígeno. En Wilson [12] evaluó la producción de Xilitol usando *Candida guilliermondii*, donde el mejor desempeño de la biotransformación se estudio experimentalmente para valores específicos del parámetro $k_L a$, estos valores fueron comprobados por medio de simulaciones. Finalmente se observó la relación directa entre el desempeño del proceso y los valores del parámetro $k_L a$.

Los efectos de las variaciones de la concentración de oxígeno en el medio de cultivo han sido estudiados en Antonio y col. y Sarrafzadeh y col. [13], [14]. Por otro lado, el parámetro $k_L a$ se ha utilizado para el escalamiento de procesos, en Bandaipheth y col.[15], se analizaron los efectos del escalamiento sobre este parámetro para *Enterobacter cloacae* en la producción de exopolisacáridos y en ciertos casos se han investigado los efectos que tiene la presencia de sólidos sobre el $k_L a$. En Jenifer y col. [16] se observó la presencia de partículas de silicón en el medio de cultivo generó un efecto negativo sobre el $k_L a$. Por tanto, un control óptimo del suministro de oxígeno es muy importante para procesos biológicos tanto donde se requiere de altas concentraciones de oxígeno como aquellos cultivos (producción de etanol, 2,3-butanodiol y algunos aminoácidos, antibióticos, vitaminas, polisacáridos, enzimas y proteínas) donde se requiere de ambientes semiaerobios y microaerobios. Para este tipo de procesos el coeficiente respiratorio (RQ, por sus siglas en inglés) es el parámetro óptimo para controlar el proceso, es decir, para controlar el suministro de oxígeno al biorreactor [17]. Por tanto, las características que afectan la transferencia de masa son:

1. Geometría y condiciones de operación del fermentador.
2. Tipo, concentración y morfología del microorganismo.
3. Composición del medio.
4. Baja solubilidad del oxígeno.

En los cultivos aerobios se suministra aire estéril al biorreactor para cubrir las necesidades de oxígeno requeridas por los microorganismos. El oxígeno contenido en las burbujas de aire es transportado de la fase líquida (medio de cultivo) verificándose el fenómeno de transferencia de oxígeno. La cantidad de oxígeno que se transfiere a la fase líquida en el tiempo se expresa como la velocidad volumétrica de transferencia de oxígeno. La transferencia de oxígeno desde una burbuja hacia el seno del líquido, puede describirse de acuerdo con la teoría de la doble película, desarrollada por Lewis y Withman en 1924.

La teoría de la doble película se basa en las siguientes consideraciones: i) se forma una película en cada lado de la interfase gas-líquido (una película de gas en el lado del gas y una película de líquido en el lado del líquido) y la

velocidad de transferencia de masa es controlada por las velocidades de difusión del oxígeno a través de las películas de gas y líquido; y ii) la resistencia que presenta la interfase gas líquido a la transferencia de oxígeno es despreciable, comparada con las resistencias de gas y de líquido.

Las limitaciones por la transferencia de masa, deben ser consideradas en el estudio y el diseño de un biorreactor, por ejemplo, las velocidades de transferencia de masa en un biorreactor son significantes porque sus efectos sobre las velocidades de las reacciones químicas en las transformaciones por enzimas o por células vivas (biotransformaciones). Los efectos posteriores son importantes en ambos casos, en la velocidad de crecimiento celular o en la transformación de sustrato a producto. En muchos casos la transferencia de masa puede ser despreciada, pero esta debe de ser considerada en el reporte del diseño. La transferencia de masa puede no ser una limitante en un biorreactor a nivel de laboratorio, pero sí a gran escala.

1.5.1. Transferencia de masa en interfase gas-líquido

Las velocidades de transferencia de masa en la interfase para la difusión molecular puede ser modelada por el uso de la primera ley de Fick . La primera ley de Fick para la difusión de un componente A en una mezcla de A y B , se expresa como sigue,

$$J_{Az} = -D_{AB} \frac{\partial C_A}{\partial z} \quad (1.30)$$

donde

$$\begin{aligned} J_{Az} &= \text{flujo molar de } A \text{ en la dirección } z \left[\frac{\text{mol}}{\text{m}^2 \text{h}} \right] \\ D_{AB} &= \text{difusividad (o el coeficiente de difusión) de } A \text{ en el medio } B, \left[\frac{\text{m}^2}{\text{h}} \right] \\ C_A &= \text{concentración de } A \left[\frac{\text{mol}}{\text{m}^3} \right] \\ z &= \text{distancia en la dirección } z \left[\text{m} \right] \end{aligned}$$

En reactores biológicos, B es el medio de crecimiento. Una primera aproximación para un líquido acuoso, puede ser asumido a ser agua con una correlación aplicada para la viscosidad del medio actual. Una ecuación ampliamente usada para aproximación de D_{AB} para una solución diluida de A (no electrolito) en un solvente B es la ecuación de Wilke-Chang:

$$D_{AB} = \frac{7,4 \times 10^{-8} (\phi M_B)^{\frac{1}{2}} T}{\eta_B V_A^{0,6}} \quad (1.31)$$

donde

$$\begin{aligned} \phi &= \text{factor de asociación del solvente } B \text{ adimensional} \\ M_B &= \text{peso molecular del solvente } B \left[\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right] \\ T &= \text{temperatura } [^{\circ}K] \\ \eta_B &= \text{viscosidad del solvente } B \left[\frac{\text{g}}{\text{Ls}} \right] \\ V_A &= \text{volumen molar del soluto } A \left[\frac{\text{cm}^3}{\text{mol}} \right] \end{aligned}$$

1.5.2. Transferencia de masa gas-líquido

El campo más estudiado referente a la limitación de transferencia de masa en sistemas biológicos (bioconversiones), es el relacionado con la transferencia de oxígeno de la fase del gas al sistema de reacción o a las células. Generalmente el oxígeno es obtenido del aire pero esta fuente no es necesariamente una limitante. El tratamiento matemático del transporte de oxígeno en un sistema gas-líquido en biorreactores es casi universalmente tratado por la suposición de la resistencia de la doble película como se ha mencionado previamente.

1.5.3. Velocidad volumétrica de transferencia de oxígeno

Para sistemas de fermentación aerobios, la resistencia a la transferencia de masa se asume a estar en una delgada película de líquido en la frontera de la fase líquida, llamada la capa limitante, la fuerza impulsora es la diferencia de concentración en la capa líquida. Un modelo físico de la transferencia de oxígeno desde la fase del gas a la fase de líquido se muestra en la Figura 1-3.

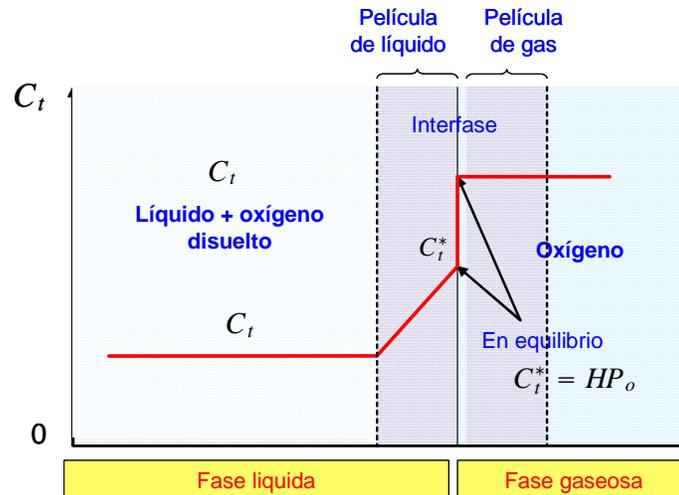


Figura 1-3: Modelo físico para la transferencia de oxígeno a través de la película de líquido.

Una vez que el oxígeno se ha difundido al medio acuoso (medio de cultivo), este tiene que llegar hasta las células por medio del movimiento del fluido (convección) y finalmente difundir en la película de líquido que rodea a la célula. El proceso anterior se ilustra en la Figura 1-4.

Resistencias que encuentra el oxígeno:

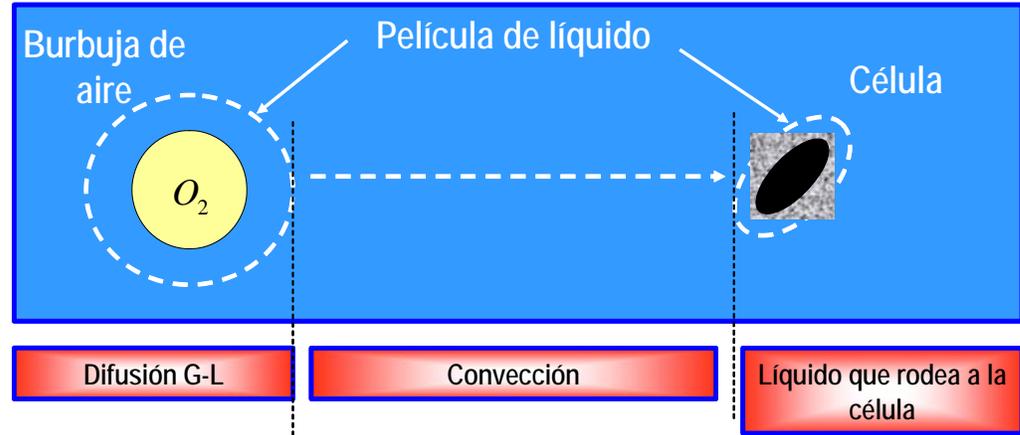


Figura 1-4: Resistencias que presenta el oxígeno antes de que sea consumido por las células.

Obviamente el flujo de oxígeno total dependerá del área de interfase de las burbujas de aire. En este caso la velocidad de transferencia de oxígeno está dada por:

$$OTR_t = k_L a_t [C^* - C_t] \quad (1.32)$$

Donde

OTR_t :	es la velocidad de transferencia de oxígeno	$gL^{-1}h^{-1}$
k_L :	es el coeficiente de transferencia de masa	mh^{-1}
a_t :	es el área interfacial de la burbuja	$m^2m^{-3} = m$
$C^* - C_t$:	es la fuerza impulsora o el gradiente de concentración	gL^{-1}

La fuerza impulsora $C^* - C_t$ es la diferencia de concentraciones a través de la frontera de la película de líquido como se muestra en la Figura 1-3. C^* es la concentración de oxígeno en equilibrio con la interfase. La combinación de k_L y a_t es referido como *el coeficiente volumétrico de transferencia de masa* y es tratado como un solo parámetro, $k_L a_t$ con dimensiones h^{-1} .

1.6. Balance de masa para C_t en fase líquida

El balance de masa en la fase del líquido en el biorreactor se expresa como

$$\frac{d}{dt} C_t = OTR_t - OUR_t + \frac{E_t C_t}{V_t} \quad (1.33)$$

donde

$\frac{d}{dt} C_t$ es el término de acumulación de C_t en la mezcla de reacción

OTR_t es la velocidad de transferencia de oxígeno de la fase del gas a la fase del líquido

OUR_t es la velocidad de consumo de oxígeno debido al metabolismo celular
 $\frac{E_t C_t}{V_t}$ es la contribución de oxígeno por la dilución

El balance de masa descrito por (1.33) se sustituye en (1.34) entonces se tiene

$$\frac{d}{dt}C_t = k_L a_t [C_t^* - C_t] - OUR_t + \frac{E_t C_t}{V_t} \quad (1.34)$$

En el balance (1.34) la dinámica del oxígeno es mucho más rápida que la dinámica de otros procesos relevantes (biomasa, substrato) y la contribución del término de dilución, $\frac{E_t C_t}{V_t}$, es pequeño comparado con la velocidad de cambio de oxígeno disuelto. Como consecuencia en (1.34) se puede expresar como:

$$\frac{d}{dt}C_t = k_L a_t [C_t^* - C_t] - OUR_t \quad (1.35)$$

El balance de oxígeno, $C_{G,t}$, en la fase del gas en el biorreactor El balance de masa para $C_{G,t}$ en la fase del gas esta dado por

$$V_t^G \frac{d}{dt}C_{G,t} = C_{G,t}^F F_t^G - E_t^G C_{G,t}^E - k_L a_t [C_t^* - C_t] V_t^G \quad (1.36)$$

1.7. Determinación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa

Los métodos tradicionales para determinar este parámetro se pueden agrupar en químicos y físicos, con los cuales sólo es posible medir el parámetro de forma puntual, sin embargo, el método directo que se caracteriza por hacer un balance de oxígeno al rededor del biorreactor permite medir el parámetro en forma continua, cuando se aprovechandon las propiedades paramagnéticas del oxígeno en la fase del gas, pero ello requiere disponer de equipo especial llamado *Analizador paramagnético de oxígeno*, sin embargo, el costo elevado de este equipo limita las posibilidades de adquirirlo.

1.7.1. Métodos para determinar $k_L a$

En la literatura se han reportado diversas técnicas o métodos para determinar el parámetro $k_L a_t$ a continuacón se mencionan aquellas que han tenido aplicaciones en las investigaciones académicas.

Método de presión dinámica: este método no esta basado en la interrupción del flujo de alimentación de oxígeno o incluso la desorción con un gas inerte. En este el cambio de la concentración de oxígeno es causada por un pequeño cambio ($\approx 20 \text{ kPa}$) de la presión interna en el biorreactor. La ventaja que

presenta este método con respecto a los de balance de oxígeno en estado estable, es que no es dependiente de la exactitud de las mediciones de la concentración de oxígeno en las corrientes de alimentación y salida del gas [7],[18],

Además, de estos métodos se han reportado una cantidad importantes de correlaciones para estimar el parámetro $k_L a_t$ en situaciones particulares [19]. En Meenal y col. [20] se estudio el efecto sobre el $k_L a_t$ para diferentes medios y diferentes condiciones de operación utilizando correlaciones para medir el $k_L a_t$. Estas correlaciones están relacionadas con:

1. Diferentes geometrías del biorreactor.
2. Diferentes propiedades físicas del medio.
3. Diferentes condiciones de operación del biorreactor.

Método dinámico. Otras investigaciones se han realizado para desarrollar nuevas correlaciones para medir el $k_L a_t$ en situaciones muy particulares, véase [21], [20].

En este método el flujo de aire al biorreactor se interrumpe ($F_t = 0$), y el oxígeno disponible en el medio de cultivo es consumido por las células hasta llegar a un valor de concentración de oxígeno disuelto muy cercano al valor crítico ($C_t^{critico}$), en este momento se restablece el flujo ($F_t = \text{Constante}$) de aire y la concentración de oxígeno disuelto se incrementa (véase la Figura 1-5)

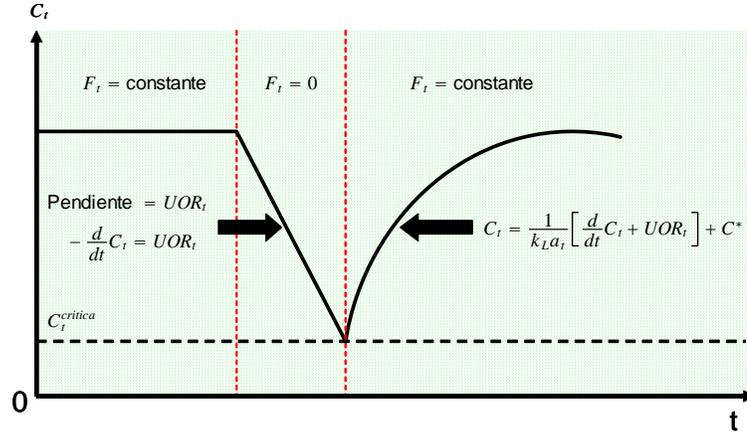


Figura 1-5: Método dinámico.

evolución de C_t se muestra en la Figura 1-5 y se describe por las ecuaciones

$$-\frac{d}{dt}C_t = O U R_t \text{ cuando } F_t = 0 \quad (1.37)$$

$$C_t = \frac{1}{k_L a_t} \left[\frac{d}{dt}C_t + O U R_t \right] + C_t^*, \text{ cuando } F_t = \text{constante} \quad (1.38)$$

1.8. CONTROL DE OXÍGENO EN LOS PROCESOS DE FERMENTACIÓN 17

En la Figura 1-6 se observa el procedimiento gráfico para determinar el $k_L a_t$. Cuando $F_t = 0$, se puede calcular OUR_t graficando C_t vs t y la pendiente de estos datos es OUR_t , este valor es constante, porque corresponde a un valor constante durante todo el periodo del experimento de X_t ($OUR_t = \left[\frac{1}{Y_o} \right] [\mu_t X_t]$).

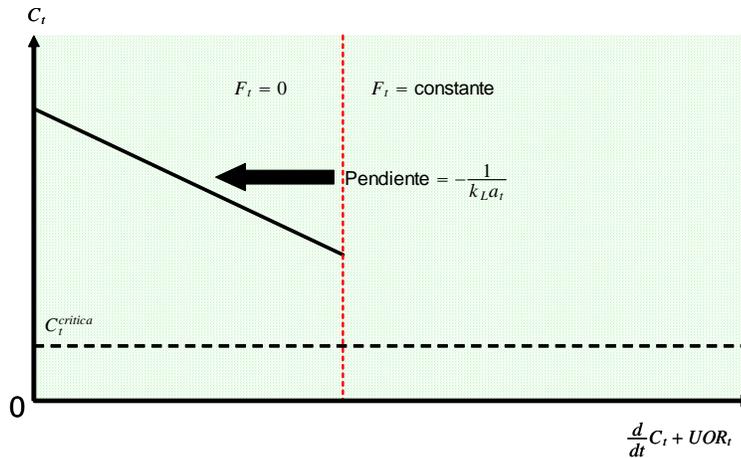


Figura 1-6: Determinación grafica de $k_L a_t$

1.7.2. Método dinámico modificado

El propósito de este método es que pueda ser aplicable a cualquier sistema biológico, para medir simultáneamente el $k_L a_t$ y la velocidad de consumo de oxígeno (respiración celular o OUR_t). La principal variación de este método con respecto al método dinámico, es que este no requiere de la interrupción del flujo de aire al biorreactor, en lugar de ello se produce un cambio en la concentración de oxígeno en la alimentación sin variar el flujo de alimentación [22].

La característica más importante de los sistemas no biológicos es que no hay presencia de células en el sistema (biorreactor) cuando se efectúa la cuantificación de $k_L a_t$.

1.8. Control de oxígeno en los procesos de fermentación

En fermentaciones industriales donde participan hongos filamentosos, el proceso típicamente es operado en lote alimentado. El control de oxígeno representa un importante reto operacional debido a la variación de la concentración de biomasa en el biorreactor. L. Bodizs y col. [23] propone una estrategia de control de oxígeno (manualmente y con el diseño de un PID) para asegurar una alta productividad y limitar los riesgos relacionados con la limitación de oxígeno.

Usualmente la concentración de oxígeno disuelto (DO, por sus siglas en inglés) es controlada por manipulación el flujo de aire o la velocidad de agitación, también alimentación de oxígeno puro, sin embargo, cuando se aplica a reactores a escala industrial, esta estrategia a menudo no es aceptable por los requerimientos de potencia consumida demandados. Además, por los efectos que se puede presentar en los microorganismos al aumentar el esfuerzo de corte. Por tanto, en estos casos, la concentración de oxígeno disuelto puede ser controlada por la limitación de su consumo. Esto se alcanza manipulando la velocidad de alimentación de sustrato. Otro factor importante que tiene efecto sobre la transferencia de oxígeno es el cambio continuo de la reología del medio de cultivo. La estrategia de operación de un biorreactor más importante esta relaciona con la aproximación $OUR_t = OTR_t$, con la que se logra alcanzar un estado pseudo-estable del sistema.

Algunos trabajos relacionados con el estimación del parámetro k_{La} y los efectos relacionados con la deficiencia de oxígeno en los procesos de fermentación se muestran en la Tabla 1-1.

Tabla. 1-1 Determinación de k_{La} .

Microorganismo	k_{La} , rpm, vvm	Biorreactor	Método
<i>T. thermophilus</i>	26 – 200 – 1	3-2 L, batch	Dinámico
<i>A. oryzae</i>	–275–	2500 L	Dinámico
<i>T. reesi</i>	300 – 250 – 1	16 – 10 L Fed-batch	Balance

En general los métodos más utilizados para estimar el parámetro k_{La} se muestran en la de la Tabla 1-1, además, se dispone de métodos de predicción teorico [24], [25].

Capítulo 2

Sistemas no Lineales

2.1. Introducción

En este capítulo se presentan los conceptos básicos sobre las Redes Neuronales Artificiales (RNA), particularmente para los dos tipos de RNA, Redes Neuronales Estáticas (RNE), y las Redes Neuronales Dinámicas (RNDi). De este último tipo surgen las Redes Neuronales Diferenciales (RND) que serán empleadas en este trabajo para estimar los estados del sistema que no son susceptibles a medición física. La descripción matemática de la estructura de la RND, tanto para el proceso de identificación de estados como para el proceso de observación de estados (RND como observador no lineal) se presentaran en el capítulo 4.

2.2. Sistema no lineal

La dinámica de biotransformación por parte de las células sobre los substratos en el biorreactor, es una dinámica no lineal. En este trabajo la dinámica en el biorreactor se puede ver como la interacción entre el sistema (biorreactor) y su ambiente. Esta interacción se muestra en la Figura 2-1. El esquema general de la Figura 2-1 esta relacionado con:

1. Estados del sistema:

$$x_t: = (x_{1,t}, \dots, x_{n,t})^T \quad (2.1)$$

$$x_t \in \mathbb{R}^n; n = 4 \quad (2.2)$$

$$x_t: = (X_t, S_t, C_t, V_t)^T \quad (2.3)$$

2. Acciones de control:

$$u_t = (u_{1,t}, \dots, u_{k,t})^T \quad (2.4)$$

3. Información medible (salidas):

$$y_t = (y_{1,t}, \dots, y_{m,t})^T \quad (2.5)$$

4. Ruido y perturbaciones no controlables (entradas no controlables):

$$\xi_{x,t}, \text{ perturbaciones de la dinámica del sistema} \quad (2.6)$$

$$\eta_{y,t}, \text{ perturbaciones de los datos de medición}$$

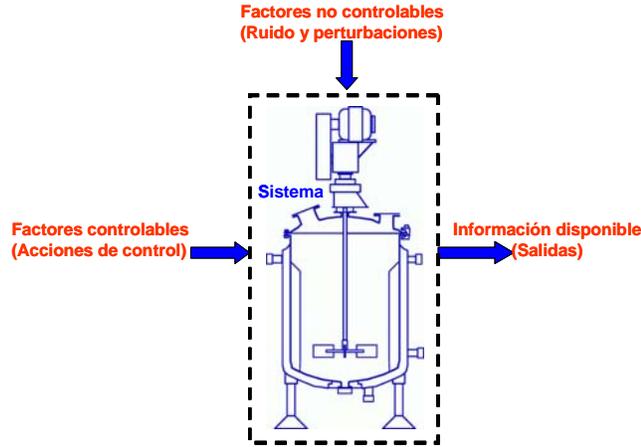


Figura 2-1. Biorreactor y su interacción con el medio ambiente

Los modelos matemáticos utilizados para describir el tipo de biorreactor: reactor lote, lote alimentado, y continuo, (desarrollados en el Capítulo 1) pueden ser generalizados en un sentido matemático como un sistema no lineal continuo en el tiempo con salida medible descrita por la siguiente Ecuación Diferencial Ordinaria (EDO):

$$\begin{aligned} \dot{x}_t &= f(x_t, t) + \xi_t, \quad x_t|_{t=0} \text{ conocida} \\ y_t &= Cx_t + \eta_t \end{aligned} \quad (2.7)$$

con

$$\begin{aligned} x_t &\in \mathbb{R}^n, \quad y_t \in \mathbb{R}^m \quad t \geq 0 \\ C &\in \mathbb{R}^{m \times n}, \quad \xi_t \in \mathbb{R}^{n \times 1} \text{ y } \eta_t \in \mathbb{R}^{m \times 1} \\ &\|Cx_t\| > \|\eta_t\| \end{aligned}$$

Donde: $x_t \in \mathbb{R}^n$ es el vector de estados en $t \geq 0$, $y_t \in \mathbb{R}^m$ es la salida correspondiente, disponible en cualquier tiempo, $C \in \mathbb{R}^{m \times n}$ es la matriz de transformación del estado a la salida, $\xi_{x,t}$ y $\eta_{y,t}$ es el ruido en la dinámica de los estados y a la salida respectivamente.

Para ciertas aplicaciones prácticas se considera que el vector de estados x_t pertenece en todo momento a un conjunto compacto X (incluso en presencia de ruido) y el cual tiene en general un sentido físico concreto.

Para estimar los estados del sistema descrito por (2.7) se requiere del diseño de una función vectorial $\hat{x}_t = \hat{x}_t(y_t) \in \mathbb{R}^n$ que dependa únicamente de la salida disponible y_t y que se mantenga próxima al valor real (pero no medible) de x_t . La medida de proximidad depende de las características de la dinámica del estado así como de los efectos del ruido. La mayoría de los observadores de estados resuelven este problema presentando por la función descrita por una ecuación diferencial ordinaria (EDO) dada por:

$$\frac{d}{dt}\hat{x}_t = F(\hat{x}_t, y_t, t), \hat{x}_t|_{t=0} \text{ conocida} \quad (2.8)$$

En el caso del conocimiento de que el estado x_t pertenece a cierto conjunto compacto X , el estado estimado \hat{x}_t debe de pertenecer al mismo conjunto, esto es:

$$\hat{x}_t \in X \quad (2.9)$$

De hecho, si el estado estimado es usado para la construcción de algún controlador, por ejemplo $u_t = K \hat{x}_t$ entonces cualquier cambio en el signo de \hat{x}_t puede provocar un efecto significativo de inestabilidad de la dinámica en lazo cerrado.

2.3. Redes neuronales artificiales

La alternativa matemática que se propone en este trabajo para el desarrollo del estimador para $k_L a_t$, es resolver la falta de información en la estructura dinámica del sistema (biorreactor), ya que esta es incompleta incompleta, es decir, en la mayoría de las situaciones prácticas no todos los estados en el biorreactor pueden estar accesibles. Lo anterior es una consecuencia de la falta de un sensor apropiado para medir las variables, o por el elevado costo de los mismos. Además, la estructura del algoritmo para el estimador propuesto esta en función de la concentración de biomasa en el biorreactor. Por tanto, se requiere la medición en línea durante todo el proceso.

Esta limitación se resuelve utilizando los sistemas no lineales basados en redes neuronales diferenciales. Los conceptos que se exponen a continuación son importantes para entender esta técnica.

Las redes neuronales están inspiradas por el modelaje de las redes neuronales reales en el cerebro humano. Así, los elementos que se encargan de procesar la información son llamadas neuronas artificiales, o simplemente neuronas. La

estructura de una neurona se puede describir por tres partes, un cuerpo celular o soma, que se caracteriza por contener al núcleo de la célula. El axón que es la conexión cilíndrica sencilla y larga, el cual se extiende del cuerpo de la célula y lleva los impulsos eléctricos a otras neuronas, cada final de un axón se conecta a una ramificación estándar muy fina. Cada terminación tiene un bulbo llamado sinápsis, donde la red neuronal induce a las neuronas vecinas.

Las redes neuronales artificiales (RNA) son sistemas de información inspirados en las redes neuronales biológicas imitando estas dos características principales [26]

1. *La adquisición del conocimiento se efectúa a través de un proceso de aprendizaje.*
2. *La conectividad entre las neuronas (unidades básicas de procesamiento de información) llamadas pesos sinápticos son empleadas para guardar este conocimiento.*

Una característica importante es que una RNA puede ser considerada como una caja negra (o dispositivo de caja negra) que acepta entradas y produce salidas [12].

Las operaciones que pueden realizarse con una RNA se tienen las siguientes:

- a) **Clasificación.** Un conjunto de datos (patrón) de entradas es procesado por la RNA y ésta produce una clase representativa de salida.
- b) **Reconocimiento de patrones.** Un conjunto de datos de entrada es procesado por la RNA y ésta produce el patrón correspondiente de salida.
- c) **Complementación de patrones.** Un conjunto de datos incompleto es procesado por la RNA y ésta reproduce un patrón de salida (reconstruyendo) la información faltante.
- d) **Elimina el ruido.** Un conjunto de datos de entrada alterado con ruido es procesado por la RNA y ésta elimina parte o en el mejor de los casos el total del ruido entregando a la salida por el patrón de entrada filtrado.
- e) **Optimización.** Un conjunto de datos representando los valores iniciales de un problema de optimización son considerados en el patrón de entrada de la RNA y ésta produce un conjunto de variables que representa la solución del problema.
- f) **Control.** Un conjunto de datos representando el valor del estado de un controlador y la respuesta deseada es presentada a la entrada de la RN y ésta produce como salida la secuencia de comandos adecuada que producirá la respuesta deseada.

Existen diferentes tipos de RNA (estáticas, recurrentes, dinámicas, competitivas, etc) [27], [28].

2.3.1. Modelo de la neurona artificial

La neurona es la unidad fundamental para la operación de la RNA y debe de cumplir con las siguientes características básicas:

1. La neurona requiere sólo información local. Toda la información necesaria para que la neurona produzca un valor de salida está presente a la entrada y no necesita ninguna otra información sobre los valores en la red.
2. La neurona produce un sólo valor de salida. Este valor se propaga hacia otras neuronas o hacia la salida de la red [29].

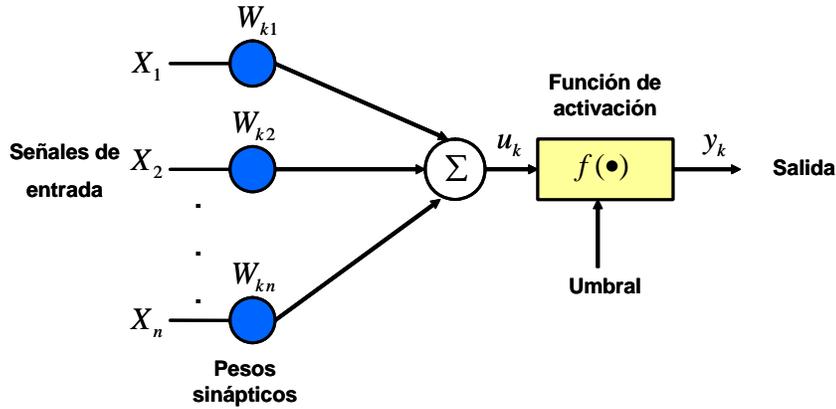


Figura 2-2. Modelo básico de la red neuronal artificial

En la Figura 2-2 se muestra un modelo básico de una neurona artificial, en este modelo tradicional destacan tres elementos:

1. Una función de suma, para adicionar los componentes de las señales de entrada $[X_1, X_2, \dots, X_n]^T$, multiplicados por su respectivo peso sináptico, W_{k1} .
2. Una función de activación no lineal transformando la salida del sumador en la salida de la neurona, $f(\bullet)$.
3. Un conjunto de conexiones sinápticas con cada elemento caracterizado por su propio peso sináptico.

Siendo posible introducir un umbral externo cuya finalidad es controlar la activación o inhibición de la neurona.

Matemáticamente, la i -ésima neurona puede describirse como:

$$v_i = \sum_{j=1}^n \omega_{i,j} u_j \quad (2.10)$$

$$y_i = \varphi(v_i - \rho_i)$$

Donde:

- v_i j -ésima componente de la entrada
- $\omega_{i,j}u_j$ es el peso de la conexión de la j -ésima componente de la entrada con la neurona i es presentada
- v_i salida del sumador
- ρ_i umbral de activación
- $\varphi(\bullet)$ función de activación no lineal
- y_i salida de la neurona i

El esquema puede ser representado de una forma compacta, lo que permite establecer una manipulación de forma eficiente la interconexión de neurona en lo que se conoce como redes, y este esquema se caracteriza por estar formado por los siguientes elementos:

- Nodos de entrada, encargados de suministrar las señales de entrada hacia la neurona.
- Nodo simple, llamado de cómputo.
- Líneas de interconexión entre los nodos de entrada y los nodos de cómputo.

2.3.2. La función de activación $\varphi(\bullet)$

La función de activación denotada por $\varphi(\bullet)$ en un mapeo entre un dominio posiblemente no acotado y un rango preestablecido. Dependiendo de su naturaleza puede introducir una no linealidad dentro de la dinámica de la RNA. En la literatura encontramos los tipos de funciones de activación más utilizadas son tres: función de activación tipo umbral, función de activación lineal por partes y función de tipo sigmoide [30]. Ejemplos de estas funciones son las siguientes:

Tabla 2.1 Funciones de activación

Función	Descripción	Rango
Identidad	$y = x$	$[-\infty, +\infty]$
Escalón	$y = \text{sign}(x)$ $y = H(x)$	$\{-1, +1\}$ $\{0, +1\}$
Lineal a tramos	-1 , si $x < -l$ x , si $-l \leq x \leq l$ $+1$, si $x > l$	$[-1, +1]$
Sigmoide	$y = \frac{1}{1+e^{-x}}$ $y = \text{tgh}(x)$	$[0, +1]$ $[-1, +1]$

Es importante mencionar que la gran mayoría de las aplicaciones basadas en la RNA emplean las funciones de activación de tipo sigmoide, la razón es porque presentan un mejor balance entre desempeño lineal y no lineal con cierta suavidad en la transición de valores que pueden obtenerse en la evolución de la función [31], su característica más importante es que la función es diferenciable, esta función se muestra en la Figura 2-3

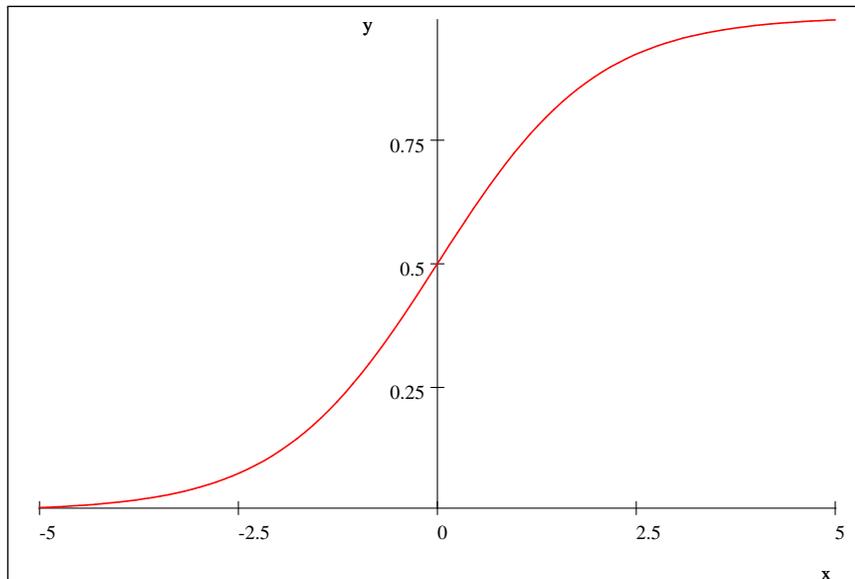


Figura 2-3: Función sigmoide

2.3.3. Estructuras de las redes neuronales artificiales

La forma en la cual las redes neuronales de una RNA se interconectan determinan su estructura y en gran medida se relaciona con su algoritmo de aprendizaje. Se puede definir la siguiente terminología básica con respecto a la topología de las RNA:

- Capas. Las RNA se organizan en capas de neuronas. Dentro de una capa, las neuronas son similares en dos aspectos: Las conexiones que alimentan la capa utilizan el mismo tipo de algoritmo de aprendizaje para la activación de sus pesos.
- Conexiones intracapa e intercapa. Existen dos tipos de conexiones que se emplean en las RNA: las conexiones intracapa que se refiere a las conexiones de las neuronas en la misma capa y las conexiones intercapa que son conexiones entre neuronas de diferentes capas. Es posible construir redes que tengan los dos tipos de conexiones. Un alto número de conexiones le otorgan a la RNA redundancia, es decir, robustez [30].
- RNA Feedforward (alimentación hacia adelante) y Feedback (retroalimentación). Cuando la RNA tiene conexiones que alimentan la información en una sola dirección (de la entrada hacia la salida) sin que exista retroalimentación, pero si la RNA posee cualquier vía de retroalimentación, entendiendo el término retroalimentación como cualquier camino a través de la RNA que permita que la misma neurona sea visitada por dos veces, entonces se llama RNA Feedback.

- Redes Feedforward monocapa. Como su nombre lo indica poseen una sola capa de neuronas. El ejemplo más popular de éste tipo de redes es el perceptrón cuyo ejemplo clásico corresponde al modelo de McCulloch-Pits [30].
- Redes Feedforward multicapa. En este tipo de redes se cuenta además de la capa de entrada y de salida con una o varias capas intermedias denominadas capas ocultas. Si cada neurona dentro de cada capa es conectada a cada neurona de la capa adyacente, entonces la RNA se denomina completamente conectada, en caso contrario se denomina parcialmente conectada.
- Redes Neuronales Recurrentes. La principal diferencia entre las RND y su contra parte es que las RND poseen al menos un lazo de retroalimentación. Su descripción matemática se presenta en el capítulo cuatro.

En la Figura 2-4 se presentan tres de estas estructuras de las RNA a) RNA Feedforward, b) Perceptrón multicapa, c) Red base radial.

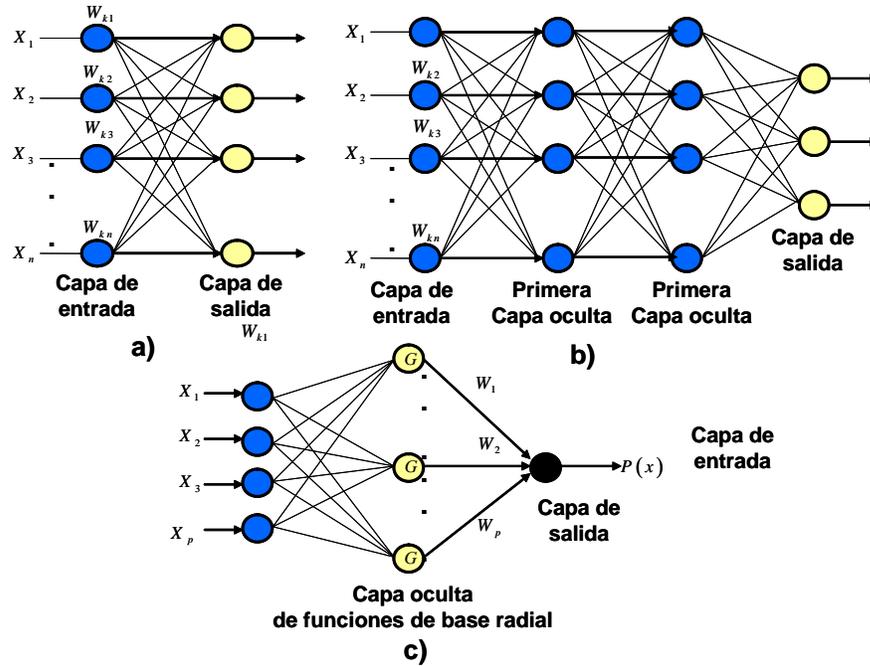


Figura 2-4: Estructuras de las RNA

La cualidad más importante de la RNA es su capacidad de aprendizaje, en este contexto se entiende el aprendizaje como la forma de actualización del valor de los pesos sinápticos. El problema de aprendizaje en las RNA puede formularse como un problema de aprendizaje de libre modelo, donde el objetivo es entrenar a una hipótesis RNA definida como h_m , donde m denota el número

de entradas de aprendizaje, en forma tal que h_m se convierta en una buena aproximación de la RNA objetivo desconocido f , asegurando que se cumpla que al seleccionar cualquier vector de entrada $x \in X \subset \mathbb{R}^n$ y al aplicarlo tanto a la RNA entrenada como h_m como a la RNA verdadera f , se satisfaga la condición

$$|h_m - f(x)| \leq \varepsilon \text{ con } \varepsilon > 0$$

Como se mencionó en la sección anterior el tipo de aprendizaje de la RNA depende de su arquitectura, sin embargo, existe cierta terminología básica válida para todos los tipos de aprendizaje:

- Aprendizaje supervisado y no supervisado. El aprendizaje supervisado es un proceso que incorpora un maestro interno o información global. El aprendizaje no supervisado la red organiza los datos y determina sus propiedades colectivas.
- Aprendizaje en línea y fuera de línea. La mayoría de las técnicas pertenecen al caso fuera de línea, en éste, el conjunto patrón de datos es usado completamente para determinar las pesos de la red antes de que ésta sea usada.

Finalmente el objetivo de la red neuronal es mapear un conjunto de entradas con su respectivo conjunto de salida. La red lleva a cabo el mapeo para un primer aprendizaje de series de ejemplos pasados definiendo la correspondencia de conjuntos de entradas y salidas para el sistema dado. La red entonces aplica lo que ha aprendido a una nueva entrada para producir la salida apropiada.

“Un red neuronal es un sistema de cómputo compuesto de un número de simples nodos o elementos de procesamiento altamente interconectados, los cuales procesan información por su respuesta de estado dinámica a entradas externas” .

Capítulo 3

Sensores Virtuales

3.1. Introducción

Los sistemas de control son usados para regular una enorme cantidad de equipos, productos y procesos. Las variables a controlar pueden ser la temperatura, el movimiento, flujo de vapor, de fluidos, presión de fluidos, tensión, voltaje y corriente. En el campo de los bioprocesos, uno de los equipos más importantes es el biorreactor, que en muchas aplicaciones prácticas, solamente algunas variables del proceso están disponibles en línea, por ejemplo, concentración de oxígeno disuelto en el biorreactor, temperatura, y la velocidad de flujo de los gases mientras que los valores de las concentraciones de productos, reactantes y biomasa están disponibles a menudo vía análisis. Una alternativa interesante que evita el uso de un modelo y explota un conjunto limitado de mediciones es el uso de observadores de estados. El diseño y la aplicación de los observadores de estados en bioprocesos han sido una área activa las pasadas décadas.

Muchos conceptos en la teoría de control están basados en el hecho de tener disponibles los sensores para medir la variable a controlar. De hecho la teoría de control, está a menudo basada en que están disponibles las señales de retroalimentación. Desafortunadamente, tal suposición no es válida en su totalidad. Los sensores tienen deficiencia que puede degradar un sistema de control.

Hay al menos cuatro problemas relacionados por los sensores. Primero, los sensores son caros. El costo de un sensor puede sustancialmente elevar el costo del sistema de control. En muchos casos, el sensor y el cableado son los componentes más caros en el sistema de control. Segundo, los sensores y su cable asociado reducen la confiabilidad del sistema de control. Tercero, algunas señales son imprácticas para medirlas. Cuarto, los sensores usualmente inducen errores significativas tales como ruido estocástico, errores cíclicos, y respuesta limitada. Por tanto, las técnicas de estimación de estados juegan un rol importante en muchas áreas de la ciencia, ingeniería y particularmente en biotecnología, donde el hardware (sensores) son extermadamente costoso y son usados en condiciones

muy drásticas en el proceso (esterilización, largos periodos de operación, etc).

3.1.1. Monitoreo de procesos de fermentación

Los modernos bioprocesos son monitoreados en línea por aparatos modernos, los cuales pueden estar montados en el biorreactor o externamente. Además, de los electrodos (sensores), más y más subsistemas analíticos son explotados para monitorear en línea el estado del bioproceso. Algunos de estos subsistemas entregan señales que son usadas para documentación solamente, otros, que generan señales menos retardadas que son usadas o para diseñar los sistemas de control. En un fermentador esta provisto de elementos de medición y control. Los aparatos para censado en línea, están relacionados con las siguientes variables que se monitorean en línea: temperatura, pH, presión, oxígeno, presión parcial de oxígeno, oxígeno en la fase del gas, bióxido de carbono, presión parcial de bióxido de carbono, bióxido de carbono en la fase gaseosa, potencial de reducción, biomasa: densidad óptica, interfases, propiedades eléctricas, termodinámica y compatibilidad de sensores, cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, por sus siglas en inglés) o cromatografía de gas (GC, por sus siglas en inglés), espectrofotometría de masas (MS, por sus siglas en inglés), biosensores, biosensores electroquímicos, sensores de fibra óptica, calorimétricos, mecánicos, acústicos y para biomasa: propiedades eléctricas, propiedades de filtración y dinámica de la dilución y software sensors. Mientras que para el análisis fuera de línea: citometría de flujo, resonancia magnética nuclear (NMR por sus siglas en inglés) [32], en la Figura 3-1 se muestra al biorreactor y las variables que pueden ser medidas y controladas, o solamente medidas.

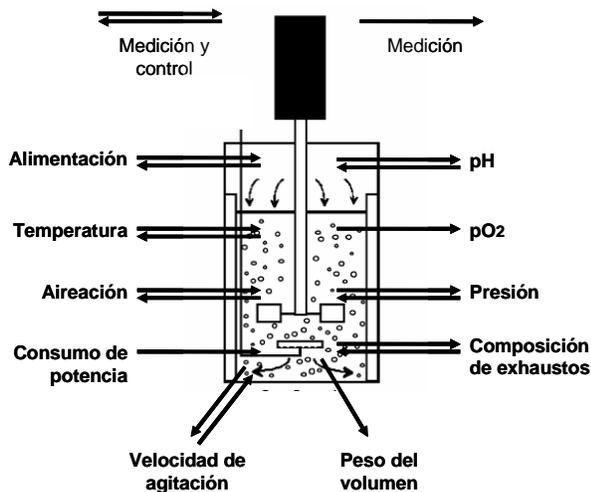


Figura 3-1: Mediciones comunes y control del biorreactor

En lo referente al campo de los bioprocesos, el control del biorreactor plantea un reto clave en el control del proceso y el monitoreo de las concentraciones

de productos y reactantes de una manera confiable y a un bajo costo. Y los cultivos en modo reactor lote alimentado o fed-batch son predominantes (por ejemplo la producción de levadura de panificación, aditivos para alimentos y proteínas recombinantes), por tanto, la optimización y el control de un proceso de fermentación en fed-batch ha encontrado una buena estrategia de control bajo la siguiente consideración relacionada con la velocidad de consumo de oxígeno o OUR_t (por sus siglas en inglés) y la velocidad de transferencia de oxígeno de la fase del gas a la fase del líquido o OTR_t (por sus siglas en inglés) como $OUR_t \approx OTR_t$ en los procesos de biotransformación aerobios [33], [34], [23], [35], [36], [37],[38]. En este capítulo se presenta la revisión bibliográfica de las técnicas de estimación disponibles aplicadas a bioprocesos, particularmente al biorreactor en modo de operación lote alimentado y el diseño de sensores virtuales o *Software sensors*

3.1.2. Estimadores de estados y parámetros en bioprocesos

Si consideramos el siguiente modelo de espacio de estados para un sistema no lineal de la forma

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}x &= f(x, u) \\ \dot{x} &= f(x, u) \end{aligned} \quad (3.1)$$

Los estados medibles, identificados por y , están relacionadas a la dinámica del proceso por la siguiente relación:

$$y = h(x) \quad (3.2)$$

La estructura general de un observador de estados es entonces escrita de la forma siguiente:

$$\frac{d}{dt}\hat{x} = f(\hat{x}, u) + K(\hat{x})[y - \hat{y}] \quad (3.3)$$

Donde \hat{x} y \hat{y} son las estimaciones en línea de x y y dados por el estimador de estados:

$$\hat{y} = h(\hat{x}) \quad (3.4)$$

Y donde K es la ganancia del observador. El diseño de el observador de estados consiste en seleccionar apropiadamente la ganancia $K(\hat{x})$.

Si definimos la observación del error e como sigue:

$$e = x - \hat{x} \quad (3.5)$$

La dinámica de observación del error es deducida de (3.1) y (3.3):

$$\frac{d}{dt}e = f(\hat{x} + e, u) - f(\hat{x}, u) - K(\hat{x})[h(\hat{x} + e) - h(\hat{x})] \quad (3.6)$$

El observador (3.3) fue originalmente desarrollado para sistemas lineales. Para explorar las propiedades de la dinámica de un bioproceso (sistema no lineal) este observador ha sido extendido para problemas no lineales.

El problema de diseño puede ser formulado como la determinación de la matriz $K(\hat{x})$ tal que la dinámica del error descrita por (3.6) tenga las propiedades deseadas. Esto ha resultado en un número de diseños de observadores de estados, tales como el diseño de los dos observadores de estados clásicos (observador de Luenberger extendido, y el observador de Kalman extendido), así como una variedad de observadores no lineales. El diseño de la matriz de ganancia $K(\hat{x})$ esta basada sobre la linealización, si consideramos la linealización de la ecuación (3.6) al rededor de la observación del error $e = 0$, se logra:

$$\frac{d}{dt}e = [A(\hat{x}) - K(\hat{x})L(\hat{x})]e \quad (3.7)$$

Donde $A(\hat{x})$ y $L(\hat{x})$ es respectivamente:

$$A(\hat{x}) = \left[\frac{\partial f}{\partial x} \right]_{x=\hat{x}}, \quad L(\hat{x}) = \left[\frac{\partial h}{\partial x} \right]_{x=\hat{x}} \quad (3.8)$$

Observador de Luenberger extendido

En el observador de Luenberger extendido, el objetivo es seleccionar $K(\hat{x})$ tal que la dinámica del error de linealización descrito por (3.7) sea asintóticamente estable [39]. Esto es alcanzado por selección de $K(\hat{x})$ tal que:

1. La matriz $A(\hat{x}) - K(\hat{x})L(\hat{x})$ y su derivada en el tiempo esta acotada:

$$\|A(\hat{x}) - K(\hat{x})L(\hat{x})\| \leq C_1, \forall \hat{x} \quad (3.9)$$

$$\left\| \frac{d}{dt} [A(\hat{x}) - K(\hat{x})L(\hat{x})] \right\| \leq C_2, \forall \hat{x} \quad (3.10)$$

2. Los eigenvalores de $A(\hat{x}) - K(\hat{x})L(\hat{x})$ tienen estrictamente partes reales y negativas:

$$\text{Re}(\lambda_i [A(\hat{x}) - K(\hat{x})L(\hat{x})]) \leq C_3 < 0, \quad \forall \hat{x}$$

y $i = 1$ a n , donde n es el orden del sistema descrito por (3.1)

Observador de Kalman extendido

Si bien el filtro de Kalman ha sido originalmente introducido en un marco de referencia estocástico, este también puede ser interpretado como la solución de un problema determinístico de optimización. Por cierto el diseño del observador de Kalman extendido, consiste en encontrar la matriz de ganancia $K(\hat{x})$ que minimice el error cuadrado promedio:

$$E = \int_0^t e^T e d\tau \quad (3.11)$$

Con la dinámica descrita por (3.7), la matriz $R(\hat{x})$ puede ser mostrada como sigue:

$$K(\hat{x}) = R(\hat{x})L^T \quad (3.12)$$

Donde la matriz simétrica de $n \times n$ (variante en el tiempo) $R(\hat{x})$ es la solución de la siguiente ecuación matricial de Riccati:

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}R &= -RL^T L R + RA^T(\hat{x}) + A(\hat{x})R \\ R &= R^T, R(0) = R_0 = R_0^T \end{aligned} \quad (3.13)$$

Notamos que es posible tener una formula más general por introducción de la matriz de pesos W que permita diferentes pesos para diferentes términos del error de salida con punto de vista estandarizado de la norma del error. Entonces las ecuaciones (3.12) y (3.13) se hacen:

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}R &= -RL^T W L R + RA^T(\hat{x}) + A(\hat{x})R \\ R &= R^T, R(0) = R_0 = R_0^T \end{aligned} \quad (3.14)$$

De acuerdo con Dochain[40].

$$f(x_1, \dots, x_n) = 0$$

$$f(x_1, \dots, x_n) - [f(x_1, \dots, x_n)]_0 = \left[\frac{\partial f}{\partial x_1} \right]_0 f(x_1, \dots, x_{1_0}) + \dots + \left[\frac{\partial f}{\partial x_n} \right]_0 f(x_n, \dots, x_{n_0})$$

Sensores virtuales o *software sensors*

Durante los procesos de fermentación, las variables tales como las concentraciones son determinadas experimentalmente (*off line*), realizando análisis de laboratorio. Muchas de los principios activos farmacéuticos son proteínas terapéuticas recombinantes. Estas son formadas en microorganismos modificados genéticamente o células animales. Estos biológicos son moléculas complejas y es conocido que su eficiencia clínica puede ser influenciada por los cambios en el proceso de cultivo. Por tanto, las compañías reciben su aprobación sólo si el proceso esta sometido a un margen de control. Autoridades regulatorias como la Administración de Drogas y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) en Estados Unidos de América y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA, por sus siglas en inglés) en Europa demandan pruebas de que el proceso es consistente. Lo anterior debido a que cuando un proceso es arrastrado más allá de los límites especificados, esto puede ser causar de las distorsiones en el equipo, la operación, o la contaminación.

El diseño de sensores virtuales o *software sensors* ha demostrado ser una herramienta útil en el monitoreo y el control de los bioprocesos. Un sensor virtual es la asociación de un sensor (**hardware**), el cual permite la medición en línea de algunas variables del proceso y un algoritmo de estimación (**software**) para proveer en línea los valores estimados de las variables de estado que no pueden

ser medidas, parámetros del modelo o para vencer retardos en las mediciones. Muchas técnicas de estimación han sido propuestas en la literatura. Entre estas técnicas, cuatro de ellas han sido reconocidas para tener fuerte potencial en la estimación en línea en los bioprocesos, a saber, (1) estimación a través de elementos de balance; (2) observadores adaptables; (3) técnicas de filtrado (Filtro de Kalman, FK, filtro extendido de Kalman, EFK (por sus siglas en inglés)); (4) redes neuronales artificiales [41]. Una quinta técnica que se propone en este trabajo son las Redes Neuronales Diferenciales o Dinámicas (**RND**). Además, pueden ser usados otros algoritmos de estimación [42], en Docahain [40] describe ocho diferentes algoritmos de estimación para estados o parámetros en procesos bioquímicos: Observador de Luenberger Extendido (ELO), por sus siglas en inglés), Observador de Kalman Extendido (EKO, por sus siglas en inglés), observadores adaptables no lineales, observador asintótico, observador por intervalos [43], EKO para estimar estados y parámetros combinados, observador con parámetros desconocidos como parámetro de diseño, observador adaptable. En Borgaerts y col. [44] se utilizan estimadores basados en el concepto de la observabilidad canónica para sistemas no lineales. El diseño y la aplicación de un software sensor se han aplicado en sistemas biológicos en [45].

3.2. Estimación a través de elementos de balance

La estimación de estados o parámetros a través de balances de masa, es una técnica que está basada en los balances de masa en el sistema y cuando se trata de biotransformaciones los balances de masa se relacionan con modelos cinéticos de crecimiento de los microorganismos. Estos balances pueden ser estructurados o no estructurados. En el caso de los primeros la estequiometría del crecimiento microbiano es indispensable en los balances de masa. Debido a que se relaciona directamente con otros estados en el sistema (biorreactor) como consumo de oxígeno, generación de calor por mencionar algunos, y que en definitiva su dinámica es característica de su aplicación (de los modelos cinéticos) para los diferentes tipos de cultivos. Los principales balances de masa en un biorreactor están relacionados con la fase del líquido, gas y sólido.

3.2.1. Estimación a través de observadores adaptables

Los observadores pueden ser usados para aumentar o reemplazar sensores en un sistema de control. Los observadores son algoritmos que combinan señales disponibles con otro conocimiento del sistema de control para producir señales observadas. Estas señales observadas pueden ser más exactas, menos caras de producir, y fiables como las señales censadas. Los observadores diseñados ofrecen una invitación alternativa para adicionar nuevos sensores.

Como con cualquier observador, un observador adaptable entrega la estimación de las variables del proceso (estados) o parámetros, por simulación del modelo del proceso con un término proporcional de corrección entre la diferencia

de las mediciones y su preedición o valores estimados. Además, en esta aproximación, los valores de los parámetros cinéticos, los cuales son desconocidos, son diseñados continuamente hasta lograr que el error converja a cero o muy cercano a cero. [39]. Las ecuaciones básicas para un observador se muestran a continuación

$$\begin{aligned}\frac{d}{dt}x_e &= g(x_e, u, k_e) + k_1 [(M - f(x_e, k_e))] \\ \frac{d}{dt}k_e &= k_2 [(M - f(x_e, k_e))]\end{aligned}$$

Donde k_1 y k_2 son los parámetros de diseño del observador, los cuales tienen que ser definidos para asegurar la convergencia de estimación y el desempeño. En los sistemas de control el observador de Luenberger se ha aplicado exitosamente, en la Figura 3-2 se muestra un diagrama a bloques de la estructura de este observador.

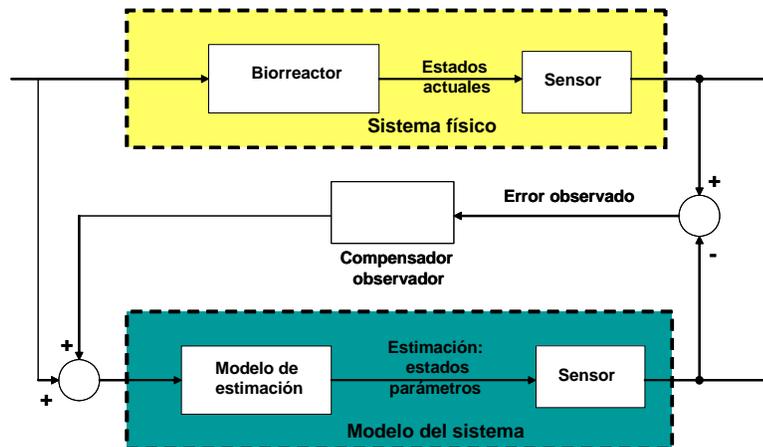


Figura 3-2. Estructura de un observador de Luenberger

Una aplicación importante de este tipo de observador lo encontramos como un estimador para la velocidad específica de crecimiento en un cultivo[40], la característica importante de este estimador, es el procedimiento de entonación del propio observador que aseguren la estabilidad del estimador. En M. Perrier y col. [46] se presentan los algoritmos de estimación para parámetros cinéticos en bioprocesos, y se presenta la teoría para entonar los estimadores. Sin embargo, el procedimiento para entonar (convergencia del error a cero) el observador, se realiza diseñando los parámetros k_1 y k_2 de forma manual. Zita I.T. A. Soons [47] desarrollaron dos métodos de control para entonar en línea el parámetro estimado (velocidad específica de crecimiento) con respecto a la señal de referencia y controlar el proceso de producción de vacunas de *B. pertussis* en un cultivo fed-batch con $OUR \approx OTR$.

3.2.2. Técnicas de filtrado

En el FEK la estabilidad y el desempeño no están garantizados y dependen fuertemente de la aplicación específica, En Lorenzo y col.[48] se menciona que la aplicación del FEK requiere de la dinámica del modelo, que es muy difícil para seleccionar en la práctica. El FEK tiene muchas otras desventajas, requiere de mucha información a priori sobre el proceso (incluyendo datos estadísticos). Además, las propiedades de estabilidad y convergencia son cuestionables particularmente para estimación de parámetros en sistemas no lineales, tales como los procesos de fermentación. Sin embargo, en la literatura está ampliamente registrado el uso de este filtro. Por ejemplo, en [49].

3.2.3. Redes neuronales artificiales

Hoy en día con el gran avance en las computadoras y el procesamiento de datos, nuevos procedimientos para modelado utilizando algoritmos de inteligencia pueden ser usados. Las Redes Neuronales Artificiales (RNA) son una nueva tecnología que puede ser una alternativa para el modelado de parámetros de un sistema, para modelos de simulación muy complejos. En García y col. [24] se estudió la influencia de diferentes variables sobre el coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $k_L a$, en reactores tipo tanque agitado utilizando las RNA. Sin embargo, cuando se aplica esta metodología es un requisito indispensable disponer de conocimiento previo del proceso. Lo anterior limita la aplicación de las RNA si no hay manera de disponer de este conocimiento previo de la estructura del sistema. Sin embargo, las RNA han adquirido importancia tanto en las investigaciones académicas como en aplicaciones industriales. Los dos tipos de RNA conocidos son las Redes Neuronales Estáticas (RNE), usando la llamada técnica de back-propagation [50], [51] y las Redes Neuronales Diferenciales o Dinámicas (RND), las cuales son aplicadas en este trabajo.

3.2.4. Redes neuronales diferenciales

Las aplicaciones de la RNA como herramienta para identificar y diseñar estructuras de control, a encontrado fuertes aplicaciones dada su estructura no lineales que utiliza algoritmos de adaptación y ajuste de parámetros [52], [53], [54], [55].

Capítulo 4

Diseño del Estimador para el Parámetro $k_L a_t$

4.1. Introducción

En este capítulo se presentan primeramente la metodología de la experimentación de los diferentes cultivos que integraron la base de datos experimentales, la cual se utilizó para validar el software sensor diseñado y finalmente se presentan las diferentes técnicas que fueron utilizadas para diseñar el estimador para el coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $k_L a_t$ utilizada para el diseño del *software sensor*. La metodología utilizada para diseñar el estimador se realizó llevando a cabo dos etapas de trabajo, siendo la primera el uso de las técnicas de Redes Neuronales Diferenciales (**RND**), esta metodología se utilizó para identificar (entrenamiento) y observar (estimar) los estados del modelo de un reactor lote y lote alimentado y a los estados experimentales obtenidos en procesos de biotransformación en dos diferentes modos de operación: reactor lote alimentado y en lote para los sistemas biológicos *Saccharomyces cerevisiae* y *Azotobacter vinelandii* respectivamente. En la segunda etapa se detallan los algoritmos utilizados y diseñados para estimar la evolución del parámetro $k_L a_t$ en cada tipo de cultivo. Esta última etapa se acopla con las técnicas de **RND** y en conjunto se desarrollo el *software sensor* para estimar el parámetro $k_L a_t$.

4.2. Metodología experimental

4.2.1. Sistemas de cultivos

Los datos experimentales que se utilizaron para integrar la base de datos experimentales (véase Tabla 5.1) fueron los siguientes:

1. Reactor lote alimentado: Cultivo aerobio para *Saccharomyces cerevisiae*.
2. Reactor lote: Cultivo aerobio para *Azotobacter vinelandii*

4.2.2. Fermentación: *S. cerevisiae*

Las fermentaciones en lote alimentado (*S. cerevisiae*), se llevaron a cabo en un biorreactor tipo tanque agitado de 15 L (applikon Z81315 M607). El biorreactor estaba provisto de unidades de control de pH y oxígeno disuelto. El pH del medio de cultivo fue controlado con una solución de amoníaco-agua al 20 % (v/v), siendo esta solución la única fuente de nitrógeno. La temperatura fue controlada automáticamente. Las condiciones estándar del cultivo fueron: pH 5.0, temperatura 30° C, el flujo de aire de 450 Lh⁻¹, oxígeno disuelto con valor de saturación (0.8 mgO₂L⁻¹). Se alimentó el cultivo con medio fresco en dos porciones, una de solución de glucosa (fuente de carbono o sustrato) y otra de solución de nutrientes minerales y vitaminas (Véase apénice 1). La solución de glucosa se alimentó de forma pulsante al biorreactor, con un flujo promedio de 0.15 Lh⁻¹. Se diseñó un algoritmo de control de tipo PI simple (no se muestra) manejado por una computadora personal, que controló los flujos de alimentación de sustrato y minerales; para evitar la acumulación de glucosa en el medio de cultivo y causar la formación de ambientes heterogéneos (gradientes de concentración) de sustrato, que inhiben las enzimas responsables del metabolismo respiratorio de la levadura. Esta técnica permitió sostener el crecimiento y obtener una producción de biomasa máxima, mientras que la solución de minerales se alimentó al biorreactor a flujo constante.

Biomasa. El crecimiento de la levadura fue seguido midiendo la densidad óptica del cultivo a 620 nm con un espectrofotómetro de UV-V (Hitachi U-2000). La correlación entre peso seco y la densidad óptica fue establecida previamente.

Glucosa. La concentración de glucosa fue determinada por el método de la oxidación de la glucosa con un analizador automático (YSI 2700 Select).

Medios de cultivo Los medios de cultivo utilizados para las corridas experimentales se reportan en el anexo apénice 1.

4.2.3. Fermentación: *A. vinelandii*

A. vinelandii es una bacteria gram negativa, de vida libre y fijadora de nitrógeno. Esta bacteria es interesante por su capacidad de producir un polímero de interés industrial, el poli-B-hidroxibutirato (PHB) y por la producción de alginatos. Para el cultivo de *A. vinelandii*, con el fin de separar el efecto hidrodinámico de aquel del oxígeno disuelto, se usó un sistema de fermentación que permitió controlar el oxígeno disuelto a 3 % (por medio de mezcla de gases), sin afectar las condiciones de mezclado (hidrodinámica).

Los caldos (conteniendo células) que se obtuvieron tanto en matraces como en el tanque agitado fueron viscosos y pseudoplásticos. En matraces, los caldos filtrados (sin células) fueron de baja viscosidad y Newtonianos. Sin embargo, aquellos obtenidos en fermentador, resultaron de alta viscosidad y con características pseudoplásticas. Las propiedades reológicas de los caldos libres de células estuvieron asociadas con una elevada acumulación de compuestos extracelulares (proteínas y carbohidratos) que viscosifican el medio.

4.3. METODOLOGÍA PARA EL SOFTWARE SENSOR: DIAGRAMA A BLOQUES 39

Enrique Galindo y col. demostraron que la velocidad específica de crecimiento, μ , de *A. vinelandii* determina la masa molecular del alginato producido por esta bacteria. Lo anterior fue probado con un cepa mutante (SML2) de *A. vinelandii* incapaz de producir alginasas. Los cultivos se desarrollaron en reactor lote alimentado y lote bajo condiciones constantes de tensión de oxígeno disuelto mostraron que para el caso de un estado estable casi estacionario (fed batch), μ fue de 0.03 ± 0.009 , 0.06 ± 0.013 y $0.09 \pm 0.012 h^{-1}$ y para el reactor lote *u* fue de $0.21 h^{-1}$. Por tanto la masa molecular promedio de alginato se incrementa cuando μ decrece. [56].

Cultivo en reactor lote

El cultivo en reactor lote se desarrollaron en un biorreactor Applikon (Schiedam, Netherlands) usando un volumen de trabajo de 1.8 L. El biorreactor estaba equipado con dos turbinas tipo Rushton (diámetro = 5 cm.) y fue operado a 700 rpm y 29 °C. La velocidad del flujo de aire al fermentador fue $1.0 L \text{ min}^{-1}$. El pH fue medido con un electrodo Ingold (Columbus, USA) y controlado automáticamente usando una solución de NaOH 2N. La tensión de oxígeno disuelto (DOT, por sus siglas en inglés) fue monitoreado con un electrodo polarográfico Ingold y controlado a un valor 3% con respecto al valor de saturación usando un sistema basado en un control tipo PID.

4.3. Metodología para el software sensor: diagrama a bloques

Es importante resaltar que el objetivo principal de este trabajo esta relacionado con la observación de la dinámica del estado de un biorreactor, a través del proceso de observación de los estados y estimación de parámetros partiendo de la información disponible o medible en el sistema. Pero no es suficiente la observación del proceso sino también se requiere controlar el proceso. Si consideramos esto último, en la Figura 4-1 se muestra un esquema de control de un biorreactor. En el recuadro con línea de color rojo se muestra de manera general los elementos necesarios para controlar el proceso. Estos elementos son algoritmos matemáticos, es decir, un software de control o un software sensor (sensor virtual), por tanto, la ubicación de este trabajo en un esquema de control de un biorreactor corresponde a la parte del diseño de los algoritmos matemáticos (software) para construir un sensor virtual. Este software utiliza la información disponible en el biorreactor para estimar el parámetro $k_L a$ en línea.

La combinación entre el diseño de un algoritmo de control y software sensor propuesto en este trabajo se sugiere que puede ser utilizado en combinación con un técnica de control para controlar el proceso, actuando sobre un elemento físico en el biorreactor a partir de la información entregada por el software sensor.

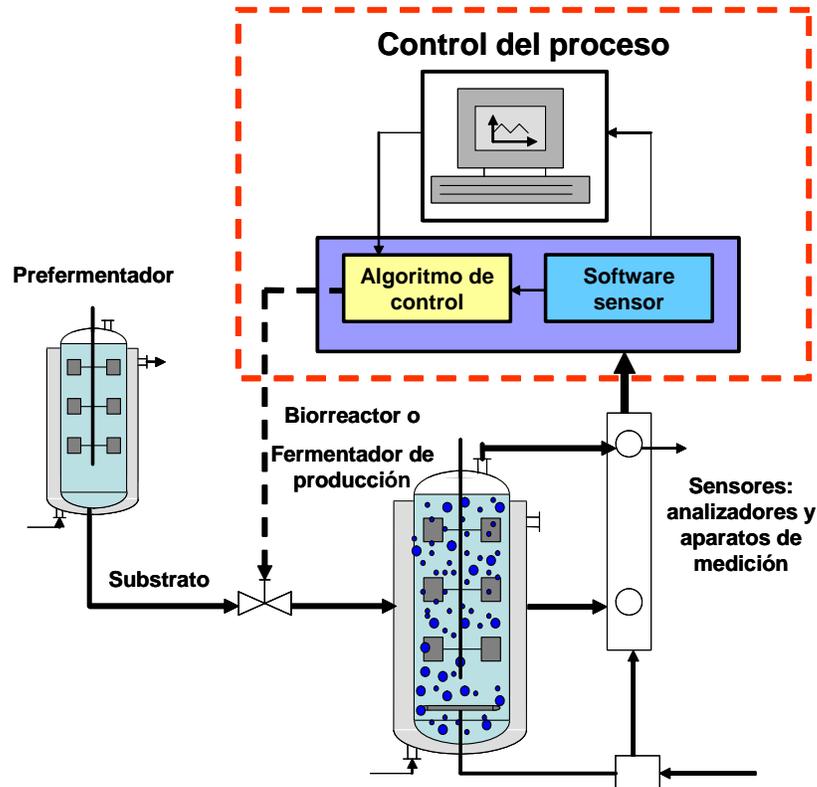


Figura 4-1: Esquema general de control de un biorreactor

La estructura general de la metodología utilizada se muestra en la Figura. 4-1

En la Figura 4-2 se muestra la estructura general de la metodología utilizada en este trabajo. En el recuadro identificado como a) se refiere al sistema (biorreactor). La dinámica del biorreactor se puede generar a partir de un modelo matemático o experimentalmente. Cuando se utiliza un modelo matemático que describe al sistema (reactor lote, lote alimentado, batch y fed batch respectivamente) en cuyo caso los estados disponibles (salidas $y_t = Cx_t$) aquí se representan como $y_t^{Modelo} = [X_t \ S_t \ C_t \ V_t]^T$ con $C = [1 \ 1 \ 1 \ 1]^T$ (todos los estados son conocidos) con $x = [X_t \ S_t \ C_t \ V_t]^T$ y para el caso experimental los estados disponibles se identifican aquí como $y_t^{Exp} = [X_t^{Exp} \ S_t^{Exp} \ C_t^{Exp} \ V_t^{Exp}]^T$. En el primer caso cuando se dispone del modelo que describe la dinámica del biorreactor (para este estudio reactor lote y lote alimentado) la información sobre la dinámica del sistema esta completa, sin embargo, en una situación práctica o de aplicación (experimentación) disponer de los estados para observar y controlar el sistema es una función directa de la instrumentación disponible en el biorreactor, esto implica que C no siempre tiene la forma $C = [1 \ 1 \ 1 \ 1]^T$.

En este trabajo se asumió que el único estado disponible en línea fue la

concentración de oxígeno disuelto en el medio de cultivo, C_t , esto implica que $C = [0 \ 0 \ 1 \ 0]^T$ o que $y_t^{Exp} = C_t x_t$, sin embargo, en la estructura del algoritmo para estimar el parámetro $k_L a_t$ se requiere de la dinámica de la biomasa, X_t , en línea y μ_t . La biomasa (y el resto de los estados) se generan con la **RND**. La **RND** esta representada en el recuadro b), en este punto la **RND** recibe la información disponible $y_t^{Exp} = C_t x_t$ y actúa sobre esta para observar aquellos estados que no pueden ser medidos y generar todos los estados del sistema $y_t^{RND} = [\hat{X}_t \ \hat{S}_t \ \hat{C}_t \ \hat{V}_t]^T$.

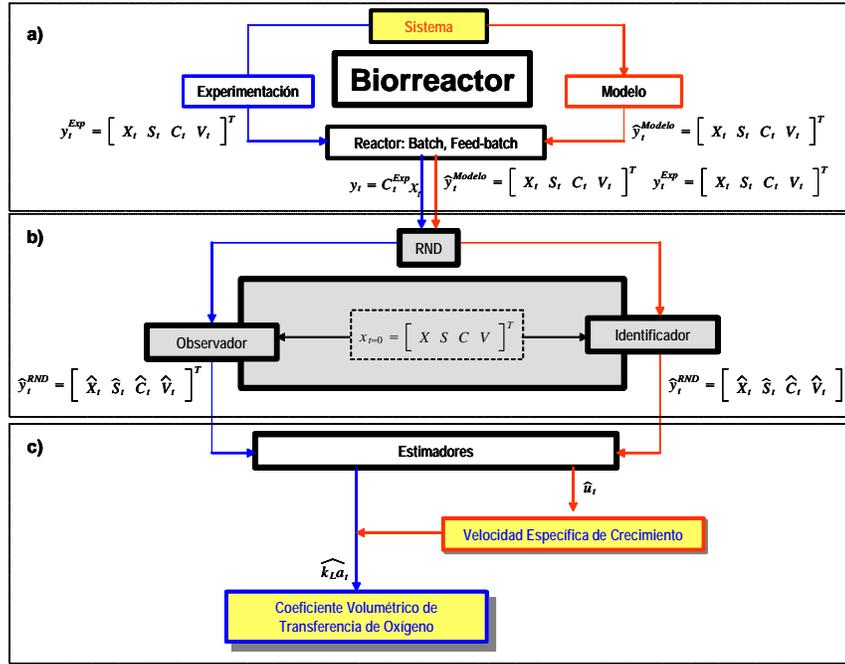


Figura 4-2: Diagrama general a bloques de la metodología

Entonces los estados observados por la **RND** (y_t^{RND}) se utiliza en la estructura de los estimadores (recuadro c)) para estimar el $k_L a_t$. Nótese que el vector de estados (x_t) no está relacionado con la dinámica de formación de algún producto (P_t) ya que en este estudio no se consideró necesario conocer la dinámica de P_t , debido a que el diseño de los algoritmos para estimar el parámetro $k_L a_t$ están relacionados con la información disponible el línea y principalmente porque la estructura del estimador no se requiere de la dinámica de P_t .

4.4. Modelo del bioreactor: esquema básico

El esquema general de un bioreactor (un sistema) y su ambiente se muestra en la Figura 4-3, donde se distingue lo siguiente:

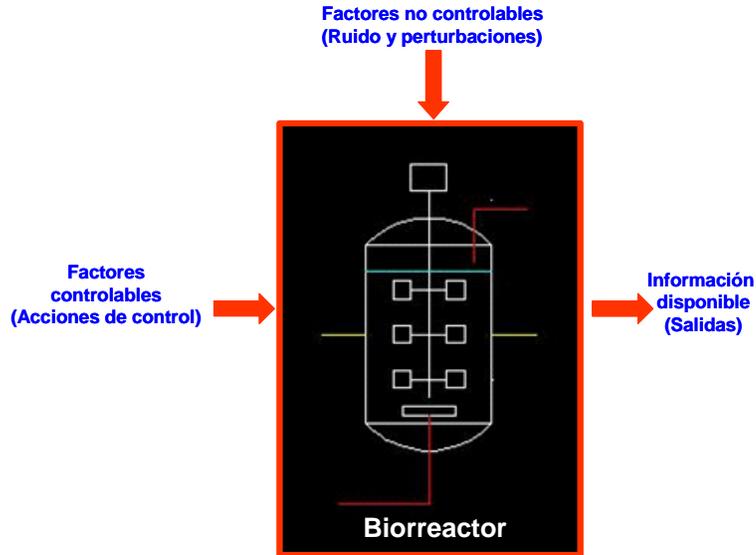


Figura 4-3: Sistema (biorreactor)

Estados del sistema:

$$x_t = (x_{1,t}, \dots, x_{n,t})^T$$

Acciones de control:

$$u_t = (u_{1,t}, \dots, u_{k,t})^T \quad (4.1)$$

Información medible (salidas):

$$y_t = (y_{1,t}, \dots, y_{m,t})^T \quad (4.2)$$

Ruido y perturbaciones no controlables (entradas no controlables):

$$\xi_{x,t}, \text{ perturbaciones de la dinámica del sistema} \quad (4.3)$$

$$\epsilon_{y,t}, \text{ perturbaciones de los datos de medición}$$

4.4.1. Dinámica general del modelo

El biorreactor se considera como un sistema cuya dinámica se describe por la siguiente relación.

$$\frac{d}{dt}x = F_1(x)\theta + F_2(x) \quad (4.4)$$

donde $x \in \mathbb{R}^n$ es el vector estados, $\theta \in \mathbb{R}^p$ es el vector de parámetros desconocidos y $F(x)_1$ y $F(x)_2$ son (matrices) generalmente no lineales, de funciones del

vector de estados. Un ejemplo clásico son las ecuaciones de balance de materia y energía en el biorreactor. (Bastin y Dochain, 1990)

Un proceso biotecnológico puede ser definido como un conjunto de M reacciones envolviendo N componentes. La dinámica de un modelo en un tanque agitado con mezclado perfecto puede ser deducida de las consideraciones del balance de masa (véase capítulo I) y escrita en la siguiente forma

$$\frac{d}{dt}x = KG(x)\theta + F - Q - Dx \quad (4.5)$$

Donde x_t , K , $G(x)\theta$, F , Q y D son el vector de estados del proceso [gL^{-1}] (más la temperatura [$^\circ K$] cuando se considera un balance de energía), matriz de coeficientes estequiométricos, el vector de la velocidad de reacción [$gL^{-1}h^{-1}$], el vector de velocidad alimentación [$gL^{-1}h^{-1}$], el vector de velocidad para los gases exhaustos [$gL^{-1}h^{-1}$] y la velocidad de dilución [h^{-1}] respectivamente. Los balances de masa y energía dados en el modelo descrito por (4.5) esta compuesto de dos términos

1. La dinámica de transporte: ($F - Q - Dx$) debido al flujo de materia a través del reactor.
2. La dinámica de reacción o la biocomversión ($G(x)\theta$) debido a las bio-transformaciones.

4.5. Redes neuronales diferenciales

El modelo de un biorreactor (lote o lote alimentado) sistema (4.5) puede ser generalizado, en un sentido matemático como

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}x_t &= \dot{\hat{x}}_t = f(x_t, u_t, t) + \xi_{1,t}, \quad x_0 \text{ conocida} \\ y_t &= Cx_t + \xi_{2,t} \end{aligned} \quad (4.6)$$

$$\begin{aligned} x_t &\in \mathbb{R}^n, y_t \in \mathbb{R}^p \quad t \geq 0, \quad u_t \in \mathbb{R}^m \\ C &\in \mathbb{R}^{p \times n}, \quad \xi_{1,t} \in \mathbb{R}^{n \times 1} \quad \text{y} \quad \xi_{2,t} \in \mathbb{R}^{p \times 1} \\ &\|Cx_t\| \|\xi_{2,t}\| \end{aligned}$$

Donde: $x_t \in \mathbb{R}^n$ es el vector de estados en $t \geq 0$, $y_t \in \mathbb{R}^p$ es la salida correspondiente, disponible en cualquier tiempo (es una combinación lineal de los elementos de estado), $u_t \in \mathbb{R}^m$ es la alimentación externa, $C \in \mathbb{R}^{p \times n}$ es la matriz de transformación del estado a la salida (seleccionada como $C = [0 \ 0 \ 1 \ 0]^T$, puesto que la concentración de oxígeno disuelto en el medio de cultivo es la variable más común a medir en los procesos aerobios, es decir, el

conocimiento *a priori*, $\xi_{1,t}$ y $\xi_{2,t}$ son los ruidos que no pueden ser medidos (pero si acotados) en la dinámica del estados y la de la salida respectivamente:

$$\|\xi_{j,t}\|_{\Lambda_{\xi,j}}^2 \leq \Upsilon, \quad \Lambda_{\xi,j} > 0, \quad j = 1, 2 \quad (4.7)$$

que puede ser asociada con diferentes condiciones de operación del biorreactor y errores en la medición de la variable disponible (oxígeno disuelto en el medio de cultivo). Nótese que el sistema no lineal (4.6) siempre puede ser descrito como:

$$\begin{aligned} \dot{\hat{x}}_t &= f_0(x_t, u_t, t | \Theta) + \tilde{f}_t + \xi_{1,t} \\ \tilde{f}_t &= f(x_t, u_t, t) - f_0(x_t, u_t, t | \Theta) \end{aligned} \quad (4.8)$$

Donde $f_0(x_t, u_t, t | \Theta)$ es conocido como la *dinámica nominal* la cual puede ser seleccionada de acuerdo a los resultados teóricos de **RND** y \tilde{f}_t es el vector llamado *dinámica no modelada* que debe ser minimizada durante el proceso de entrenamiento. Aquí el parámetro Θ es sujeto a ser ajustado para obtener la completa entonación entre la dinámica nominal y la dinámica no modelada. Según **RND** (Poznyak 2001). La *dinámica nominal* se define como

$$f_0(x_t, u_t, t | \Theta) = A^0 x + W_1^0 \sigma(x) + W_2^0 \varphi(t) u \quad (4.9)$$

$$\Theta := [W_1^0, W_2^0], \quad A^0 \in \mathfrak{R}^{n \times n}, \quad W_1^0, W_2^0 \in \mathfrak{R}^{n \times n}, \quad \sigma(x) \in \mathfrak{R}^{l \times 1}, \quad \varphi(t) \in \mathfrak{R}^{n \times m} \quad (4.10)$$

Las funciones de activación $\sigma_i(\bullet)$ y $\varphi(\bullet)$ son seleccionadas como funciones sigmoideas

$$\sigma_j(t) := a_j \left(1 + b_j \exp \left(\sum_{j=1}^n c_j x_j \right) \right)^{-1} \quad (4.11)$$

$$\begin{aligned} \varphi_{kl}(t) &:= a_j \left(1 + b_{kl} \exp \left(\sum_{j=1}^n c_{kl} x_l \right) \right)^{-1} \\ j &= 1, n, \quad k = 1, n, \quad l = 1, m \end{aligned} \quad (4.12)$$

cada componente de la función de activación satisface las siguientes condiciones

$$\|\sigma(x) - \sigma(x')\|_{\Lambda_\sigma}^2 \leq l_\sigma \|x - x'\|_{\Lambda_\sigma}^2, \quad \|\varphi(x) - \varphi(x')\|_{\Lambda_\varphi}^2 \leq l_\varphi \|x - x'\|_{\Lambda_\varphi}^2 \quad (4.13)$$

donde Λ_σ y Λ_φ son factores de ponderación para acotar las funciones de activación $\sigma_j(t)$ y $\varphi_{kl}(t)$ respectivamente.

4.5.1. Identificador de estados

Consideramos la dinámica de un reactor lote alimentado descrita por el sistema (1.14-18), donde el vector de estados (x_t) se conoce completamente (datos experimentales). La evolución de los estados puede ser identificada utilizando la **RND**, buscando la mejor aproximación a este modelo no lineal usando los datos conocidos de entrada y salida. La descripción de este tipo de **RND** es:

$$\dot{\tilde{x}}_t = A\tilde{x}_t + W_{1,t}\sigma(\tilde{x}_t) + W_{2,t}\varphi(\tilde{x}_t)u_t \quad (4.14)$$

Donde $\tilde{x}_t \in \mathfrak{R}^n$ es el vector de estados de la **RND**, $u_t \in \mathfrak{R}^q$, es la acción de control, $A \in \mathfrak{R}^{n \times n}$ es una matriz Hurwitz, $W_{1,t} \in \mathfrak{R}^{n \times k}$ es la matriz de pesos para la retroalimentación de los estados no lineales, $W_{2,t} \in \mathfrak{R}^{n \times r}$ es la matriz de pesos de entrada, vector de campo $\sigma(\tilde{x}_t) : \mathfrak{R}^n \rightarrow \mathfrak{R}^k$ es diseñado para tener elementos con una conducta de incremento monótonamente justo como función sigmoide. La función $\varphi(\bullet)$ la transformación de \mathfrak{R}^n a $\mathfrak{R}^{r \times s}$ la cual es construida por función sigmoide de activación en cada elemento. La función de entrada $u(\bullet)$ se asume a ser acotada como $\|u_t\|^2 \leq \bar{u}$. El diseño del identificador requiere del siguiente condición: existe una matriz Hurwitz Q definida positiva tal que la ecuación de Riccati tiene una solución positiva $P = P^T > 0$

$$A^T P + PA + PRP + Q = 0 \quad (4.15)$$

Teorema 1. Consideramos el sistema no lineal (4.6) el modelo del identificador de la red neuronal cuyos pesos son ajustados por las siguiente ley de aprendizaje [26]:

$$\frac{d}{dt}W_{1,t} = -K_1 P \Delta_t \sigma(\hat{x}_t)^T \quad (4.16)$$

$$\frac{d}{dt}W_{2,t} = -K_2 P \Delta_t \gamma(\hat{u}_t)^T \varphi(\hat{x}_t)^T \quad (4.17)$$

$$\Delta_t : = x_t - \hat{x}_t \quad (4.18)$$

$$W_{1,0}, W_{2,0} - \text{Matriz de pesos iniciales} \quad (4.19)$$

Donde K_1 y K_2 son matrices definidas positivas, P ($P = P^T > 0$) es la solución de la ecuación de Riccati dada por (4.15). Se asume que la dinámica de los pesos son acotados:

$$W_{1,t} \in L_\infty, W_{2,t} \in L_\infty \quad (4.20)$$

y ellos convergen a sus mejores valores posibles

$$\lim_{t \rightarrow \infty} W_{1,t} = 0, \quad \lim_{t \rightarrow \infty} W_{2,t} = 0 \quad (4.21)$$

Además, es posible concluir que la identificación del proceso es asintóticamente consistente

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \Delta_t = 0 \quad (4.22)$$

El elemento principal para construir la prueba de convergencia en este esquema es construir una función de Lyapunov para derivar las leyes de aprendizaje (4.16-17). Esta función de Lyapunov fue seleccionada como:

$$V_t := \Delta_t^T P \Delta_t + tr \left[\widetilde{W}_{1,t}^T K_1^{-1} \widetilde{W}_{1,t} \right] + tr \left[\widetilde{W}_{2,t}^T K_1^{-1} \widetilde{W}_{2,t} \right] \quad (4.23)$$

$$\widetilde{W}_{j,t} = W_{j,t} - W_{j,0}, \quad j = 1, n \quad (4.24)$$

La demostración de las leyes de aprendizaje La demostración de las leyes de aprendizaje que ajustan la dinámica de la RND se muestra en el apéndice 8.

4.5.2. Observador de estados

En esta sección se describe la estructura del Neuro-Observador Diferencial (**NOD**) para Sistemas no lineales desconocidos, la técnica de la **RND** puede ser aplicada exitosamente a modelos no lineales desconocidos. Esta metodología para la observación de estados usando la dinámica de la red neuronal diferencial recurrente, para sistemas continuos o discontinuos no lineales, los cuales presentan perturbaciones externas como internas pero acotados, El diseño del **NOD** esta propuesto para alcanzar una exactitud especificada del error de estimación.

Si la parte del lado derecha de la ecuación de $f(x_t, u_t, t)$ en (4.14) es conocida, la estructura del observador puede escogerse de tipo Luenberger

$$F(t, \hat{x}_t, y_t) = f(\hat{x}_t, t) + K(y_t - C\hat{x}_t), \quad K \in \mathbb{R}^{n \times m} \quad (4.25)$$

que corresponde a la forma estándar del observador tipo Luenberger con un término de corrección lineal.

La estructura de un correspondiente observador no lineal puede ser descrita como sigue

$$\frac{d}{dt} \hat{x}_t = f(\hat{x}_t, u_t, t) + K_t [y_t - C\hat{x}_t] \quad (4.26)$$

$$\frac{d}{dt} \hat{x}_t = A^{(0)} \hat{x}_t + W_{1,t} \sigma(\hat{x}_t) + W_{2,t} \varphi(\hat{x}_t) u_t + K_t [y_t - C\hat{x}_t] \quad (4.27)$$

Donde $K_t \in \mathbb{R}^{n \times m}$ es la matriz de ganancia del observador, \hat{x}_t es el vector de estados en la ecuación diferencial matricial. Las condiciones iniciales en la ecuación vectorial diferencial son $\hat{x}_{t=0}$ las cuales se fijan. A este esquema se le llama *Neuro-Observador*.

De manera semejante como en la estructura del identificador el error se define como $\Delta_t := x_t - \hat{x}_t$,

El factor más importante sobre la dinámica de la **RND** esta relacionado con la evolución en el tiempo de los pesos. Esto es una consecuencia de la estructura compleja no lineal de las ecuaciones diferenciales en la matriz de pesos. Para el modelo del observador las leyes de aprendizaje se definen de la siguiente manera

$$\frac{d}{dt} W_{1,t} = -(\Gamma_{1,t} + \delta \Gamma_{2,t}) [W_{1,t} - W_1^*] \sigma(\hat{x}_t) \sigma(\hat{x}_t)^T - M_{1,t} \quad (4.28)$$

$$\frac{d}{dt}W_{2,t} = -\|\gamma(u_t)\|^2 (\Gamma_{1,t} + \delta\Gamma_{2,t}) [W_{2,t} - W_2^*] \phi(\hat{x}_t) \phi(\hat{x}_t)^T - M_{2,t} \quad (4.29)$$

$$W_{1,0} = W_1^*, \quad W_{2,0} = W_2^* \quad (4.30)$$

con

$$\Gamma_{1,t} = (PN^{-T}C_0^+) (\Lambda_{\Delta C}^{-1} + \Lambda_{\xi^2}^{-1}) (C_0^{+T}N^{-1}P) \quad (4.31)$$

$$\Gamma_{2,t} = PN^{-T}N^{-1}P \quad (4.32)$$

$$M_{1,t} = 2PN^{-T}\sigma(\hat{x}_t)\tilde{y}_tC_0^+ \quad (4.33)$$

$$M_{2,t} = 2P_tN^{-T}\phi(\hat{x}_t)\gamma(u_t)\tilde{y}_tC_0^+ \quad (4.34)$$

$$K_t = P_t^{-1}C_0^T\Omega^{-1} \quad (4.35)$$

Para construir la prueba de convergencia en este esquema es nuevamente construir una función de Lyapunov para derivar las leyes de aprendizaje. Esta función de Lyapunov fue seleccionada como:

$$V_t := \Delta_t^T P \Delta_t + \frac{1}{2} \text{tr} \left[\widetilde{W}_{1,t}^T \widetilde{W}_{1,t} \right] + \frac{1}{2} \text{tr} \left[\widetilde{W}_{2,t}^T \widetilde{W}_{2,t} \right] \quad (4.36)$$

Para $P^T = P > 0$ a lo largo de la trayectoria de la ecuación diferencial siguiente

$$\frac{d}{dt}\Delta = \frac{d}{dt}\hat{x}_t - \frac{d}{dt}x_t \quad (4.37)$$

Finalmente la metodología para la RND como identificador y el observador de estados basado en RND descrita previamente se puede resumir de manera esquemática, esto se muestra en la Figura 4-4 aquí se observa la interacción en línea tanto para el proceso de entrenamiento y el proceso de observación de estados, es importante señalar que todo en el proceso los algoritmos fueron diseñados para evolucionar acoplados y en continuo.

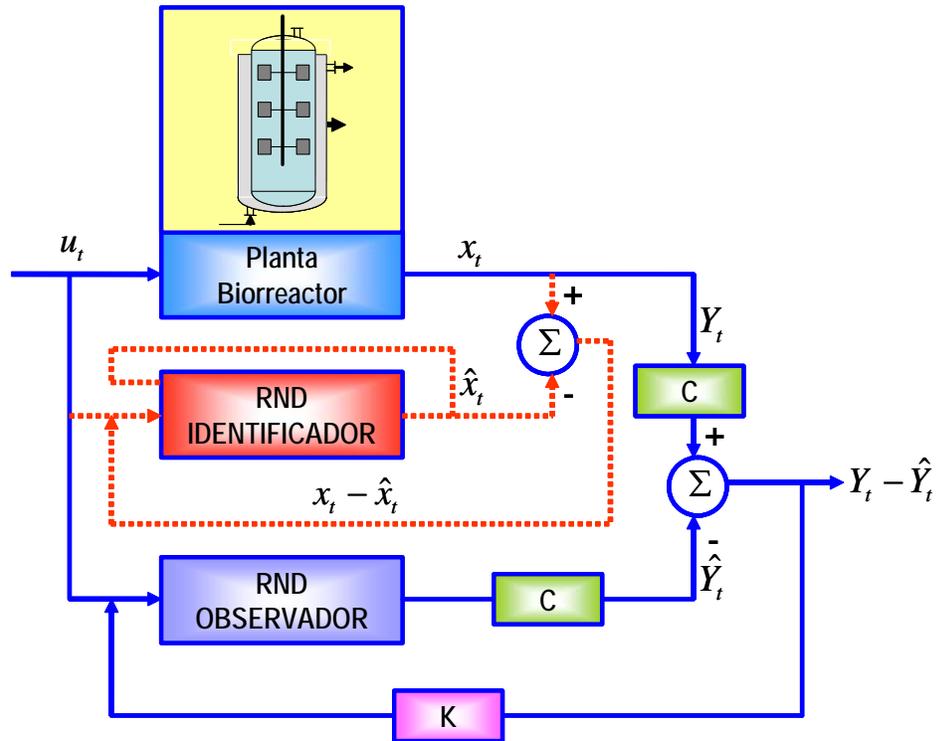


Figura 4-4: Diagrama a bloque de la RND. Identificador y observador

El identificador de estados basado en la RND se representa en la Figura 4-4 por el bloque rojo y su interacción con la planta o el biorreactor.

4.5.3. Método de entrenamiento de la red

La representación a bloques para el proceso de entrenamiento de la red se muestra en la Figura 4-5 en el cual se lleva a cabo el ajuste de los parámetros que forman parte de la estructura del identificador. Donde se observa que la identificación de los estados en el biorreactor a partir de la convergencia del error, $x_t - \hat{x}_t$, a cero o muy cercano a cero. Esto es, la red se modifica continuamente por medio del ajuste de los pesos $W_{1,t}$ y $W_{2,t}$ (proceso de aprendizaje) hasta que el error $x_t - \hat{x}_t$ converge a cero, cuando esto se cumple se dice que la red ha adquirido las propiedades del sistema (biorreactor).

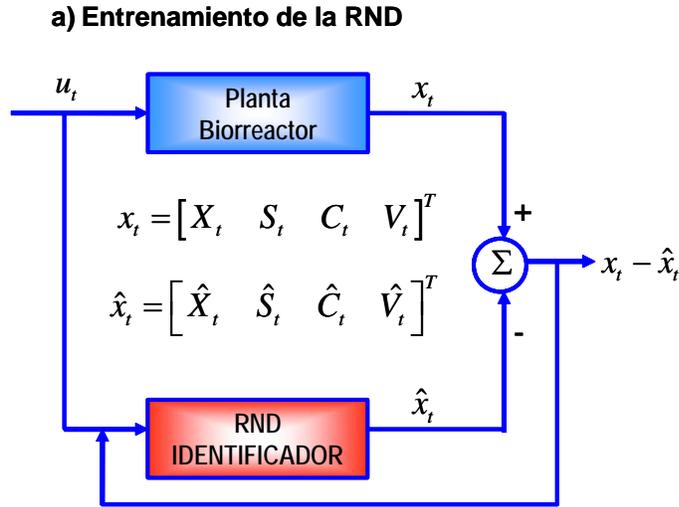


Figura 4-5: Diagrama a bloques para el identificador

Esto es importante cuando la descripción matemática de un proceso real se torna complicado o prácticamente imposible, es cuando surge la necesidad de recurrir a métodos computacionales que permitan obtener un modelo del sistema a partir de datos experimentales disponibles por algún método clásico de medición (análítico, cuántico, etc), es decir, la llamada identificación de sistemas. Se entiende por identificación del sistema, la obtención de forma algorítmica de un modelo que reproduzca adecuadamente (con suficiente exactitud para fines deseados), *las características dinámicas del proceso bajo estudio*.

El concepto de identificación implica el uso de técnicas que permitan construir modelos matemáticos de sistemas dinámicos, a partir de información contenida en un conjunto de datos de entrada y salida (20, 19, 56, 57, 19).

En esta parte se considera el proceso de entrenamiento de RND, en la cual se lleva a cabo el ajuste de los parámetros que componen la estructura del identificador (Pesos). Para garantizar que el error de estimación sea lo suficientemente pequeño, se debe realizar la entonación de los parámetros de la red neuronal, entre los cuales se encuentra la matriz A . Este ajuste se lleva a cabo durante esta etapa conocida como entrenamiento. En este caso, el proceso de entrenamiento se lleva a cabo utilizando datos experimentales y previamente la obtención de un conjunto de datos de entrada y los datos generados en la solución numérica del sistema (1.14-18), el cual es utilizado para afinar el ajuste del identificador. En resumen, este es el primer paso en la obtención de una mayor calidad del proceso de modelado vía la red neuronal diferencial. A su vez, este mismo procedimiento es esencial para la observación de los estados del sistema. Así, la matriz A fue seleccionada como una matriz diagonal.

De igual forma la representación a bloques del proceso de observación de los estados que no están disponibles en el biorreactor a partir de un sólo estado que si esta disponible se muestra en la Figura 4-6. Lo anterior se logra debido a que el **NOD** previamente en el proceso de entrenamiento adquirió las propiedades

del sistema. Todo el proceso de observación de estados no medibles, X_t , S_t y V_t , se obtiene cuando la observación del error $C_t - \hat{C}_t$ converge a cero o muy cercano a cero, por lo cual, en diagrama abloques la matriz de salida, C , se define como:

$$C := [0 \ 0 \ 1 \ 0]$$

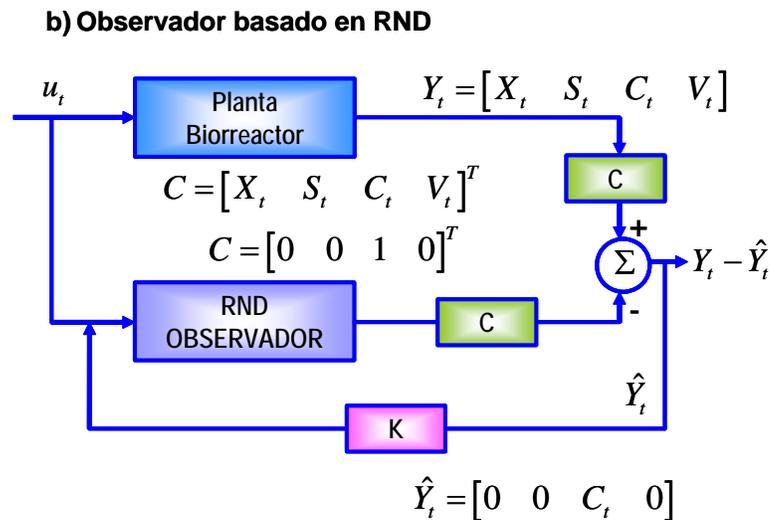


Figura 4-6: Diagrama a bloques de la estructura del observado

4.6. Estimación de parámetros: algoritmos

La contribución en esta sección es mostrar el diseño de los algoritmos para estimar los parámetros μ_t y $k_L a_t$, los algoritmos se caracterizan por las siguientes propiedades:

- Ellos están basados sobre la estructura no lineal de los sistemas de ecuaciones (1.9-1.19), (1.35).
- Todos los parámetros $\mu_t^{\text{máx}}$, C^* , Y_{XS} , Y_{O_2} se asume que son conocidos.
- Se asume que para los datos experimentales las entradas D_t y $S_{t=0}$ son conocidas.
- Los algoritmos presentados son esquemas en tiempo continuo.

4.6.1. Modelo matemático del proceso de fermentación

De acuerdo a lo expuesto en el capítulo 1 (modelos matemáticos de procesos de fermentación), el modelo básico del comportamiento para el crecimiento

microbiano en un reactor tanque agitado continuo se expresado como sigue

$$\frac{d}{dt}X_t = [\mu_t - D_t] X_t \quad (4.38)$$

$$\frac{d}{dt}S_t = -k_1\mu_t X_t + D_t [S_{in} - S_t] \quad \text{con } k_1 = \frac{1}{Y_{XS}} \quad (4.39)$$

$$\frac{d}{dt}V_t = E_t - F_t = D_t V_t - F_t \quad (4.40)$$

Este es claramente una representación de un espacio- estados de tercer orden con:

Tres variables de estados: X_t, S_t, V_t
 Tres entradas (controles): S_{in}, D_t, F_t (perturbaciones)
 Dos parámetros: μ_t, k_1

En este trabajo los casos de estudio del sistema (biorreactor) son:

1. Reactor lote

$$\frac{d}{dt}X_t = \mu_t X_t \quad (4.41)$$

$$\frac{d}{dt}S_t = -k_1\mu_t X_t \quad (4.42)$$

$$\frac{d}{dt}V_t = \text{Constante} \quad (4.43)$$

2. Reactor lote alimentado

$$\frac{d}{dt}X_t = [\mu_t - D_t] X_t \quad (4.44)$$

$$\frac{d}{dt}S_t = -k_1\mu_t X_t + D_t [S_{in} - S_t] \quad (4.45)$$

$$\frac{d}{dt}V_t = E_t = D_t V_t \quad (\text{Variable}) \quad (4.46)$$

Los cultivos estudiados (*S. cerevisiae* y *A. vinelandii*, reactor lote alimentado y lote respectivamente) fueron procesos de fermentación aerobios (biotransformaciones donde se transforman materias primas en productos, mediante rutas metabólicas activadas por la presencia de oxígeno). El balance de oxígeno disuelto en la fase del líquido (DO_t , por sus siglas en inglés) en el biorreactor esta dado por:

$$\frac{d}{dt}DO_t = OTR_t - OUR_t + \frac{E_t}{V_t} DO_t \quad (4.47)$$

Si se considera que la dinámica del oxígeno es mucho más rápida que la dinámica de otros procesos relevantes (biomasa, substrato) y la contribución del término de dilución, $\frac{E_t C_t}{V_t}$, es pequeño comparado con la

velocidad de cambio de oxígeno disuelto. Como consecuencia en (4.47) se puede expresar como

$$\frac{d}{dt}DO_t = OTR_t - OUR_t \quad (4.48)$$

Donde $OTR_t \left[\frac{g_{O_2}}{Lh} \right]$ es la velocidad de transferencia de oxígeno y $OUR_t \left[\frac{g_{O_2}}{Lh} \right]$ es la velocidad de consumo de oxígeno, debido a la actividad metabólica de las células.

4.7. Estado estable o cuasi-estable

Para el cultivo de *S. cerevisiae* (reactor lote alimentado) bajo condiciones normales del proceso, se asume que no hay una velocidad de acumulación significativa de oxígeno en la superficie del gas en la parte alta del líquido en el biorreactor (exhaustos), la velocidad de transferencia de oxígeno en la interfase gas-líquido son iguales. La evolución del oxígeno disuelto en el medio de cultivo se asume constante o por lo menos muy cercana al 10% con respecto al valor de saturación, por lo cual $OTR_t \simeq OUR_t$, esto es un estado pseudo estable en el **reactor lote alimentado**. Entonces la dinámica del oxígeno se utilizó para evaluar la evolución del $k_L a_t$ considerando las lecturas entregadas por el sensor para oxígeno disuelto es

$$OTR_t \simeq OUR_t \quad (4.49)$$

$$k_L a_t [C_t^* - DO_t^{Sensor}] = OUR_t \quad (4.50)$$

Resolviendo para $k_L a_t$ en la ecuación (4.50)

$$k_L a_t = OUR_t \left[\frac{1}{C_t^* - DO_t^{Sensor}} \right] \quad (4.51)$$

Y cuando $DO_t^{Sensor} \rightarrow 0$ De la igualdad (4.51) la velocidad máxima de transferencia de oxígeno esta dada por

$$k_L a_t C^* = OUR_t \left[\frac{C^*}{C^* - DO_t^{Sensor}} \right] \quad (4.52)$$

y cuando DO_t^{Sensor} tiende a cero en (4.52), se tiene que $k_L a_t C^* = OUR_t$. Las lecturas del sensor, DO_t , tiene un tiempo de respuesta τ^{Sensor} [s] y es modelado con un sistema de primer orden con

$$\frac{d}{dt}DO_t^{Sensor} = -\frac{1}{\tau^{Sensor}}DO_t^{Sensor} + \frac{1}{\tau^{Sensor}}DO_t \quad (4.53)$$

El parámetro $k_L a_t$ se calculo utilizando los datos experimentales a partir de la expresión (corrida **CDA-IBT**)

$$k_L a_t = OUR_t \left[\frac{1}{C^* - DO_t^{Sensor}} \right] = \mu_t \left[\frac{1}{Y_{O_2}} \right] \left[\frac{1}{C^* - DO_t^{Sensor}} \right] \quad (4.54)$$

Se asumió que el estado estable se inicia inmediatamente después de haber terminado el modo de producción en lote, es decir, instantes después de iniciado el cultivo en lote alimentado. Durante el cultivo en lote alimentado, la concentración de sustrato, prácticamente es cero, es decir, $S_t \approx 0$. Por lo tanto $\frac{dS_t}{dt} \approx 0$. Este comportamiento se puede ver en la Figura 4-7

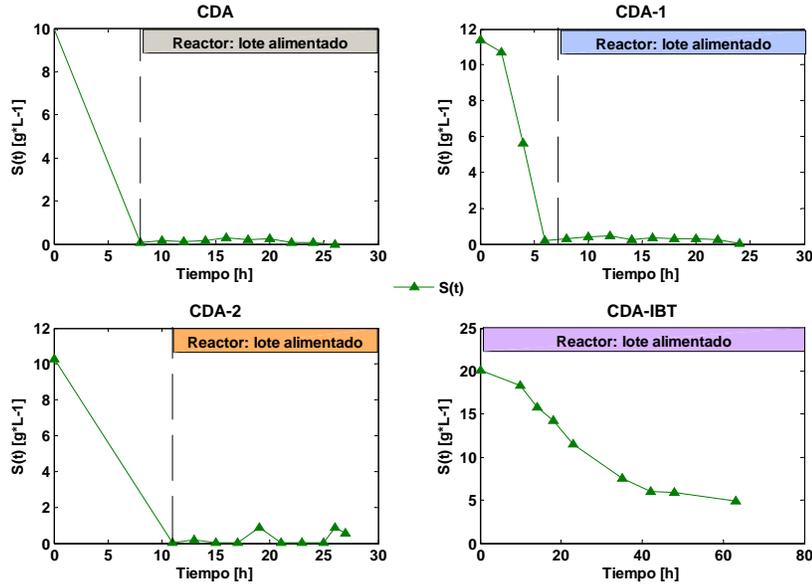


Figura 4-7 Dinámica de S_t , reactor lote alimentado (*S. cerevisiae*)

En los cultivos **CDA**, **CDA-1** y **CDA-2** (para cultivos de *S. cerevisiae*) en la Figura 4-6 la concentración de S_t en el biorreactor en lote alimentado es $S_t \approx 0$ (estado pseudo-estable). Pero en **CDA-IBT** (cultivo en lote de *A. vinelandii*) S_t es variable todo el tiempo del cultivo.

Del balance de masa para el sustrato (4.45) se tiene que $\mu_t = \mu_t(F_t)$, es decir, μ_t es una función del flujo de alimentación al biorreactor. Para establecer la relación de $\mu_t(F)$ se tiene que

$$\mu_t(F) = q_{S_t} Y_{XS} \quad (4.55)$$

Entonces de (4.45)

$$0 \approx -\frac{1}{Y_{XS}} \mu_t X_t + D_t S_{in} \quad (4.56)$$

$$D_t S_{in} = \frac{1}{Y_{XS}} \mu_t X_t \quad (4.57)$$

La expresión (4.57) puede ser utilizada para diseñar la velocidad de alimentación, F_t^{in} , al biorreactor. Resolviendo (4.57) para μ_t

$$\frac{1}{Y_{XS}} \mu_t X_t = D_t S_{in} \quad (4.58)$$

$$\mu_t = D_t S_{in} \left[\frac{Y_{XS}}{X_t} \right] \quad (4.59)$$

$$\mu_t = S_{in} \left[\frac{F_t}{V_t} \right] \left[\frac{Y_{XS}}{X_t} \right] \quad (4.60)$$

En (4.60) se justifica la dependencia de la velocidad específica de crecimiento como una función del flujo de alimentación F_t .

4.8. Coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno aparente

El $k_L a_t$ calculado con los datos experimentales se define como el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno aparente o experimental ($k_L a_t^{Exp}$). Utilizando las ecuaciones (4.54) y (4.60) se obtiene la siguiente expresión, la cual se utilizó para calcular el $k_L a_t^{Exp}$

$$k_L a_t^{Exp} = S_{in} \left[\frac{F_t}{V_t} \right] \left[\frac{Y_{XS}}{X_t} \right] \left[\frac{1}{Y_{O_2}} \right] \left[\frac{1}{C^* - DO_t^{Sensor}} \right] \quad (4.61)$$

4.9. Análisis de estabilidad del biorreactor

En esta sección se analiza la estabilidad del modelo que describe la dinámica básica del biorreactor. Si bien el modelo del biorreactor en concordancia con la realidad física, esta globalmente acotado en las entradas y los estados (BIBS, por sus siglas en inglés), este puede exhibir un comportamiento inestable.

El análisis de estabilidad esta basado en las siguientes suposiciones:

- A1 k_1 es una constante positiva
- A2 $0 < S_{t=0}$ $0 < X_{t=0}$
- A3 $0 < D_t$ para todo t
- A4 $0 < S_{in} < S_t^{m,x}$ para todo t
- A5 $0 < \mu_t < \mu_t^{m,x}$ para todo t
- A6 $\mu_t = 0$ si $S_t = 0$
- A7 $S_{t=0} + k_1 < S_t^{m,x}$ con $k_1 = 1/Y_{xs}$

Las suposiciones A2 y A3 son triviales: la concentración de X_t , S_t y la velocidad de dilución D_t son positivas por definición. Suposición A4 Los estados o los substratos en la corriente de alimentación solamente positivos pero también tienen un limite superior. Las suposiciones A5 y A6 son bastante suaves y realistas, pero la velocidad específica de crecimiento: (a) μ_t es positiva y acotada y

(b) no hay crecimiento sin sustrato. Finalmente la suposición A7 los estados al inicio de la biotransformación comienza con relativamente pequeñas cantidades de biomasa y sustrato, sin embargo, esta suposición no es esencial.

Teorema 1 [57]

Para la dinámica básica del modelo (reactor lote alimentado) descrito por (4.44-46), bajo las suposición A1 a A7, la concentración de biomasa X_t y la concentración del sustrato, S_t , están acotadas como sigue para todo $t > 0$:

$$0 < S_t < S_t^{mx} \quad 0 < X_t < X_t^{mx} = \frac{S_t^{mx}}{k_1} \quad (4.62)$$

Prueba

1. Cuando $X_t = 0$, tenemos que $\frac{d}{dt}X_t = 0$. Entonces, la conclusión $X_t > 0$, para todo t siguiendo de A2.
2. Cuando $S_t = 0$, temos que usando A3, A4, A6:

$$\frac{d}{dt}S_t = D_t S_{in} > 0 \quad (4.63)$$

3. Cuando $S_t = S_t^{mx}$, tenemos, usando A1, A3, A4, A5 en (1):

$$\frac{d}{dt}S_t = -k_1 \mu_t X_t + D_t [S_{in} - S_t^{mx}] < 0 \quad (4.64)$$

Entonces, la conclusión $S_t < S_t^{mx}$ para todo t seguida de A7.

4. Se define $Z_t = k_1 + S_t$. cuando $Z_t = S_t^{mx}$ y usando (4.6), (4.7) y A4:

$$\frac{d}{dt}Z_t = D_t [S_{in} - S_t^{mx}] < 0 \quad (4.65)$$

La conclusión $Z_t < S_t^{mx}$ para todo t seguido de A7. puesto que $S_t > 0$ por (2), claramente se tiene para todo t :

$$X_t < \frac{S_t^{mx}}{k_1} = X_t^{mx} \quad (4.66)$$

4.10. Estimador en línea para la velocidad específica de crecimiento, μ_t

Declaración del algoritmo . El algoritmo desarrollado por Duchain y Bastin para estimar la velocidad específica de crecimiento se desarrolla y complementa a continuación.

Se considera un biorreactor descrito por las ecuaciones siguientes (4.44) y (4.45), y se asume que la concentración de biomasa, X_t , esta disponible por mediciones en línea (on-line).

Entonces el algoritmo puede ser usado para estimar en línea la velocidad específica de crecimiento:

$$\frac{d}{dt} \widehat{X}_t = \widehat{\mu}_t X_t - D_t X_t + C_1 [X_t - \widehat{X}_t] \quad (4.67)$$

$$\frac{d}{dt} \widehat{\mu}_t = C_2 [X_t - \widehat{X}_t] \quad (4.68)$$

Donde las constantes $C_1 [h^{-1}]$ y $C_2 [Lh^{-2}g^{-1}]$ son estrictamente positivas, es decir, $C_1 > 0$ y $C_2 > 0$.

La estimación de la velocidad específica de crecimiento μ_t es derivada por la observación del error $X_t - \widehat{X}_t$. La dinámica de \widehat{X}_t es obtenida vía la ecuación diferencial (4.67) la cual incluye la ecuación no lineal (4.44) (donde el parámetro desconocido μ_t se reemplaza por su estimado en línea) y un término proporcional a la observación del error $X_t - \widehat{X}_t$.

4.10.1. Estabilidad y convergencia: caso libre de perturbaciones

El error en el proceso de estimación se define como sigue

$$\widetilde{X}_t = X_t - \widehat{X}_t \quad (4.69)$$

$$\widetilde{\mu}_t = \mu_t - \widehat{\mu}_t \quad (4.70)$$

Entonces, la dinámica del error puede ser deducida de

$$\frac{d}{dt} \widetilde{X}_t = \frac{d}{dt} X_t - \frac{d}{dt} \widehat{X}_t \quad (4.71)$$

$$\frac{d}{dt} \widetilde{\mu}_t = \frac{d}{dt} \mu_t - \frac{d}{dt} \widehat{\mu}_t \quad (4.72)$$

Desarrollando (4.71) con (4.44) y (4.67)

$$\frac{d}{dt} \widetilde{X}_t = \mu_t X_t - D_t X_t - \widehat{\mu}_t X_t + D_t X_t - C_1 \widetilde{X}_t \quad (4.73)$$

$$\frac{d}{dt} \widetilde{X}_t = X_t \widetilde{\mu}_t - C_1 \widetilde{X}_t \quad (4.74)$$

y también desarrolla (4.72) con (4.68)

$$\frac{d}{dt} \widetilde{\mu}_t = \frac{d}{dt} \mu_t - C_2 \widetilde{X}_t \quad (4.75)$$

El error del sistema (4.74) y (4.75) se reescribe como

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} \widetilde{X}_t \\ \widetilde{\mu}_t \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X_t \widetilde{\mu}_t - C_1 \widetilde{X}_t \\ \frac{d}{dt} \mu_t - C_2 \widetilde{X}_t \end{bmatrix} \quad (4.76)$$

4.10. ESTIMADOR EN LINEA PARA LA VELOCIDAD ESPECÍFICA DE CRECIMIENTO, μ_T 57

La estabilidad del sistema (4.76) es examinada considerando sus eigenvalores. Para analizar los eigenvalores del sistema (4.67) con (4.68)

$$\frac{d}{dt}x(t) = Ax(t) + B(t)u(t) \quad (4.77)$$

Con

$$x(t) = \begin{bmatrix} \tilde{X}_t & \tilde{\mu}_t \end{bmatrix}^T \quad (4.78)$$

$$A = \begin{bmatrix} -C_1 & X_t \\ -C_2 & 0 \end{bmatrix} \quad (4.79)$$

$$B(t) = \begin{bmatrix} 0 & 1 \end{bmatrix}^T \quad (4.80)$$

$$u = \frac{d}{dt}\mu_t$$

El diseño de los parámetros C_1 y C_2 se visualiza al obtener la ecuación característica de la matriz A , $\det(\lambda I - A)$,

$$\det(\lambda I - A) = \det \begin{bmatrix} (\lambda + C_1) & X_t \\ C_2 & \lambda \end{bmatrix} \quad (4.81)$$

el determinante de la matriz en (4.81) es la ecuación

$$\lambda^2 + C_1\lambda + C_2X_t = 0 \quad (4.82)$$

Esta es una ecuación de segundo orden que se resuelve de forma general como sigue

$$\lambda_i = -\frac{C_1 \pm \sqrt{C_1^2 - 4C_2X_t}}{2} \quad (4.83)$$

una importante guía es seleccionar los polos reales, esto se logra estableciendo la siguiente desigualdad (4.84) (véase apéndice 4 y 5).

$$C_1^2 - 4C_2X_t \geq 0 \quad (4.84)$$

y el diseño de los polos se puede lograr con

$$C_2 = \frac{\alpha C_1^2}{4X_t} \quad (4.85)$$

con

$$0 < \alpha < 1 \quad (4.86)$$

sin embargo, $C_2 = f(X_t)$ para este caso.

Para evitar que $C_2 = f(X_t)$ la estructura del sistema (4.67-68) es reajustada a la forma siguiente:

$$\frac{d}{dt}\hat{X}_t = \hat{\mu}_t X_t - D_t X_t + C_1 X_t \left[X_t - \hat{X}_t \right] \quad (4.87)$$

$$\frac{d}{dt}\hat{\mu}_t = C_2 X_t [X_t - \hat{X}_t] \quad (4.88)$$

por tanto, con el sistema (4.71-72) se deduce el error del sistema de manera semejante al caso anterior y sudinámica de error es

$$\frac{d}{dt}x(t) = X_t A x(t) + B(t) u(t) \quad (4.89)$$

Con parámetros $C_1 [Lh^{-1}g^{-1}]$ y $C_2 [L^2h^{-2}g^{-2}]$ son estrictamente positivos, es decir, $C_1 > 0$ y $C_2 > 0$.

$$x(t) = \begin{bmatrix} \tilde{X}_t & \tilde{\mu}_t \end{bmatrix}^T \quad (4.90)$$

$$A = \begin{bmatrix} -C_1 & 1 \\ -C_2 & 0 \end{bmatrix} \quad (4.91)$$

$$B(t) = \begin{bmatrix} 0 & 1 \end{bmatrix}^T \quad (4.92)$$

y utilizando A de (4.91), el diseño de los polos se obtiene al resolver la ecuación característica de la matriz A , $\det(\lambda I - A)$, por lo tanto, C_2 ya no es una función de la concentración de biomasa, como se muestra en la siguiente relación:

$$C_2 = \frac{\alpha C_1^2}{4} \quad (4.93)$$

Las propiedades de estabilidad y la convergencia del algoritmo de estimación (4.87-88) son analizadas bajo las siguientes suposiciones:

- A8 La derivada de μ_t en el tiempo esta acotada para todo t $\|\frac{d}{dt}\mu_t\| < M_1$
A9 X_t es estrictamente positiva para todo t : $X_t \geq \eta > 0$

Entonces se tienen los siguientes resultados para las propiedades de estabilidad y convergencia

Estabilidad

Teorema 2.1 (Bastin y Dochain, 1986)

Bajo las suposiciones A1 a A9, existe una constante positiva k_0 y k_1 , tal que el vector de $x(t)$ esta acotado como sigue, para todo t :

$$\|x(t)\| \leq k_0 \|x(0)\| + k_1 M_1 \quad (4.94)$$

Prueba de estabilidad

Se considera el sistema autónomo descrito por

$$\frac{d}{dt}\zeta_t = X_t A \zeta_t \quad (4.95)$$

puesto que C_1 y C_2 son seleccionadas estrictamente positivas, A tiene eigenvalores con parte real negativa. Por lo tanto, existe una matriz definida positiva P y Q que satisface la ecuación de Lyapunov

$$PA + A^T P = -Q \quad (4.96)$$

Entonces el sistema autónomo variante en el tiempo (4.95) es exponencialmente estable, puesto que

$$V[\zeta_t] = \zeta_t^T P \zeta_t \quad (4.97)$$

es una función cuadrática de Lyapunov cuya derivada esta acotada por una forma cuadrática negativa:

$$\frac{d}{dt} V[\zeta_t] = -\eta \zeta_t^T Q \zeta_t \quad (4.98)$$

es decir, el sistema autónomo descrito por (4.95) es asintóticamente estable. Más adelante se desarrollara esta prueba para demostrar la estabilidad del estimador descrito por (4.87-88).

Convergencia

El procedimiento del teorema muestra que la estimación del error $\tilde{\mu}_t = \mu_t - \hat{\mu}_t$ esta acotado con tal que C_1 y C_2 tenga valores positivos. Pero esto no nos da información sobre la precisión de la estimación de μ_t . En este párrafo para un selección ligeramente restringida de C_1 y C_2 , se calcula explícitamente una cota superior de la precisión asintótica de $\tilde{\mu}_t$.

Definiendo que λ_1 y λ_2 son los eigenvalores de A relacionada (por definición) con

$$C_1 = -(\lambda_1 + \lambda_2) \quad C_2 = \lambda_1 \lambda_2 \quad (4.99)$$

en adelante, se asume que:

A10. El diseño de los parámetros C_1 y C_2 son seleccionados tal que A tenga eigenvalores distintos y reales:

$$\lambda_1 < \lambda_2 < 0 \quad (\text{por ejemplo } C_2 < \frac{\alpha C_1^2}{4}) \quad (4.100)$$

De hecho una selección de interés práctico: si C_1 y C_2 fueran seleccionados tal que los eigenvalores λ_1 y λ_2 fueran oscilaciones independiente de la variación de los parámetros podrían ser inducidos en la estimación.

Teorema 2.2 (Bastin y Dochain, 1986)

Bajo las suposiciones A1 a A10, los errores de X_t y μ_t están asintóticamente acotados como sigue:

$$\limsup_{t \rightarrow \infty} |\tilde{X}_t| = \frac{M_1}{C_2 \eta} = \delta_1 \quad (4.101)$$

$$\limsup_{t \rightarrow \infty} |\tilde{\mu}_t| = \frac{C_1 M_1}{C_2 \eta} = \delta_2 \quad (4.102)$$

Prueba:

Puesto que $X_t(s) > \eta > 0$ para toda s (suposición A9), el siguiente cambio de escala de tiempo:

$$dt = X_s ds \quad (4.103)$$

Permite describir el sistema (4.89), (4.90), (4.91), (4.92), (4.93) como sigue:

$$\frac{d}{dt}x(t) = Ax(t) + B^o(t)u(t) \quad (4.104)$$

con

$$B^o(t) = \frac{1}{x(t)}B(t) = \frac{1}{x(t)} \begin{bmatrix} 0 \\ 1 \end{bmatrix} \quad (4.105)$$

4.10.2. Estabilidad y convergencia: caso con perturbaciones

Para esta situación se asume que las mediciones de X_t en línea tienen la forma

$$X_{t,m} = X_t + \epsilon_{y,t} \quad (4.106)$$

Donde $\epsilon_{y,t}$ perturbaciones de los datos de medición.

Considerando las perturbaciones a la salida del estado, $X_{m,t}$, el algoritmo descrito por (4.87-88) se puede escribir en la siguiente forma

$$\frac{d}{dt}\hat{X}_t = \hat{\mu}_t X_{m,t} - D_t X_{m,t} + C_1 X_{m,t} [X_{m,t} + \hat{X}_t] \quad (4.107)$$

$$\frac{d}{dt}\hat{\mu}_t = C_2 X_{m,t} [X_{m,t} + \hat{X}_t] \quad (4.108)$$

y el error se hace

$$\frac{d}{dt}x(t) = X_{m,t}Ax(t) + B(t)u(t) \quad (4.109)$$

con $x(t)$ y X_t definidas de igual forma que el caso anterior (libre de perturbaciones):

$$x(t) = \begin{bmatrix} \tilde{X}_t & \tilde{\mu}_t \end{bmatrix}^T \quad (4.110)$$

$$A = \begin{bmatrix} -C_1 & 1 \\ -C_2 & 0 \end{bmatrix} \quad (4.111)$$

con $B(t)$ y $u(t)$ como sigue

$$B(t) = \begin{bmatrix} D_t - \mu_t - C_1 X_{m,t} & 0 \\ -C_2 X_{m,t} & 1 \end{bmatrix} \quad (4.112)$$

$$u(t) = \begin{bmatrix} \epsilon_{y,t} \\ \mu_u \end{bmatrix} \quad (4.113)$$

Comentario La demostración del algoritmo para el error (4.109) se da en el apéndice 3.

Ahora se hace necesario introducir dos suposiciones más:

- A11 La medición del ruido $\epsilon_{y,t}$ esta acotada, para todo t : $\|\epsilon_{y,t}\| < M_2$
- A12 $X_{m,t}$ es estrictamente positiva, para todo t : $X_{m,t} > \eta > 0$
- A13 La velocidad de dilución D_t esta acotada, para todo t : $0 < D_t < D_t^{mx}$

La estabilidad y la convergencia se deducen a continuación

Estabilidad

Teorema 2.3 (Bastin y Dochain, 1986)

Bajo las suposiciones A1 a A8, A10 a A13, existen constantes positivas k_0 , k_1 , k_2 tales que el vector de error $x(t)$ es acotado como sigue, para todo t :

$$\|x(t)\| < k_0\|x(0)\| + k_1M_1 + k_2M_2 \quad (4.114)$$

La prueba de estabilidad es similar al **Teorema 2.1**

Convergencia

Teorema 2.4 (B y D, 19986)

Bajo las suposiciones A1 a A8, A10 a A13 el error \tilde{X}_t y $\tilde{\mu}_t$ estan asintóticamente acotados como se muestra a continuación:

$$\limsup_{t \rightarrow \infty} |\tilde{X}_t| \leq \frac{1}{\eta} \left\{ \frac{M_1}{C_2} + \left[\frac{\gamma}{\lambda_1 - \lambda_2} (\beta_1 + \beta_2 C_1) + \beta_3 + \left(1 + \beta_4 C_1 \frac{\gamma}{\lambda_1 - \lambda_2} \right) M_2 \right] M_2 \right\} \quad (4.115)$$

$$\limsup_{t \rightarrow \infty} |\tilde{\mu}_t| \leq \frac{1}{\eta} \left\{ \frac{C_1}{C_2} M_1 + (\beta_5 C_1 M_2 + \beta_6 + \beta_7 C_1) M_2 \right\} \quad (4.116)$$

con

$$\gamma \triangleq \left[\frac{\lambda_2}{\lambda_1} \right]^{\left(\frac{\lambda_1}{\lambda_1 - \lambda_2} \right)} - \left[\frac{\lambda_2}{\lambda_1} \right]^{\left(\frac{\lambda_2}{\lambda_1 - \lambda_2} \right)} \quad (4.117)$$

y $\beta_i (i = 1 \text{ a } 7)$ son constantes positivas independientes del diseño de los parámetros C_1 y C_2 .

Prueba

De manera similar que en el teorema 2.2 y si se considera el siguientes cambio de escala:

$$dt = X_{m,s} ds \quad (4.118)$$

y denotando aqui que:

$$B_1 = \frac{M_2}{\eta} \max \{ D_t^{mx} + \mu_t^{mx} + C_1 (X_{m,t} + M_2) \} \quad (4.119)$$

$$B_2 = \frac{1}{\eta} \{M_1 + C_2 (X_{m,t} + M_2)\} \quad (4.120)$$

$\beta_1 (i = 1 \text{ a } 7)$ pueden ser facilmente calculados de (B.8) y B.9) del apéndice 6

4.11. Estimador 2: Coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $k_L a_t$.

Para el diseño del algoritmo en línea (*on-line*) para estimar el parámetro $k_L a_t$, se considera el sistema compuesto por las ecuaciones de balance (4.44-46), que en conjunto describe la dinámica del biorreactor. La construcción del algoritmo esta basado sobre el hecho de que el consumo y la transferencia de oxígeno disuelto, C_t , en el medio de cultivo están relacionados directamente con las condiciones de operación del biorreactor y la actividad biológica del microorganismo respectivamente.

El balance para el oxígeno en un biorreactor esta dado por la siguiente expresión

$$\frac{d}{dt} C_t = k_L a_t [C^* - C_t] - OUR_t \quad (4.121)$$

donde OUR_t es el término que corresponde a la respiración de las células, es decir, la velocidad de consumo de oxígeno (por sus siglas en inglés).

$$\frac{d}{dt} C_t = k_L a_t [C^* - C_t] - \frac{1}{Y_{O_2}} \mu_t X_t \quad (4.122)$$

se asume que los parámetros C^* y Y_{O_2} son conocidos.

Entonces el $k_L a_t$, puede ser estimado de acuerdo con (3.3-6)

$$\frac{d}{dt} \widehat{C}_t = \widehat{k_L a_t} [C^* - C_t] - OUR_t + C_1 [C_t - \widehat{C}_t] \quad (4.123)$$

$$\frac{d}{dt} \widehat{k_L a_t} = C_2 [C_t - \widehat{C}_t] \quad (4.124)$$

donde las constantes $C_1 [h^{-1}]$ y $C_2 [Lh^{-2}g^{-1}]$ son estrictamente positivas, es decir, $C_1 > 0$ y $C_2 > 0$.

La estimación del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno $k_L a_t$ es derivado de la observación del error $C_t - \widehat{C}_t$. Las mediciones estimadas de \widehat{C}_t se obtienen con la ecuación diferencial (4.123) la cual incluye la estructura no lineal de la ecuación (1.21), (donde el parámetro desconocido $k_L a_t$ ha sido remplazado por su estimador en línea) y el término proporcional para la observación del error $C_t - \widehat{C}_t$.

Estabilidad y convergencia: caso libre de perturbaciones ($\epsilon_{y,t} = 0$)

Si se definen los errores y su derivada en el tiempo como

$$\begin{aligned} \widetilde{C}_t &= C_t - \widehat{C}_t \\ \frac{d}{dt} \widetilde{C}_t &= \frac{d}{dt} C_t - \frac{d}{dt} \widehat{C}_t \end{aligned} \quad (4.125)$$

$$\begin{aligned}\widetilde{k_L a_t} &= k_L a_t - \widehat{k_L a_t} \\ \frac{d}{dt} \widetilde{k_L a_t} &= \frac{d}{dt} k_L a_t - \frac{d}{dt} \widehat{k_L a_t}\end{aligned}\quad (4.126)$$

Las ecuaciones (4.125) y (4.126) se expresan de una forma muy parecida a la ecuación diferencial de estado, ya que el estado del sistema es de primer orden escritas en función de las variables de estado, es decir, la forma matricial de la ecuación.

$$\frac{d}{dt} x(t) = Ax(t) + B(t)u(t) \quad (4.127)$$

Donde las matrices $x(t)$, A , $B(t)$ se definen como:

$$x(t) = \left[\widetilde{X}_t \quad \widetilde{k_L a_t} \right]^T \quad (4.128)$$

$$A = \begin{bmatrix} -C_1 & [C^* - C_t] \\ -C_2 & 0 \end{bmatrix} \quad (4.129)$$

$$B(t) = [0 \quad 1]^T \quad (4.130)$$

el diseño de los parámetros C_1 y C_2 se visualiza al obtener la ecuación característica de la matriz A , $\det(\lambda I - A)$.

$$\det(\lambda I - A) = \det \left[\begin{bmatrix} \lambda & 0 \\ 0 & \lambda \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} -C_1 & [C^* - C_t] \\ -C_2 & 0 \end{bmatrix} \right] \quad (4.131)$$

$$\det(\lambda I - A) = \det \begin{bmatrix} (\lambda + C_1) & [C_t - C^*] \\ C_2 & \lambda \end{bmatrix} \quad (4.132)$$

Y la ecuación característica se obtiene al resolver la ecuación (4.132):

$$\lambda^2 + C_1 \lambda + C_2 [C_t - C^*] = 0 \quad (4.133)$$

Y por lo tanto

$$C_2 = \alpha \frac{C_1^2}{4[C_t - C^*]} \quad (4.134)$$

En (4.134) se tiene que $C_2 = f(C_t)$. Es necesario que la matriz A tenga la forma:

$$A = \begin{bmatrix} -C_1 & 1 \\ -C_2 & 0 \end{bmatrix} \quad (4.135)$$

Por lo cual el sistema de ecuaciones (4.123), (4.124) se puede describir de la forma siguiente:

$$\frac{d}{dt} \widehat{C}_t = \widehat{k_L a_t} [C^* - C_t] - OUR_t + C_1 [C^* - C_t] [C_t - \widehat{C}_t] \quad (4.136)$$

$$\frac{d}{dt} \widehat{k_L a_t} = C_2 [C^* - C_t] [C_t - \widehat{C}_t] \quad (4.137)$$

Con parámetros $C_1 [Lh^{-1}g^{-1}]$ y $C_2 [L^2h^{-2}g^{-2}]$ son estrictamente positivos, es decir, $C_1 > 0$ y $C_2 > 0$. La dinámica del error es:

$$\frac{d}{dt}x(t) = [C^* - C_t] Ax(t) + B(t)u(t) \quad (4.138)$$

Con $x(t)$, $B(t)$ y $u(t)$ iguales que el caso anterior y A como sigue

$$A = \begin{bmatrix} -C_1 & 1 \\ -C_2 & 0 \end{bmatrix} \quad (4.139)$$

ya que se ha logrado que la matriz A sea diagonal desarrollamos $\det(\lambda I - A)$ obteniendo la siguiente ecuación característica que tiene la forma que (4.140):

$$C_2 = \frac{\alpha C_1^2}{4}, \text{ con } 0 < \alpha \leq 1 \quad (4.140)$$

Estabilidad y convergencia: caso con perturbaciones ($\epsilon_{y,t} \neq 0$)

La principal consideración para el diseño del estimador es asumir que:

Las perturbaciones ($\epsilon_{y,t}$) durante el proceso de medición de oxígeno disuelto el medio de cultivo están disponibles en línea con C_t . Con C_t definida como

$$C_{m,t} = C_t + \epsilon_{y,t} \quad (4.141)$$

Entonces el $k_L a_t$ puede ser estimado con

$$\frac{d}{dt}\widehat{C}_t = \widehat{k_L a_t} [C^* - C_{m,t}] - OUR_t + C_1 [C^* - C_{m,t}] [C_{m,t} - \widehat{C}_t] \quad (4.142)$$

$$\frac{d}{dt}\widehat{k_L a_t} = C_2 [C^* - C_{m,t}] [C_{m,t} - \widehat{C}_t] \quad (4.143)$$

Donde \widehat{C}_t y $\widehat{k_L a_t}$ son estimados de C_t y $k_L a_t$ y C_1 y C_2 son dos constantes positivas ($C_1 > 0$, $C_2 > 0$).

los errores se definen de igual forma que (4.125) y (4.126), y el siguiente sistema del error puede ser deducido de (4.141), (4.142), (4.48):

$$\frac{d}{dt}x(t) = [C^* - C_t] Ax(t) + B(t)u(t) \quad (4.144)$$

con

$$x(t) = \begin{bmatrix} \widetilde{C}_t & \widetilde{k_L a_t} \end{bmatrix}^T \quad (4.145)$$

$$A = \begin{bmatrix} -C_1 & 1 \\ -C_2 & 0 \end{bmatrix} \quad (4.146)$$

$$B(t) = \begin{bmatrix} k_L a_t - C_1 [C^* - C_{m,t}] & 0 \\ -C_2 [C^* - C_{m,t}] & 1 \end{bmatrix} \quad (4.147)$$

$$u(t) = \begin{bmatrix} \epsilon_{y,t} \\ \bullet \\ k_L a_t \end{bmatrix} \quad (4.148)$$

La demostración matemática del sistema (4.144) se muestra en el apéndice 2.

Para probar la estabilidad de los algoritmos (4.138) y (4.144) se utilizó el concepto de estabilidad de Lyapunov.

4.11.1. Prueba de estabilidad del estimador de $k_L a_t$

La prueba de estabilidad para el estimador de $k_L a_t$ se presenta a continuación. Para una mejor comprensión de la metodología utilizada para la demostración de la estabilidad del estimador propuesto, en el apéndice 9 se presenta la teoría de Lyapunov específicamente cuando se trabaja sobre sistemas autónomos.

Para probar la estabilidad del sistema

$$\frac{d}{dt}x(t) = [C^* - C_t] Ax(t) + B(t)u(t) \quad (4.149)$$

se consideró que el sistema es autónomo, es decir, en (4.149) $u(t) = 0$, entonces el sistema (4.149) tiene la forma siguiente

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}x(t) &= [C^* - C_t] Ax(t) \\ \dot{x}(t) &= [C^* - C_t] Ax(t) \\ \dot{x}(t) &= \eta Ax(t) \end{aligned} \quad (4.150)$$

con $\eta = [C^* - C_t]$ y aplicamos el criterio de Lyapunov para la función $V[x]$ candidata definida como una función cuadrática de la forma:

$$V[x] = x(t)^T Px(t) \quad (4.151)$$

donde $x = \begin{bmatrix} \tilde{C}_t \\ \widetilde{k_L a_t} \end{bmatrix}^T$, es decir, la dinámica del error del estimador.

Probando la función candidata descrita por (4.151)

$$\begin{aligned} \dot{V}[x(t)] &= \dot{x}^T Px + x^T(t) P \dot{x} \\ &= \dot{x}(t)^T (t) Px(t) + x(t)^T P \dot{x}(t) \\ &= [\eta Ax(t)]^T Px(t) + x(t)^T P \eta Ax(t) \\ &= [(\eta A)x(t)]^T Px(t) + x(t)^T P \eta Ax(t) \\ &= \eta x(t)^T [A^T P + PA] x(t) \\ &= -\eta x(t)^T Qx(t) \end{aligned} \quad (4.152)$$

con

$$A^T P + PA = -Q$$

Nota: la solución de $A^T P + PA = -Q$ se presenta en el apéndice 7 con η positiva ($\eta > 0$); $\eta = [C^* - C_t]$ entonces

$$\dot{V}[x] = -[C^* - C_t] x(t)^T Qx(t) \quad (4.153)$$

o

$$\dot{V} \begin{bmatrix} \tilde{C}_t \\ \widetilde{k_L a_t} \end{bmatrix} = -\eta [C^* - C_t] \begin{bmatrix} \tilde{C}_t \\ \widetilde{k_L a_t} \end{bmatrix} [A^T P + PA] \begin{bmatrix} \tilde{C}_t \\ \widetilde{k_L a_t} \end{bmatrix}$$

Por tanto la función de Lyapunov candidata descrita por (4.151) cumple con las propiedades:

$$V[x] > 0 \quad (4.154)$$

$$\dot{V}[x] < 0 \quad (4.155)$$

y se concluye que el estimador de $k_L a_t$ propuesto (descrito por (4.136-137) es asintóticamente estable. Un procedimiento semejante de prueba para la estabilidad del sistema descrito por (4.142-143) también cumple con las propiedades descritas en (4.168-169). Además, la estabilidad y la controlabilidad para biorreactores en modo de operación en lote, también se puede utilizar el criterio de Lyapunov para probar la estabilidad del sistema este se puede revisar en Srinivasan y col. [58].

4.12. Solución de los algoritmos

Los algoritmos utilizados en el diseño del estimador se resolvieron en la plataforma de Simulink de MATLAB. Los bloques de simulación para los algoritmos fueron de la forma de esquemas de bloques como el que se muestran en la Figura 4-8.

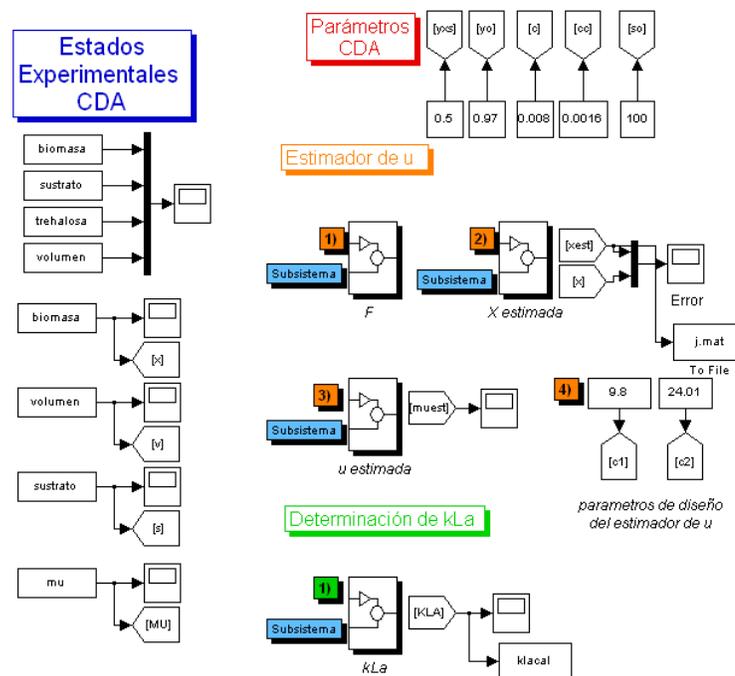


Figura 4-8: Diagrama en Simulink para simular μ_t^{Exp} y $k_L a_t^{Exp}$

En cada subsistema se almacena la información de diseño para cada operación requerida de la estructura de los algoritmos utilizados.

Capítulo 5

Resultados y Discusión

5.1. Introducción

En este capítulo se presentan los resultados y la discusión obtenidos después de haber aplicado el *software sensor* desarrollado a datos experimentales. El diseño del *software sensor* se realizó por medio de la combinación de algoritmos matemáticos (sistemas no lineales): Redes Neuronales Diferenciales (RND) identificador y observador de estados basados en RND, estimadores no lineales para la velocidad específica de crecimiento, μ_t , y para el coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $k_L a_t$. Los datos experimentales utilizados, fueron obtenidos de cultivos aerobios para *Saccharomices cerevisiae* y *Azotovacter vinelandii* en sistemas de cultivos reactor lote alimentado y lote respectivamente.

El capítulo esta organizado como sigue: los algoritmos utilizados para estimar el parámetro $k_L a_t$ fueron validados primero para los cultivos en reactor lote alimentado (corridas experimentales identificadas como **CDA**, **CDA-1** y **CDA-2**), posteriormente la validación se realizó para el cultivo en reactor lote (corrida experimental identificada como **CDA-IBT**).

Los algoritmos (estimadores y la RND) se diseñaron en su estructura para su mejor desempeño, a través de un proceso de selección de valores en sus parámetros, es decir, para cada diseño en los parámetros es una nueva selección de valores de estos y no se refiere a un cambio en la estructura de los algoritmos.

5.2. Datos experimentales: Base de datos

En la Tabla 5.1 se resumen las corridas experimentales que se utilizaron para estimar el $k_L a_t$.

Tabla 5.1: Datos experimentales (Base de datos) de estados disponibles.

Fermentación	Estados Experimentales	Reactor
CDA, CDA-1, CDA-2	$X_t^{Exp}, S_t^{Exp}, V_t^{Exp}, C_t^{Exp}$	Fed-batch
CDA-IBT	$X_t^{Exp}, S_t^{Exp}, V_t^{Exp}, C_t^{Exp}, OTR_t^{Exp}, OUR_t^{Exp}$	Batch

La base de datos experimentales de la Tabla 5.1 se integró por datos experimentales para cultivos sumergidos; proporcionados por los doctores Juan S. Aranda Barradas (**IPN-UPIBI**) y Carlos Peña Malacara (**IBT-UNAM**), las corridas experimentales **CDA, CDA-1 y CDA-2** y corrida experimental **CDA-IBT** respectivamente. Para cada tipo de cultivo se dispuso de datos obtenidos fuera de línea (X_t^{Exp} y S_t^{Exp} obtenidos experimentalmente) y datos obtenidos en línea ($C_t^{Exp}, OTR_t^{Exp}, OUR_t^{Exp}$ medidos en línea únicamente para la corrida **CDA-IBT**).

Nota: En adelante en este capítulo todos estados X_t^{Exp}, S_t^{Exp} y V_t^{Exp} se refieren a datos que fueron obtenidos durante el proceso de experimentación fuera de línea o *off line* y los estados experimentales $C_t^{Exp}, OTR_t^{Exp}, OUR_t^{Exp}$ obtenidos en línea o *on line*.

Estos estados fueron identificados súper índice *Exp* para indicar que son datos experimentales.

Las características para cada fermentación se presentan en las siguientes tablas:

1. Condiciones iniciales de los cultivos (Tabla 5.2).

Tabla 5.2: Condiciones iniciales de los cultivos

Estado $t = 0$	CDA	CDA-1	CDA-2	CDA-IBT
X_t (gL^{-1})	0,36876	0,35164	0,44828	0,5
S_t (gL^{-1})	10	11,4	10,3	20,07
V_t (gL^{-1})	6	6	6	3

2. Condiciones finales de los cultivos en reactor lote para *S. cerevisiae* y *A. vinelandii* (Tabla 5.3)

Tabla 5.3: Condiciones finales de los cultivos: reactor lote

Estado	CDA	CDA-1	CDA-2	CDA-IBT
$t =$	10 h	6 h	11 h	63 h
X_t (gL^{-1})	4,5182	3,1943	2,1108	4,17
S_t (gL^{-1})	0,141	0,179	0,011	4,9365
V_t (L)	6,9661	6,5953	6,011	3

3. Condiciones finales de los cultivos reactor lote alimentado para *S. cerevisiae* (Tabla 5.4).

Tabla 5.4: Condiciones finales de los cultivos: reactor lote alimentado

Estado	CDA	CDA-1	CDA-2
$t =$	26 h	24 h	27 h
X_t (gL^{-1})	14,263	13,457	9,5947
S_t (gL^{-1})	0	0,024	0,54
V_t (L)	13,324	12,816	12,501

5.3. APLICACIÓN DEL SOFTWARE SENSOR A DATOS EXPERIMENTALES 71

En la Tabla 5.5 se presenta la descripción de estados y parámetros que se usaron para reportar los resultados en este trabajo

Tabla 5.5. Marcadores para la evolución de estados y parámetros en las figuras

Descripción		
Parámetros		
Velocidad específica de crecimiento experimental	μ_t^{Exp}	
Velocidad específica de crecimiento experimental estimada	$\widehat{\mu}_t^{Exp}$	y1
Coefficiente volumétrico de transferencia de masa experimental	$k_L a_t^{Exp}$	y2
Coefficiente volumétrico de transferencia de masa estimado	$\widehat{k}_L a_t^{Obs}$	y3
Estados		
Biomasa experimental	X_t^{Exp}	y4
Biomasa experimental estimada	\widehat{X}_t^{Exp}	y5
Biomasa experimental observada	X_t^{Obs}	y6
Biomasa experimental observada estimada	\widehat{X}_t^{Obs}	y7

5.2.1. Coeficientes de rendimiento de masa

Los coeficientes de rendimiento se asume que son independientes del tiempo, en se reportan valores típicos de estos coeficientes. En la Tabla 5.6. se muestran valores para coeficientes de rendimiento para masa y energía.

Tipo de coeficiente de rendimiento	Dimensión	Valor
$Y_{\frac{X}{S}}$ Metabolismo aerobio	$\frac{C-mol}{C-mol}$	0.4-0.7
$Y_{\frac{X}{S}}$ Metabolismo anaerobio	$\frac{C-mol}{C-mol}$	0.1-0.2
$Y_{\frac{X}{O_2}}$ (Glucosa)	$\frac{C-mol}{mol}$	1-2
$Y_{\frac{Q}{O_2}}$	$\frac{KJ}{mol}$	0.35

5.3. Aplicación del software sensor a datos experimentales

Los algoritmos matemáticos diseñados en el capítulo 4: Identificador de estados (**RND**), observador de estados o Neuro-Observador (**NOD**), estimador para la velocidad específica de crecimiento, μ_t , y el estimador para el coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $k_L a_t$, fueron utilizados para diseñar el *software sensor* y, los algoritmos que se aplicó a cada una de las corridas experimentales de acuerdo al siguiente esquema de trabajo.

Nota: En el diseño del estimador (*software sensor*) los diferentes algoritmos matemáticos evolucionan en el tiempo de forma acoplada, sin embargo, para facilitar el entendimiento en la estructura del *software sensor* en este trabajo, a continuación se especifica la estrategia de trabajo desarrollada al aplicar el estimador a los datos experimentales.

1. Identificación de los datos experimentales con la **RND**: Los estados experimentales fueron identificados con la **RND** descrita por (4.14). El objetivo principal al identificar los estados fue establecer los valores de las matrices $\overset{*}{W}_1$ y $\overset{*}{W}_2$ para la ley de aprendizaje en la estructura de la ley de aprendizaje del **NOD**.
2. Observación de los estados que no pueden ser medidos en línea (biomasa, X_t , y substrato, S_t , principalmente) se estimaron utilizando el **NOD**: A partir de la evolución del oxígeno disuelto en el medio de cultivo, C_t^{Exp} , (estado disponible en línea) se observaron el resto de los estados (X_t^{Obs} , S_t^{Obs} , V_t^{Obs} , C_t^{Obs}) del sistema, utilizando el **NOD** descrito por (4.27). En adelante los estados observados con el **NOD** son identificados con el súper índice Obs .
3. Estimación de la velocidad específica de crecimiento experimental, $\widehat{\mu}_t^{Exp}$: Esta se estimó al aplicar el algoritmo de estimación descrito por (4.87-88) utilizando los datos experimentales para biomasa, X_t^{Exp} . La evolución de $\widehat{\mu}_t^{Exp}$ se tomo como la señal de referencia o *set point* durante el proceso de estimación de $\widehat{\mu}_t^{Obs}$.
4. Estimación del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno aparente o experimental, $k_L a_t^{Exp}$: Esta evolución se calculó para las fermentaciones para *S. cerevisiae*, donde se asumió un estado pseudo - estable. La dinámica de $k_L a_t^{Exp}$ se tomo como referencia o *set point* durante el proceso de validación del algoritmo de estimación para estimación de $\widehat{k_L a_t^{Obs}}$ descrito por (4.123) y (4.124). Para el cultivo de *A. vinelandii* no se requirió estimar el $k_L a_t^{Exp}$ debido a que se dispuso de OTR_t^{Exp} y OUR_t^{Exp} para toda la evolución del cultivo.
5. Estimación de la velocidad específica de crecimiento observada, $\widehat{\mu}_t^{Obs}$: Esta velocidad se estimó al aplicar algoritmo de estimación descrito por (4.87) y (4.88) y utilizando la biomasa observada, X_t^{Obs} .
6. Estimación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $\widehat{k_L a_t^{Obs}}$: El parámetro $\widehat{k_L a_t^{Obs}}$ se estimó utilizando el algoritmo descrito por (4.123) y (4.124) utilizando $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ y X_t^{Obs} .

La interacción de los pasos 1 a 6 se puede visualizar en la Figura 4-2

5.4. Diseño de la red neuronal diferencial

En el proceso de seguimiento de trayectoria de los estados experimentales (identificación de estados) para cada una de las corridas experimentales de fermentación, la **RND** fue diseñada en sus parámetros por medio de un procedimiento de ensayo y error. El diseño de los parámetros óptimo fue el siguiente.

5.5. DISEÑO DE LOS PARÁMETROS DEL NEURO-OBSERVADOR DIFERENCIAL 73

Para la **RND** como identificador después del proceso de entrenamiento se propuso la matriz A

$$A = \begin{bmatrix} -10,2 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -82 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -168 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -92,3 \end{bmatrix} \quad \text{o } A = \text{diag} [-10,2 \quad -82 \quad -168 \quad -92,3]$$

Dado que los pesos de la red neuronal, son ajustados mediante dos ecuaciones diferenciales, es muy importante establecer de manera adecuada sus componentes. Como se ha mencionado previamente, la adaptación de la red se ve altamente influenciada por la selección correcta de la solución de la ecuación de Riccati (4.15)

Y con los valores anteriores se resolvió la ecuación de Riccati (4.15)

$$P = \text{diag} [24 \quad 32 \quad 65 \quad 53]$$

Para las funciones sigmoideas (4.11) y (4.12) se muestran en la Tabla 5.5

Tabla 5.5 Parámetros en las funciones sigmoideas en la RND		
Fermentación	$\sigma(x)$	$\phi(x)$
CDA, CDA-1, CDA-IBT	$\frac{2}{1+e^{-0,2x}} - 0,5$	$\frac{2}{1+e^{-0,2x}} - 0,5$
CDA-2	$\frac{2}{1+e^{-0,2x}} - 0,5$	$\frac{2}{1+e^{-0,2x}} - 0,05$

Así mismo el proceso de adaptación de la red depende de la elección de las constantes K_1 y K_2 y de las condiciones iniciales bajo las cuales se establecerá la solución numérica de estas descripciones matemáticas. Las matrices iniciales seleccionadas fueron las siguientes:

Las condiciones iniciales en la ley de aprendizaje descrita por (4.16-17).

$$W_{1,t=0} = \begin{bmatrix} 4,54 & 5,34 & 5,40 & 2,50 \\ 5,60 & 2,34 & 4,34 & 3,50 \\ 3,40 & 5,40 & 4,50 & 4,60 \\ 2,30 & 4,60 & 5,50 & 2,80 \end{bmatrix} \quad W_{2,t=0} = \begin{bmatrix} 4,54 & 5,34 & 1,40 & 2,50 \\ 5,60 & 2,34 & 4,34 & 3,50 \\ 3,40 & 5,40 & 4,50 & 4,60 \\ 2,30 & 4,60 & 1,50 & 2,80 \end{bmatrix}$$

Las ganancias K_1 y K_2 fueron las siguientes

$$K_1 = \text{diag} [300 \quad 300 \quad 300 \quad 300], \quad K_2 = \text{diag} [276 \quad 276 \quad 276 \quad 276]$$

5.5. Diseño de los parámetros del neuro-observador diferencial

Para el procedimiento de observación de los estados en cada fermentación los parámetros utilizados en el **NOD** fueron los siguientes:

Para la matriz A :

Tabla 5.6 Matriz A en el **NOD**

Fermentación	A				
CDA, CDA-1, CDA-2, CDA-IBT	<i>diag</i>	-10,2	82	-168	-92,3

Las funciones sigmoideas definidas por (4.11) y (4.12) para el **NOD**

Tabla 5.7 Parámetros en las funciones sigmoideas en el **NOD**

Fermentación	$\sigma(x)$	$\phi(x)$
CDA, CDA-1, CDA-2	$\frac{2}{1+e^{-0,2x}} - 0,5$	$\frac{2}{1+e^{-0,2x}} - 0,15$
CDA-IBT	$\frac{2}{1+e^{-0,2x}} - 0,45$	$\frac{2}{1+e^{-0,2x}} - 0,15$

Las condiciones iniciales en la ley de aprendizaje definida por (4.28) y(4.29) y los valores de las ganancias K_1 y K_2 fueron las siguientes:

$$W_{1,t=0} = W_{2,t=0} = \begin{bmatrix} 1,3 & 3,4 & 4,5 & 4,5 \\ -3,5 & 4,5 & 2,8 & 5,6 \\ -2,8 & 3,7 & 1,5 & 5,6 \\ -2,8 & 3,7 & 1,5 & 5,6 \end{bmatrix}$$

$$K_1 = \text{diag} [0,1 \quad 0,1 \quad 0,1 \quad 0,1], K_2 = \text{diag} [1,6 \quad 1,6 \quad 1,6 \quad 1,6]$$

5.6. Corrida experimental CDA: Reactor lote alimentado (*S. cerevisiae*)

En esta corrida se presentan los resultados obtenidos, cuando se aplicaron los diferentes algoritmos matemáticos a los datos experimentales. Los algoritmos en conjunto definen la estructura del *software sensor* diseñado. La evolución de los algoritmos en conjunto fueron utilizados para estimar el coeficiente volumétrico de transferencia de masa. El parámetro estimado fue identificado como $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ para la corrida experimental **CDA** y para el resto de las corridas experimentales. Es importante mencionar que la aplicación de cada algoritmo sobre los datos experimentales puede ser considerada como redundante, sin embargo, se realizó con único propósito de apreciar el desempeño de cada algoritmo en el proceso de estimación del parámetro para cada etapa del proceso.

5.6.1. Estados experimentales

La primera corrida experimental utilizada para probar el desempeño de los estimadores (*software sensor*) fue la corrida **CDA**. La evolución de los estados experimentales (biomasa, substrato y volumen experimental, X_t^{Exp} , S_t^{Exp} y V_t^{Exp} respectivamente) se muestran en la Figura 5-1, donde se aprecian los dos tipos reactores (reactor lote y lote alimentado) en la evolución completa de los estados.

5.6. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA: REACTOR LOTE ALIMENTADO (*S. CEREVISIAE*)75

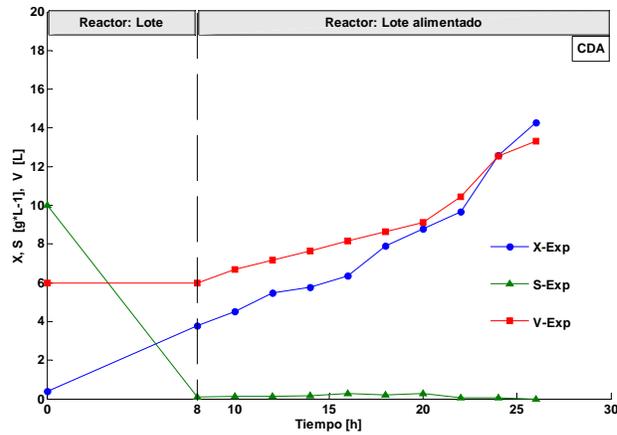


Figura 5-1: Evolución de los datos experimentales CDA.

5.6.2. Dinámica de alimentación al biorreactor

La característica más importante para un cultivo en modo reactor lote alimentado es la dinámica del flujo de alimentación al biorreactor. El flujo de alimentación al biorreactor se muestra en la Figura 5-2.

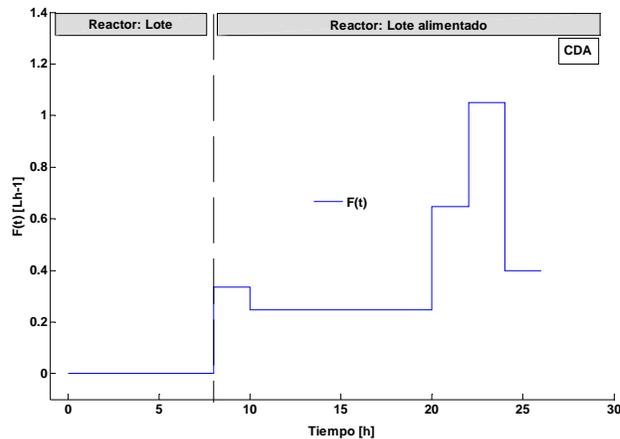


Figura 5-2: Dinámica del flujo de alimentación en el biorreactor para CDA

La dinámica del flujo de alimentación, F_t (Lh^{-1}), fue de forma pulsante al biorreactor; esto se aprecia en la Figura 5-2 y se inició en $t = 8 h$. En este cultivo la dinámica de la velocidad específicamente de crecimiento, μ_t , en el cultivo fue una función de F_t , es decir, $\mu_t = f(F_t)$. Este hecho es muy importante debido a que el proceso de biotransformación fue controlado evitando la acumulación de glucosa en el biorreactor y causar altas concentraciones de sustrato, que inhiben las enzimas responsables del metabolismo respiratorio de la levadura.

5.6.3. Estimación de los parámetros experimentales o teóricos $\hat{\mu}_t^{Exp}$ y $k_L a_t^{Exp}$

Utilizando los datos experimentales se estimó y calculó la velocidad específica de crecimiento experimental, $\hat{\mu}_t^{Exp}$, y el coeficiente volumétrico de transferencia de masa experimental, $k_L a_t^{Exp}$, respectivamente los resultados se muestran a continuación.

Estimación de la Velocidad específica de crecimiento experimental estimada, $\hat{\mu}_t^{Exp}$ y el coeficiente volumétrico de transferencia de masa experimental, $k_L a_t^{Exp}$

La velocidad específica de crecimiento experimental estimada, $\hat{\mu}_t^{Exp}$, se obtuvo al aplicar el estimador para la velocidad específica de crecimiento algoritmo descrito por (4.87) y (4.88) a los datos de biomasa experimental, X_t^{Exp} . Las condiciones iniciales en el estimador fueron $\hat{X}_{t=0} = 0,488 \text{ gL}^{-1}$ y $\hat{\mu}_{t=0} = 0,22 \text{ h}^{-1}$. Es importante hacer notar que la biomasa es la primera variable del proceso, por tanto, determina la dinámica del proceso de cultivo [35]. Dicha estimación se deriva de la observación del error $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$. La consideración más importante hecha para lograr la estimación de $\hat{\mu}_t^{Exp}$, fue suponer que los datos de X_t^{Exp} estaban disponibles en línea, esto es, X_t^{Exp} esta accesible durante todo el cultivo. Esta condición fue resuelta cuando se aplico el **NOD** a los estados experimentales.

5.6.4. Diseño A de los parámetros C_1 y C_2

La estructura del estimador para $\hat{\mu}_t^{Exp}$, algoritmo descrito por (4.87) y (4.88) esta relacionada con los parámetros C_1 y C_2 , los cuales deben de ser diseñados para asegura la convergencia más rápida del error a cero en el estimador. La forma en que son diseñados estos parámetros asegurará el mejor desempeño del estimador. Los parámetros C_1 y C_2 en el algoritmo descrito por (4.87) y (4.88) fueron diseñados de forma adecuada, de tal manera, que la observación del error $(X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp})$ sea muy cercana a cero, es decir, $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp} \simeq 0$. El procedimiento para diseñar C_1 y C_2 se conoce como *entonamiento del estimador*. El diseño de C_1 y C_2 (selección de sus eigenvalores) se realizó de acuerdo a (4.91) y (4.93). En Perrier y col. [46], se menciona que el criterio de diseño de C_1 y C_2 determina la velocidad de convergencia del error a cero del estimador con un reducido sobre paso (overshoot), es decir, el objetivo es rechazar el sobre paso en el proceso de estimación de los parámetros. El diseño de C_1 y C_2 se realizó con un incremento de 0,7 para C_1 . Es importante mencionar que el valor de incremento de C_1 puede ser seleccionado libremente; la selección puede depender del tipo y naturaleza de la aplicación, de las variaciones en el tiempo del parámetro estimado y de el ruido sobre los datos medidos. Los resultados se muestran a continuación.

5.6. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA: REACTOR LOTE ALIMENTADO (*S. CEREVISIAE*)77

Diseño: $C_1 = 0,007 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$ El primer diseño se realizo para $C_1 = 0,007 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$, la referencia utilizada para decidir cuales fueron los valores óptimos en el diseño de los parámetros C_1 y C_2 fue la observación del error entre la biomasa experiemntal y la biomasa estimada, es decir, $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$.

5.6.5. Observación del error $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$

La evolución de los estados biomasa experimental, X_t^{Exp} y biomasa estimada \hat{X}_t^{Exp} se muestra para este caso en la Figura 5-3.

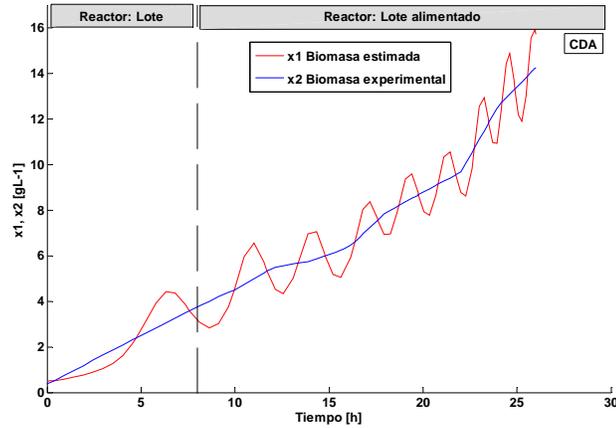


Figura 5-3: **CDA.** Evolución de $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$ con $C_1 = 0,007 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

La evolución de \hat{X}_t^{Exp} con respecto a X_t^{Exp} o **x1** y **x2** respectivamente se muestra la Figura 5-3 claramente se observa el sobre paso de \hat{X}_t^{Exp} comparado con la evolución de X_t^{Exp} . La variación de \hat{X}_t^{Exp} con respecto a X_t^{Exp} se observó determinando la norma del error de \hat{X}_t^{Exp} con respecto a X_t^{Exp} .

5.6.6. Norma del error de \hat{X}_t^{Exp} .

La norma del error para el estado de biomasa experimental estimada, \hat{X}_t^{Exp} , se presenta en la Figura 5-4

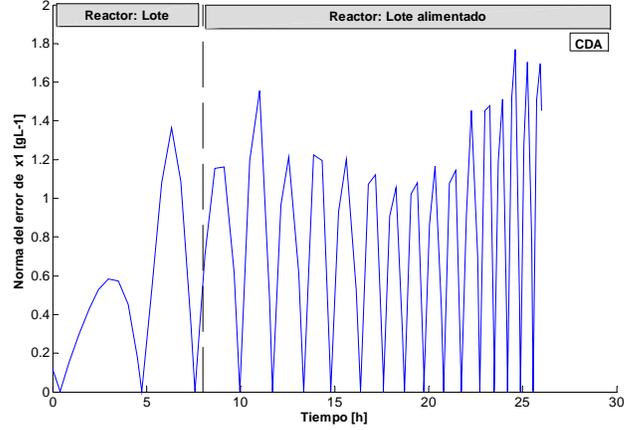


Figura 5-4: CDA. Norma del error de \hat{X}_t^{Exp} con $C_1 = 0,007 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

5.6.7. Evolución de la velocidad específica de crecimiento estimada, $\hat{\mu}_t^{Exp}$.

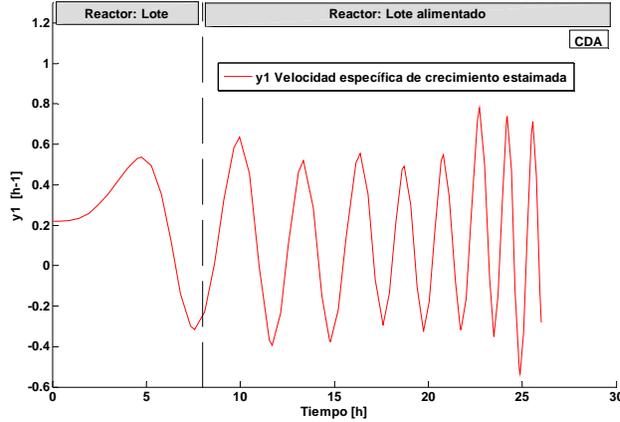


Figura 5-5: CDA. Evolución de μ_t^{Exp} con $C_1 = 0,007 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

5.6.8. Coeficiente volumétrico de transferencia de masa teórico $k_L a_t^{Exp}$.

En la sección(4,6) del capítulo 4 se justificó que los cultivo de *S. cerevisiae* se desarrollaron en estado pseudo estable. La relación utilizada para evaluar la evolución de $k_L a_t^{Exp}$ fue descrito por (4.54) con $Y_{O_2} = 0,97$ [59], $k_L a_{t=0}^{Exp} = 0$ y $C^* = 0,008 \text{ g/L}$ [59], Para los cultivo de *S. cerevisiae* el cultivo se controló para garantizar un 10% de oxígeno disponible en el medio de cultivo, esto se logró durante todo el cultivo aumentado la velocidad de agitación en el biorreactor

5.6. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA: REACTOR LOTE ALIMENTADO (S. CEREVISIAE)79

(control en cascada). En la Figura 5-6 se muestra la evolución del parámetro $k_L a_t^{Exp}$

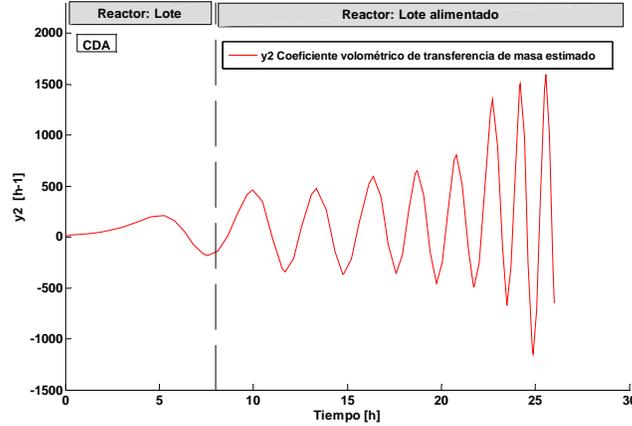


Figura 5-6: CDA. Evolución de $k_L a_t^{Exp}$ con $C_1 = 0,007 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$

Como los valores de C_1 y C_2 para el **Diseño A** no fue suficiente para lograr el mejor desempeño del estimador. Para encontrar un buen desempeño del estimador se continuo diseñando los parámetros C_1 y C_2 .

5.6.9. Diseño B los parámetros C_1 y C_2

Diseño: $C_1 = 0,07 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$

En este nuevo diseño de los parámetros C_1 y C_2 , el criterio que se tomó para decidir el mejor desempeño del estimador fue el mínimo error de $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$.

5.6.10. Observación del error $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$

En la Figura 5.7 se muestra un mejor desempeño del algoritmo de estimación comparado con el **Diseño A**, en $t > 15 h$ la evolución del estimador presenta menor error en comparación con $t < 15 h$.

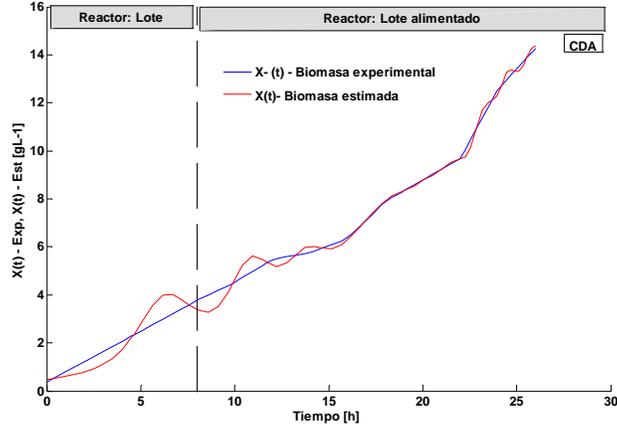


Figura 5-7: CDA. Norma del error de $\hat{X}_t - \hat{X}_t^{Exp}$ con $C_1 = 0,07 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

5.6.11. Norma del error de \hat{X}_t^{Exp} .

La norma del error para el estado de biomasa estimada se presenta en la Figura 5-8, nótese que se conservan las mismas escalas que tiene la Figura 5-4 del **Diseño A**.

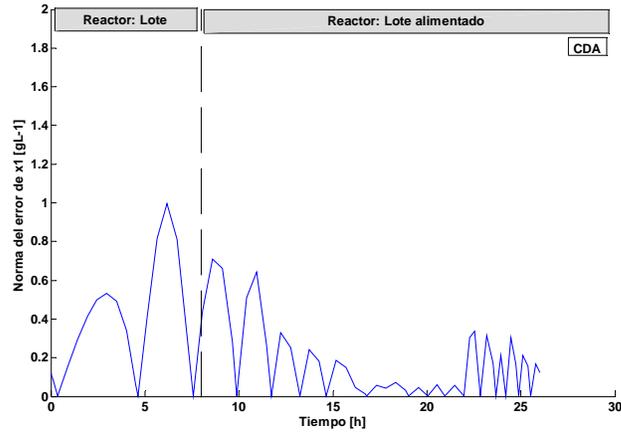


Figura 5-8: CDA. Norma del error de \hat{X}_t^{Exp} con $C_1 = 0,07 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

5.6.12. Evolución de la velocidad específica de crecimiento estimada, $\hat{\mu}_t^{Exp}$.

La evolución de $\hat{\mu}(t)$ obtenida se muestra en la Figura 5-9.

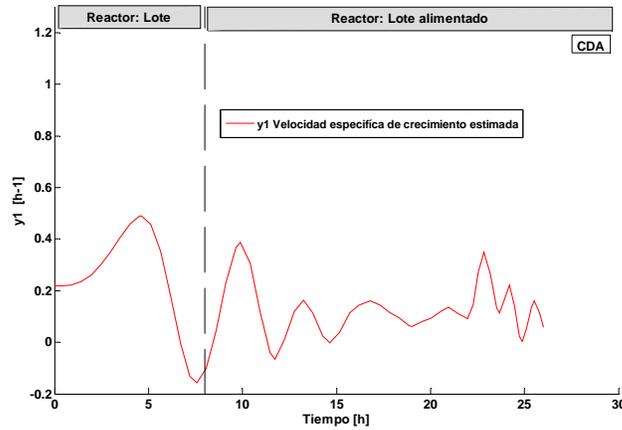


Figura 5-9: CDA. Evolución de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ con $C_1 = 0,07 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$

5.6.13. Coeficiente volumétrico de transferencia de masa teórico $k_L a_t^{Exp}$.

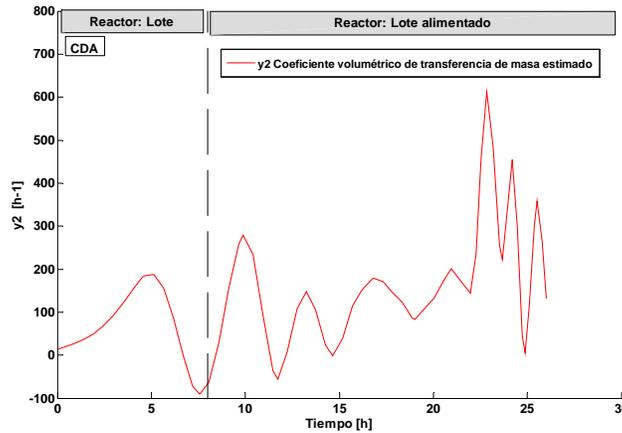


Figura 5-10: CDA. Evolución de $k_L a_t^{Exp}$ con $C_1 = 0,07 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$

La evolución de $k_L a_t^{Exp}$ se presenta en la Figura 5-10.

5.6.14. Selección final de los parámetros C_1 y C_2

Diseño C: $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$

El mejor desempeño para el estimador para la velocidad específica de crecimiento se obtuvo para los valores de $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$ los resultados obtenidos se presentan a continuación.

5.6.15. Observación del error $X_t^{Exp} - \widehat{X}_t^{Exp}$

Como se observa en la Figura 5-11 prácticamente la evolución de \widehat{X}_t^{Exp} es casi igual a X_t^{Exp} , es decir, $X_t^{Exp} - \widehat{X}_t^{Exp} \simeq 0$, se utilizó un marcador para poder distinguir la trayectoria de \widehat{X}_t^{Exp} .

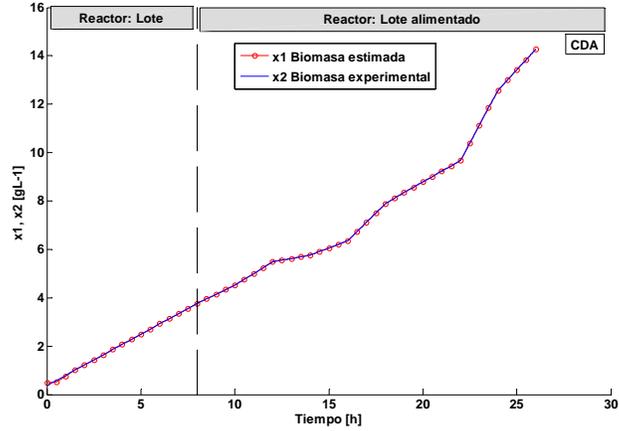


Figura 5-11: CDA. Evolución de $X_t^{Exp} - \widehat{X}_t^{Exp}$ con $C_1 = 7,7 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

5.6.16. Norma del error de \widehat{X}_t^{Exp} .

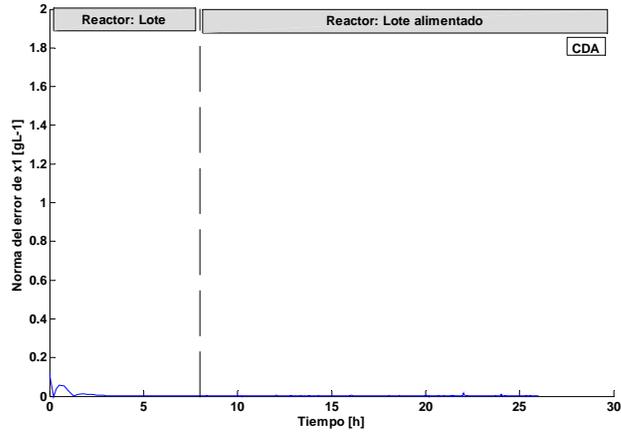


Figura 5-12: CDA. Norma del error de \widehat{X}_t^{Exp} con $C_1 = 7,7 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

La gráfica de la norma del error (Figura 5-12) muestra que el error del estimador para la velocidad específica de crecimiento experimental, $\widehat{\mu}(t)_{Exp}$, converge rápidamente a cero durante las primeras horas, es decir, $X(t)_{Exp} -$

$\hat{X}(t) \simeq 0$, por lo tanto, el desempeño en la convergencia del estimador dependió del diseño apropiado de los parámetros C_1 y C_2 .

5.6.17. Evolución de la velocidad específica de crecimiento estimada, $\hat{\mu}_t^{Exp}$.

La evolución de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ se muestra en la Figura 5-13, este comportamiento de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ se tomó como referencia (*set point*), en la sección donde se muestran los resultados del desempeño del estimador para $k_L a_t$. Además, esta dinámica fue una función del flujo de alimentación, F_t .

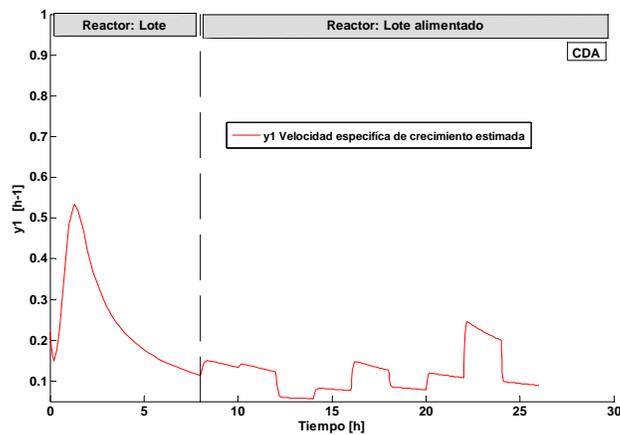


Figura 5-13: CDA. Evolución de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ con $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$

5.6.18. Coeficiente volumétrico de transferencia de masa teórico $k_L a_t^{Exp}$.

Finalmente con la dinámica de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ obtenida fue utilizada para calcular la evolución de $k_L a_t^{Exp}$ la cual se muestra en la Figura 5.14. De igual manera, también se consideró como la dinámica de referencia (*set point*) del parámetro $k_L a_t^{Exp}$. El comportamiento dinámico de $k_L a_t^{Exp}$ está relacionado con la dinámica del sistema de agitación en el biorreactor.

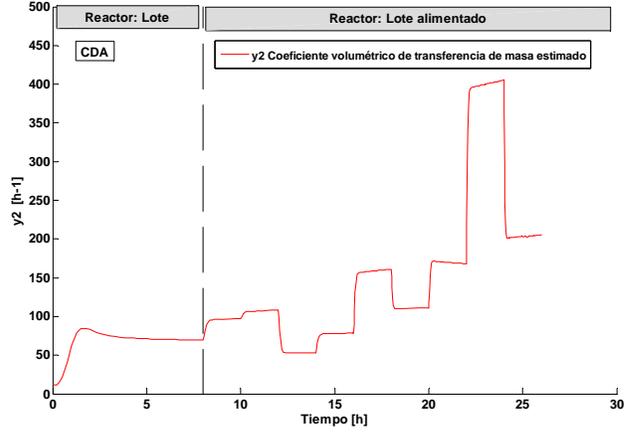


Figura 5-14: **CDA**. Evolución de $k_L a_t^{Exp}$ con $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$

Con respecto a la norma del error para la biomasa estimada no presentaron cambios significativos al continuar incrementado los valores en el proceso de diseño de los parámetros C_1 y C_2 , por ejemplo para $C_1 = 9,8 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 24,01 L^2h^{-2}g^{-2}$, la norma del error para la biomasa estimada se muestra en la Figura 5-15. La observación del error, $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$, esta en $t > 5 h$ con valores entre 0 y $0,02 gL^{-1}$ con respecto a X_t^{Exp} . Por tanto, al no presentarse un desempeño significativo en $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$ para nuevos diseños de los parámetros C_1 y C_2 , se consideró que el mejor desempeño del estimador de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ en base a los resultados obtenidos para $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$.

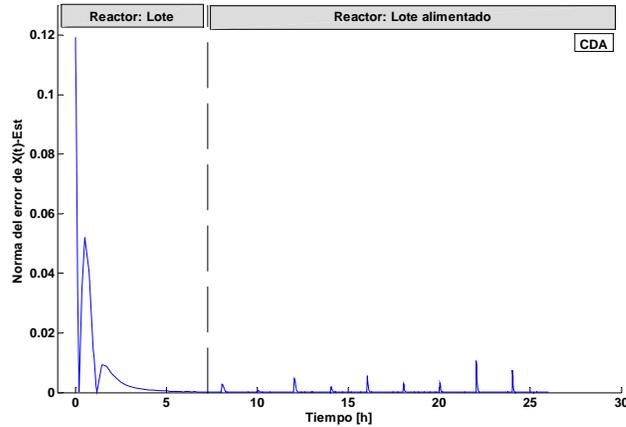


Figura 5-15: **CDA**. Norma del error de \hat{X}_t^{Exp} con $C_1 = 9,8 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 24,01 L^2h^{-2}g^{-2}$

Con los resultados anteriores (las señales de referencia $\hat{\mu}_t^{Exp}$ y $k_L a_t^{Exp}$), se continuo con la observación de los estados experimentales previa identificación (seguimiento de trayectoria) de los mismos.

5.6.19. Estimación de estados experimentales

Una necesidad importante en la estructura del algoritmo diseñado para estimar el parámetro $k_L a_t$, descrito por (4.136-137) fue que se requería disponer en línea de la evolución de la velocidad específica de crecimiento del cultivo, μ_t , y la concentración de biomasa, X_t . Para poder estimar en línea μ_t , primero se requirió de disponer también en línea del estado X_t . Esta situación quedó resuelta al utilizar NOD el cual permitió construir toda la dinámica del proceso de fermentación, es decir, los estados experimentales fueron observados, por tanto estuvieron disponibles en línea con lo cual se logró estimar μ_t y posteriormente el parámetro $k_L a_t$, a partir de los datos observados por NOD. A continuación se muestran estos resultados.

5.6.20. Identificación de estados experimentales

Este procedimiento (adaptación del identificador basado en RND) fue importante, ya que permitió establecer el diseño de los parámetros para el NOD. Para garantizar la convergencia del error de estimación cercana a cero, el proceso de entrenamiento para CDA con RND se llevó a cabo con la finalidad de obtener los parámetros libres del NOD (A , K_1 , K_2) y las matrices W_1^* y W_2^* . La dinámica de los estados fue obtenida usando CDA con las condiciones iniciales del cultivo, cuando se obtuvo un mal desempeño en la convergencia del error, un nuevo arreglo de las matrices propuestas empíricamente fue necesario en la próxima vez y así sucesivamente. Entonces cuando se logró la mejor convergencia del error, entonces la RND emula la dinámica del cultivo.

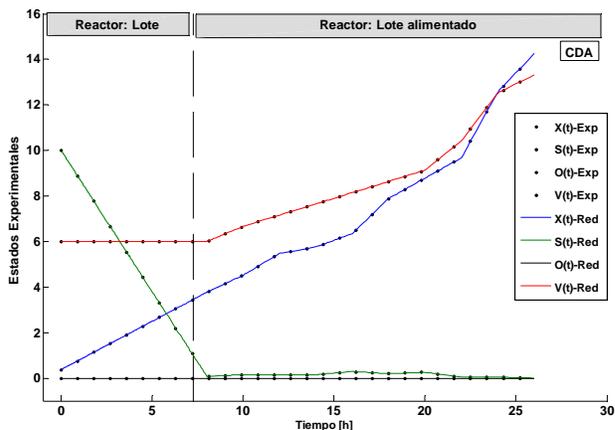


Figura 5-16: CDA. Estados identificados

En la Figura 5-16 se muestra la identificación de los estados experimentales con la RND. Este hecho sirvió para confirmar la correcta selección de los parámetros de la RND. Para reproducir los estados experimentales, la ley de aprendizaje descrita por (4.16-17) se ajustó continuamente en el tiempo.

5.6.21. Dinámica de la ley de aprendizaje

La dinámica de la evolución de los pesos $W_{1,t}$ y $W_{2,t}$ se muestra en las Figuras 5-16 y 5-17 y su dinámica es resultado del ajuste continuo de las leyes de aprendizaje descritas en (4.16-17) durante todo el proceso de identificación.

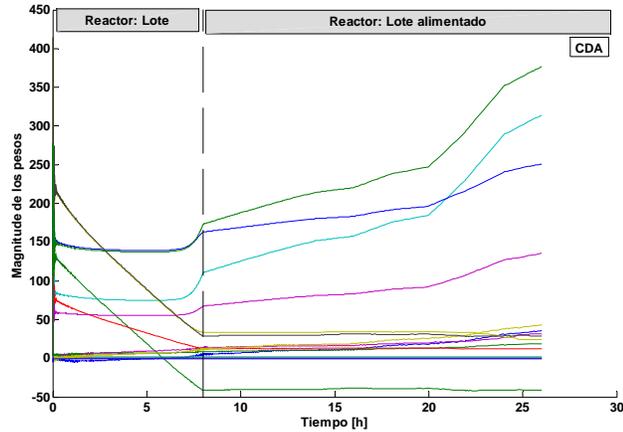


Figura 5-17: **CDA**. Evolución de $W_{1,t}$ identificación de estados

La evolución de los pesos en $W_{1,t}$ (Figura 5-17) corresponde en la estructura de la **RND** como identificador, a la matriz de pesos de la capa de estados de retroalimentación. Y la evolución de los pesos en $W_{2,t}$ (Figura 5-18) es la matriz de pesos de la capa de entrada.

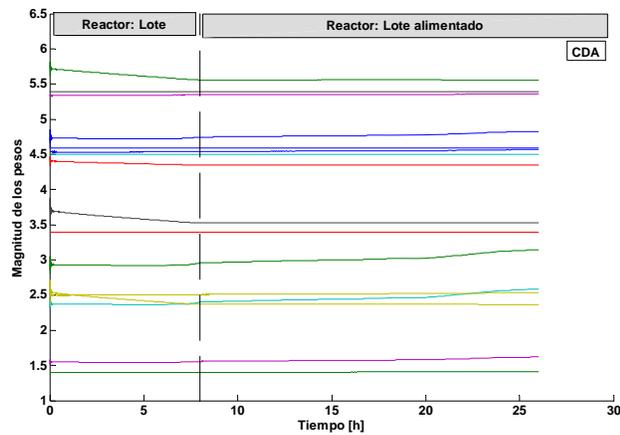


Figura 5-18: **CDA**. Evolución de $W_{2,t}$ identificación de estados

La dinámica de los pesos $W_{1,t}$ y $W_{2,t}$ convergen a sus mejores valores, este hecho se observa en la Figura 5-18 para $W_{2,t}$, es decir, la red se ajustó a sus

mejores valores. Por otro lado la evolución de $W_{1,t}$ se ajusta a sus mejores valores también, sólo que la dinámica de $W_{1,t}$ se reajusta en el tiempo, como se puede ver en la Figura 5-17, para el reactor lote $W_{1,t}$ se ajusta encontrando el mejor valor, pero cuando el cultivo pasa de un reactor lote a lote alimentado, el sistema es perturbado y la dinámica misma del cultivo obliga a que $W_{1,t}$ se este reajustando durante todo el cultivo.

Después de entonar la **RND** descrita por (4.14), la dinámica final de la ley de aprendizaje descrita por (4.16-17) entrego los siguientes resultados para $W_{1,t}$ y $W_{2,t}$:

1. Condiciones finales en $W_{1,t}$

$$W_{1,t} = \begin{bmatrix} 36,7 & -41,16 & 0,22825 & 314,3 \\ 31,93 & 24,13 & -0,04275 & 250,8 \\ 18,99 & 12,41 & 2,229 & 135,4 \\ 43,17 & 29 & -0,8454 & 376,8 \end{bmatrix} \quad (5.1)$$

2. Condiciones finales en $W_{2,t}$

$$W_{2,t} = \begin{bmatrix} 4,569 & 5,557 & 3,397 & 2,587 \\ 5,364 & 2,36 & 5,395 & 4,826 \\ 1,413 & 4,347 & 4,498 & 1,62 \\ 2,537 & 3,523 & 4,545 & 3,144 \end{bmatrix} \quad (5.2)$$

Las matrices de pesos finales (5.1) y (5.2) son para la mejor convergencia del error en el proceso de entrenamiento de la **RND**, fueron las utilizadas en la ley de aprendizaje del **NOD** descrita por (4.28-29) como W_1^* y W_2^* , lo anterior se define como

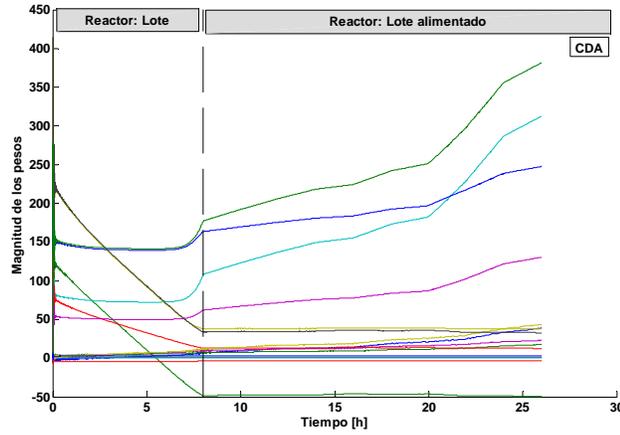
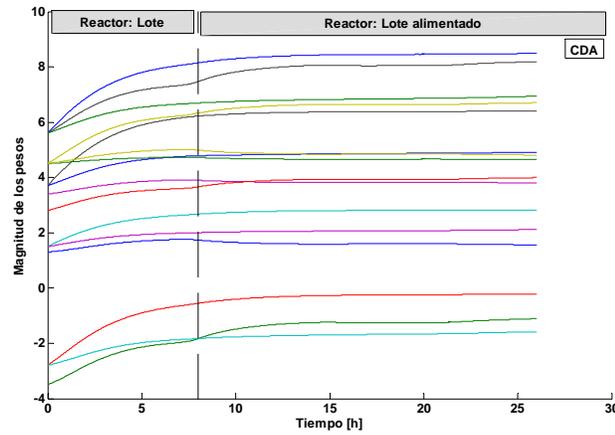
$$W_1^* := W_{1,t} \quad (5.3)$$

$$W_2^* := W_{2,t} \quad (5.4)$$

Los valores de las matrices W_1^* y W_2^* se utilizaron en la estructura de la ley de aprendizaje

5.6.22. Observación de estados experimentales

Los estados no disponibles para ser medidos en línea X_t y S_t , fueron observados con el **NOD** descrita por la única información accesible en línea que fue la concentración de oxígeno disuelto en el medio de cultivo, C_t , es decir, a partir de C_t se reconstruye toda la información del sistema. La evolución de los pesos en la ley de aprendizaje descrita por (4.28-29) se muestra en las Figuras 5.19 y 5.20.

Figura 5-19: CDA. Evolución de $W_{1,t}$ observador de estadosFigura 5.20: CDA. Evolución de $W_{2,t}$ observador de estados

En la estructura del **NOD** se consideró que el único estado disponible en línea fue la concentración de oxígeno disuelto, C_t , en el medio de cultivo; y partir de C_t se reconstruye toda la información del sistema. Los resultados obtenidos se muestran a continuación.

5.6.23. Biomasa observada, X_t^{Obs} .

Los resultados para la observación de la biomasa, X_t^{Obs} , utilizando el **NOD** se compararon con los datos experimentales de biomasa, X_t^{Exp} , esto se muestra en la Figura 5-21. Esta evolución de X_t^{Obs} corresponde al mejor desempeño logrado con el **NOD**. Es importante señalar que el mejor desempeño del observador garantiza un menor error entre la biomasa experimental y la observada,

5.6. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA: REACTOR LOTE ALIMENTADO (*S. CEREVISIAE*)89

$X_t^{Exp} - X_t^{Obs}$. El resto de la observación de los estados se muestra en la Figura 5-22 , 5-23 y 5-24.

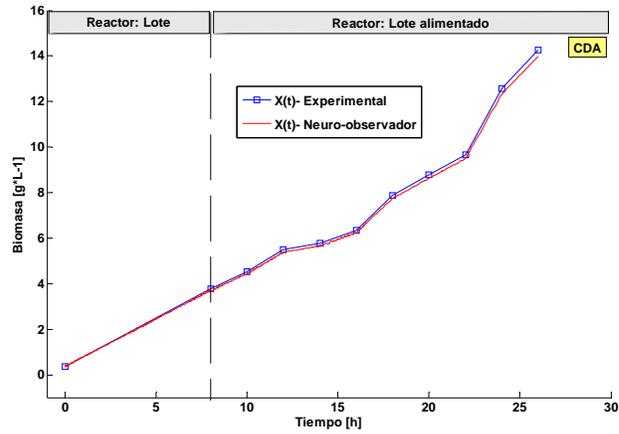


Figura 5-21: CDA: Biomasa observada, X_t^{Obs}

5.6.24. Substrato observado, S_t^{Obs}

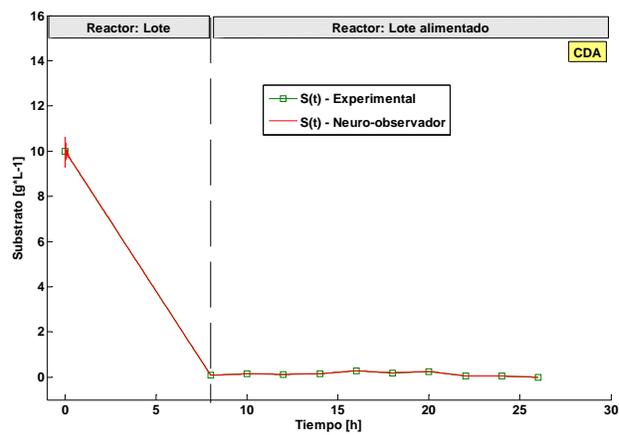
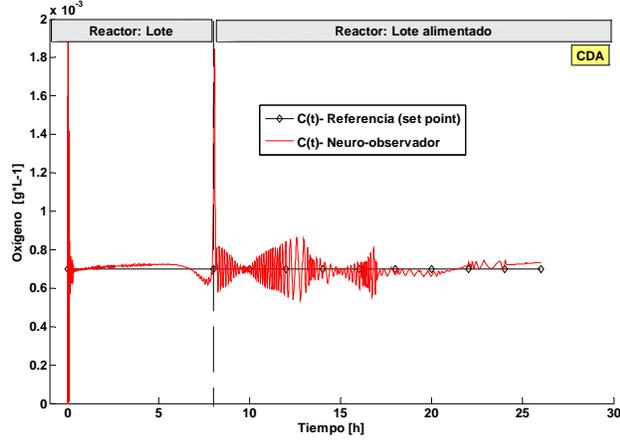
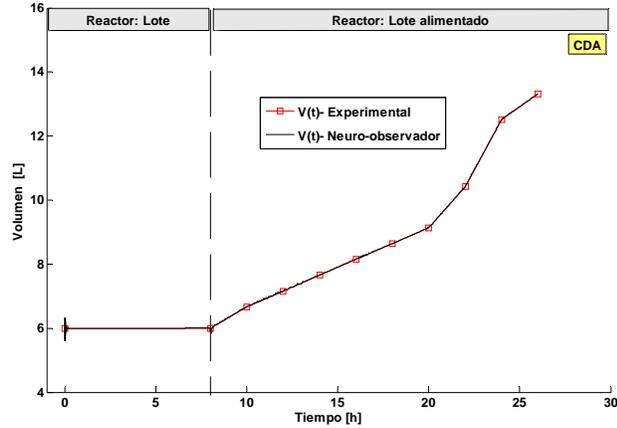


Figura 5-22. CDA: Substrato observado, S_t^{Obs} .

5.6.25. Oxígeno observado, C_t^{Obs} Figura 5.23: CDA. Oxígeno observado, C_t^{Obs} 5.6.26. Volumen observado, V_t^{Obs} Figura 5-24: CDA. volumen observado, V_t^{Obs}

Esta reconstrucción de los estados (observación de estados) utilizando el **NOD**, fue una tarea clave en el proceso de estimación de los parámetros μ_t y $k_L a_t$, es decir, $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ y $\widehat{k_L a_t}^{Obs}$, particularmente la observación de biomasa fue importante en los algoritmos de estimación. Por un lado para la estimación de μ_t se requirió de X_t y por otro lado, en la estimación del parámetro $k_L a_t$ requirió de μ_t como se verá más adelante. Entoces, aplicando el **NOD** todos los estados fueron accesibles en línea. Para este trabajo, de los cuatro estados la biomasa (Figura 5-21), X_t^{Obs} , fueron clave en el diseño de los estimadores y como se vera

cuando se utilizaron los estimadores para cada fermentación. Un menor error entre el estado experimental y observado para biomasa ($X_t^{Exp} - X_t^{Obs}$) permitió un mejor desempeño de los estimadores.

5.6.27. Estimación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa $\widehat{k_L a_t}^{obs}$

El coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $\widehat{k_L a_t}^{obs}$, se estimó utilizando el algoritmo descrito por (4.136-137) y se validó con la evolución de $k_L a_t^{Exp}$, ya que esta evolución fue considerada como la señal de referencia. El procedimiento que se utilizó para estimar el $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ se describe a continuación:

1. **Estimación de la velocidad específica de crecimiento observada, $\widehat{\mu_t}^{Obs}$.** En la estructura del algoritmo (4.136) y (4.137) fue necesario disponer de μ_t , que para este caso se identificó para todos los casos como $\widehat{\mu_t}^{Obs}$, esto fue posible debido a que la biomasa fue reconstruida por el **NOD** y $\widehat{\mu_t}^{Obs}$ se obtuvo utilizando el algoritmo de Dochain (4.87-88) mediante observación del error de $X_t^{Obs} - \widehat{X}_t^{Obs}$, es decir la mejor convergencia del error $X_t^{Obs} - \widehat{X}_t^{Obs}$ a cero.
2. **Estimación del coeficiente volumétrico de transferencia de masa observado.** Se estimó el coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ utilizando el algoritmo (4.136-137) observando la convergencia del error a cero entre $C_t^{Obs} - \widehat{C}_t^{Obs}$, los resultados se muestran a continuación.

5.6.28. Velocidad específica de crecimiento, $\widehat{\mu_t}^{Obs}$.

El procedimiento realizado para estimar $\widehat{\mu_t}^{Obs}$ fue semejante al que se realizó para estimar $\widehat{\mu_t}^{Exp}$, solo que para este paso se minimiza el error de $X_t^{Obs} - \widehat{X}_t^{Obs}$, es decir, se utilizó el estado de biomasa observado, X_t^{Obs} , por el **NOD**.

5.6.29. Diseño de los parámetros C_1 y C_2 : Diseño A

Los parámetros de diseño C_1 y C_2 del sistema fueron seleccionados hasta lograr el mejor desempeño del estimador de $\widehat{\mu_t}^{Obs}$.

Diseño A: $C_1 = 0,7 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

Los resultados obtenidos para este diseño de los parámetros C_1 y C_2 se presentan en el siguiente orden: evolución de $\widehat{\mu_t}^{Obs}$ contra $\widehat{\mu_t}^{Exp}$ (esta última se tomó como referencia o *set point* durante el proceso de estimación), la norma del error de \widehat{X}_t^{Obs} , es decir, X_t^{Obs} contra \widehat{X}_t^{Obs} . Es importante mencionar que el estado estimado \widehat{X}_t^{Obs} fue obtenido con el **NOD** a partir de la observación del error $X_t^{Obs} - \widehat{X}_t^{Obs}$.

En la Figura 5-25 se compara la evolución de $\hat{\mu}_t^{Obs}$ contra $\hat{\mu}_t^{Exp}$. La observación del error $X_t^{Obs} - \hat{X}_t^{Obs}$ se muestra en la Figura 5-26.

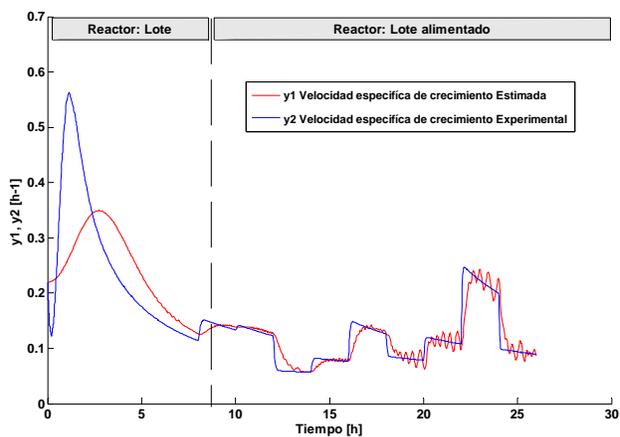


Figura 5-25: CDA. Evolución de $\hat{\mu}_t^{Obs}$ con $C_1 = 0,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$

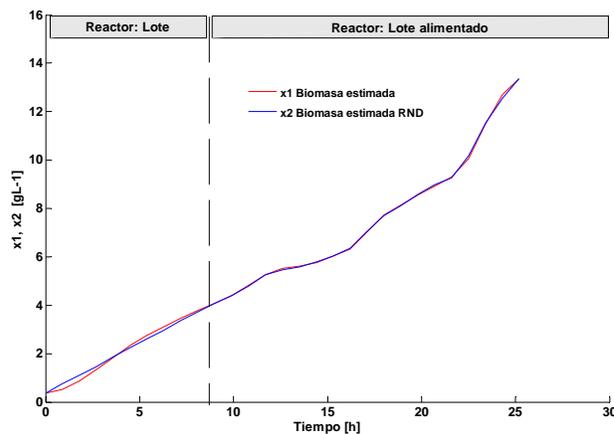


Figura 5-26: CDA. Evolución de \hat{X}_t^{Obs} con $C_1 = 0,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$

5.6. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA: REACTOR LOTE ALIMENTADO (*S. CEREVISIAE*)93

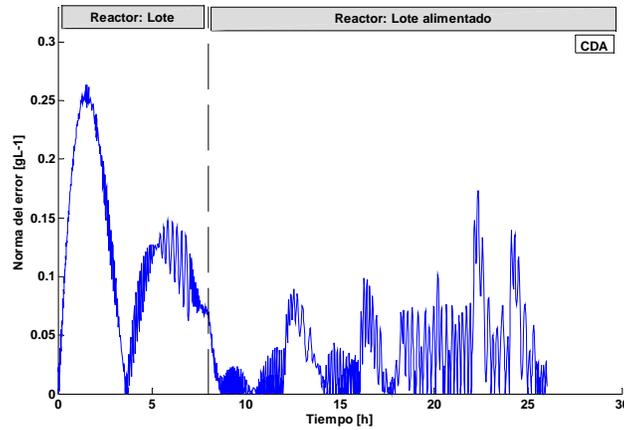


Figura 5-27: CDA. Norma del error de \hat{X}_t^{Obs} con $C_1 = 0,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$

La evolución de la norma del error de \hat{X}_t^{Obs} se muestra en la Figura 5-27. Los resultados anteriores no fueron suficientes en lo referente con el desempeño del estimador (la convergencia del error de estimación cercano a cero) de $\hat{\mu}_t^{Obs}$, para lo cual se diseñaron nuevos valores de los parámetros C_1 y C_2 de acuerdo a la Tabla 5.1.

Tabla 5.1: Diseño de C_1 y C_2

Diseño	C_1	$Lh^{-1}g^{-1}$	C_2	$L^2h^{-2}g^{-2}$	Figura
B	1.4		0.49		5-28
C	2.1		1.1025		5-29
D	2.8		1.96		5-30
E	3.5		3.0625		5-31
F	4.2		4.41		5-32

Los resultados obtenidos para el estimador de $\hat{\mu}_t^{Obs}$ con respecto a los valores de C_1 y C_2 para cada diseño en la Tabla 5.1, se presentan a continuación.

5.6.30. Diseño de los parámetros C_1 y C_2 : Diseño B

Diseño B: $C_1 = 1,4 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 0,49 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

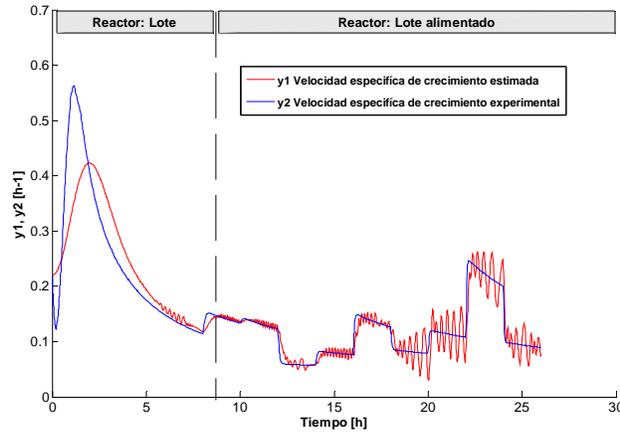


Figura 5-28: CDA. Evolución de $\hat{\mu}_t^{Obs}$ con $C_1 = 1,4 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 0,49 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

5.6.31. Diseño de los parámetros C_1 y C_2 : Diseño C

Diseño C: $C_1 = 2,1 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 1,1025 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

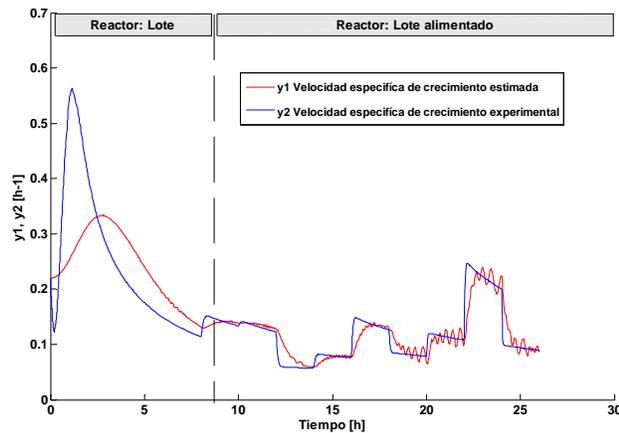


Figura 5-29: CDA. Evolución de $\hat{\mu}_t^{Obs}$ con $C_1 = 2,1 \text{ h}^{-1}$ y $C_2 = 1,1025 \text{ g}^2\text{L}^{-2}\text{h}^{-1}$

5.6.32. Diseño de los parámetros C_1 y C_2 : Diseño D

Diseño D: $C_1 = 2,8 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 1,96 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

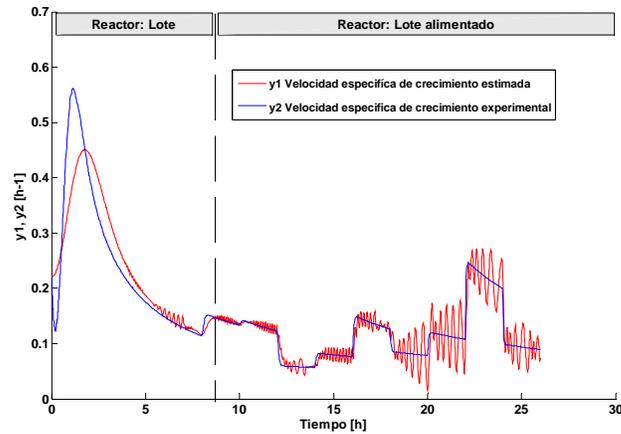


Figura 5-30: CDA. Evolución de $\hat{\mu}_t^{Obs}$ con $C_1 = 2,8 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 1,96 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

5.6.33. Diseño de los parámetros C_1 y C_2 : Diseño E

Diseño E: $C_1 = 3,5 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 3,0625 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

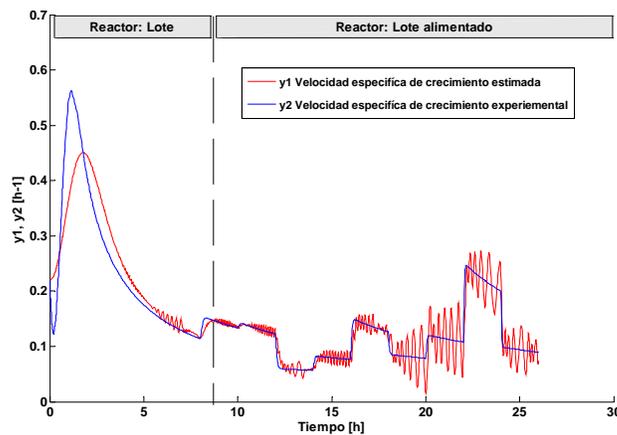


Figura 5-31: CDA. Evolución de $\hat{\mu}_t^{Obs}$ con $C_1 = 3,5 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 3,0625 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

5.6.34. Diseño de los parámetros C_1 y C_2 : Diseño F

Diseño F: $C_1 = 4,2 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 4,41 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

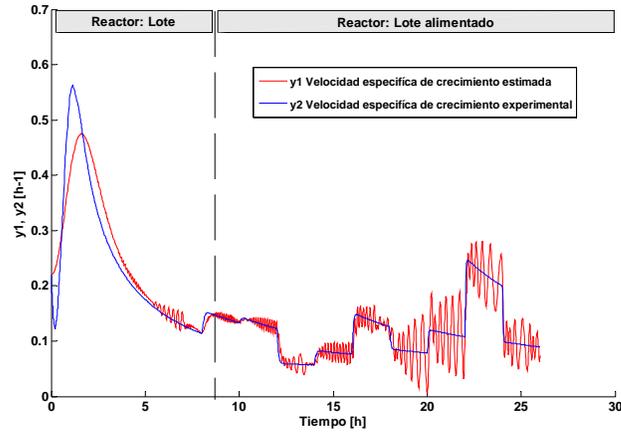


Figura 5-32: CDA. Evolución de $\hat{\mu}_t^{Obs}$ con Diseño F: $C_1 = 4,2 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 4,41 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

En la Figura 5-29 se observó el mejor desempeño del estimador (**Diseño C**) con $C_1 = 2,1 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 1,1025 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$, ya que para estos valores el error promedio relativo absoluto para $\hat{\mu}_t^{Obs}$ contra $\hat{\mu}_t^{Exp}$ es el mínimo. El error promedio relativo absoluto se calculó para cada diseño en los parámetros C_1 y C_2 de la Tabla 5.1, este error se presenta en la Figura 5-33.

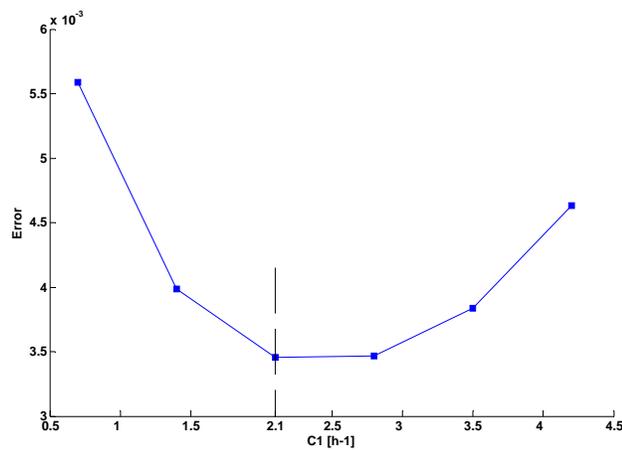


Figura 5-33: CDA. Error relativo absoluto en el diseño de C_1 y C_2

5.6.35. $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ Coeficiente volumétrico de transferencia de masa

Para estimar el coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $\widehat{k_L a_t}^{obs}$, con el algoritmo diseñado y descrito por (4.136-37). La velocidad de convergencia del estimador se logró mediante el diseño apropiado de los parámetros C_1 y C_2 , es decir, el mejor desempeño del estimador se obtiene a través del procedimiento de entonamiento del estimador. C_1 y C_2 . Es importante mencionar que la dinámica de $\widehat{\mu_t}^{Obs}$ que se utilizó para estimar el $\widehat{k_L a_t}^{obs}$, corresponde al mejor desempeño en el proceso de estimación de $\widehat{\mu_t}^{Obs}$.

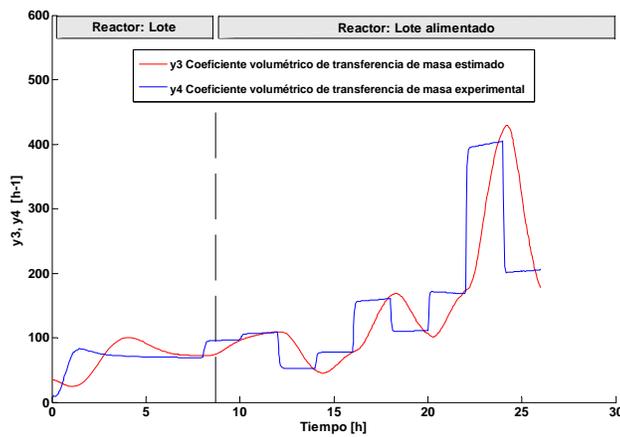


Figura 5-34: CDA. Evolución de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ para $C_1 = 100 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 250 * 10^3 L^2h^{-2}g^{-2}$

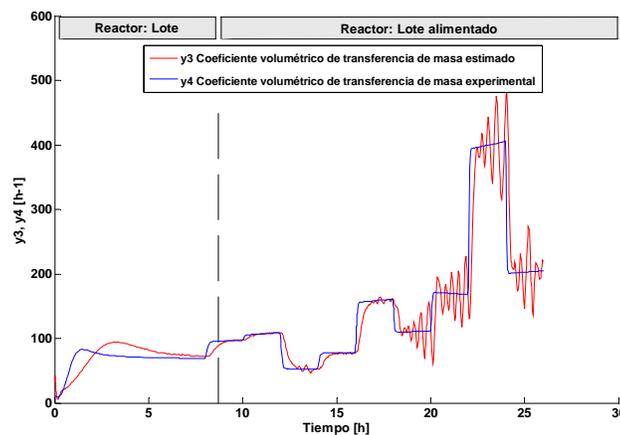


Figura 5-35: CDA. Evolución de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ para $C_1 = 3000 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 2250 * 10^3 L^2h^{-2}g^{-2}$

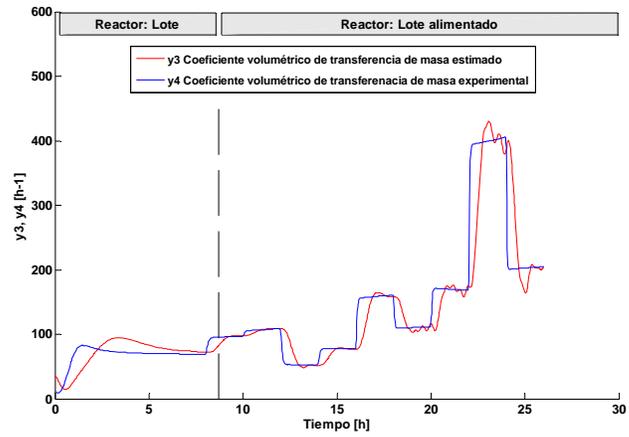


Figura 5-36: CDA. Evolución de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ para $C_1 = 7000 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 12250 * 10^3 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

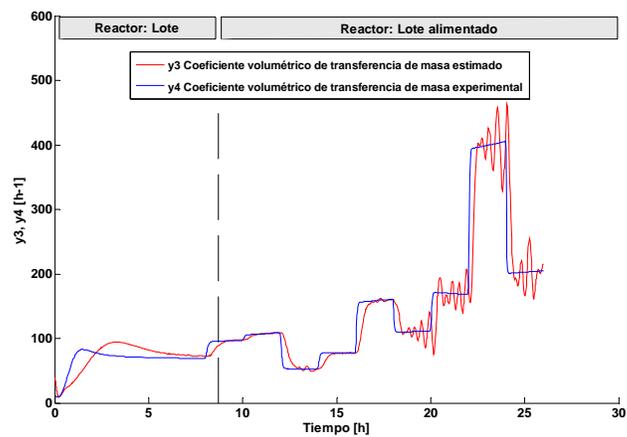


Figura 5-37: CDA. Evolución de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ para $C_1 = 10000 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 25000 * 10^3 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

5.7. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA-1: REACTOR LOTE ALIMENTADO (*S. CEREVICIAE*)99

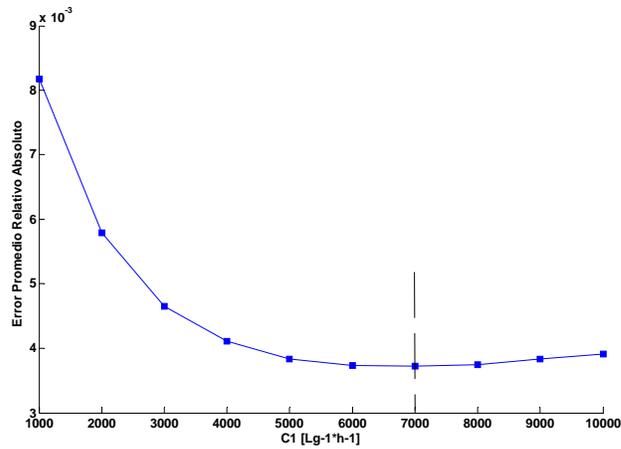


Figura 5-38: CDA. Error relativo absoluto en el diseño de C_1 y C_2

Los resultados obtenidos al comparar los valores para el error relativo absoluto para los diferentes diseños de los parámetros C_1 y C_2 se muestran en la Figura 5.38 se puede ver que el mejor diseño fue para $C_1 = 7000 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 12250 * 10^3 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$.

5.7. Corrida experimental CDA-1: Reactor lote alimentado (*S. cerevisiae*)

Para corrida experimental CDA-1 se aplicó el *software sensor* (algoritmos de estimación) y los resultados fueron los siguientes.

5.7.1. Estados experimentales

Los estados experimentales para la corrida CDA-1 del cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* en un reactor lote alimentado se muestran en la Figura 5-39.

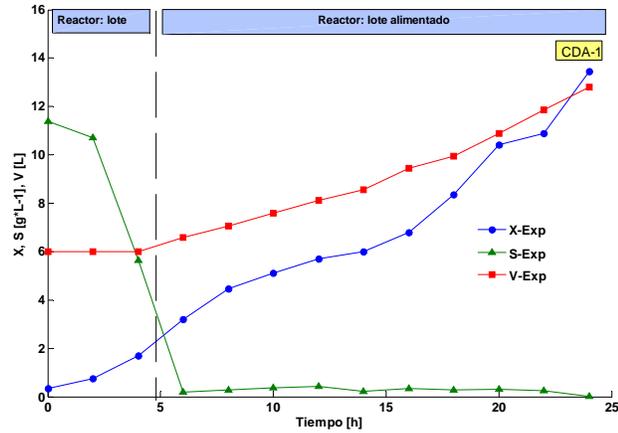


Figura 5-39: CDA-1. Evolución de los datos experimentales

5.7.2. Identificación de estados experimentales: X_t^{Exp} , S_t^{Exp} , V_t^{Exp} y $C_t^{Setpoint}$

Las condiciones iniciales de la **RND** descrita en (4.14) fueron:

$$\hat{x}_{t=0} = [0,35164 \quad 11,3 \quad 0,0007 \quad 6]^T$$

Los estados experimentales (biomasa, substrato, volumen y oxígeno) fueron identificados con la **RND** como lo muestra la Figura 5.40.

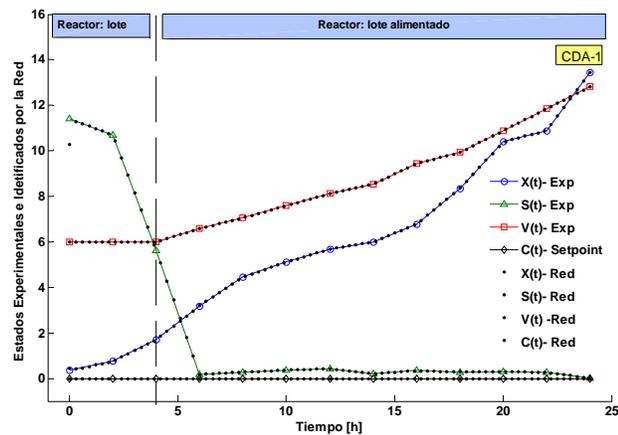


Figura 5-40: CDA-1. Estados experimentales identificados con la **RND**

5.7.3. Evolución de los pesos

La evolución de las leyes de aprendizaje en la estructura de la RND, $W_{1,t}$ y $W_{2,t}$ se muestran en las figuras 4-41 y 4-42

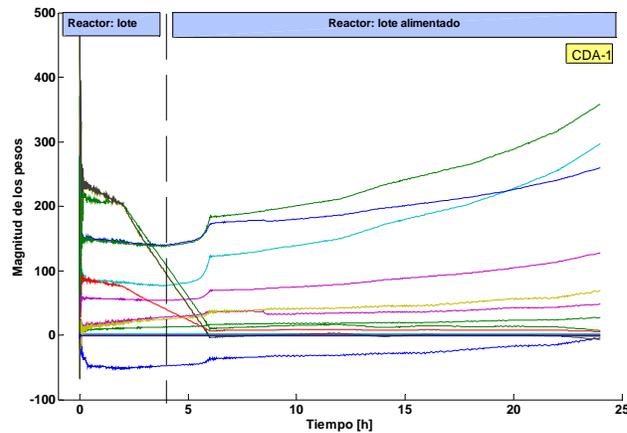


Figura 5-41: CDA-1. Evolución de $W_{1,t}$ en el identificador

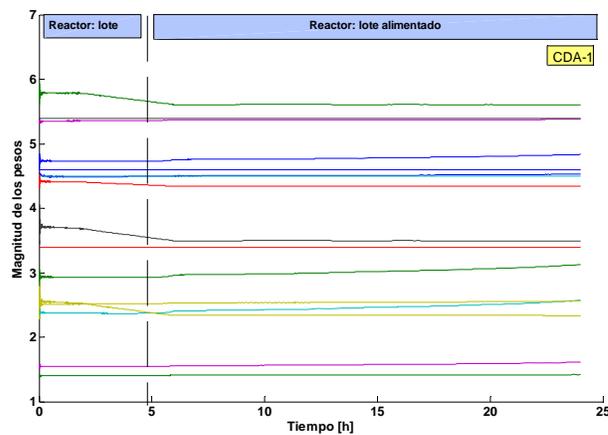


Figura 5-42: CDA-1. Evolución de $W_{2,t}$ en el identificador

5.7.4. Entrenamiento de la RND

Condiciones iniciales

$$\dot{W}_{1,t=0} = \begin{bmatrix} 4,54 & 5,34 & 5,40 & 2,50 \\ 5,60 & 2,34 & 4,34 & 3,50 \\ 3,40 & 5,40 & 4,50 & 4,60 \\ 2,30 & 4,60 & 5,50 & 2,80 \end{bmatrix} \quad \dot{W}_{2,t=0} = \begin{bmatrix} 4,54 & 5,34 & 1,40 & 2,50 \\ 5,60 & 2,34 & 4,34 & 3,50 \\ 3,40 & 5,40 & 4,50 & 4,60 \\ 2,30 & 4,60 & 1,50 & 2,80 \end{bmatrix}$$

5.7.5. Flujo de alimentación al biorreactor

La dinámica del flujo de alimentación al biorreactor se muestra en la Figura 5.43.

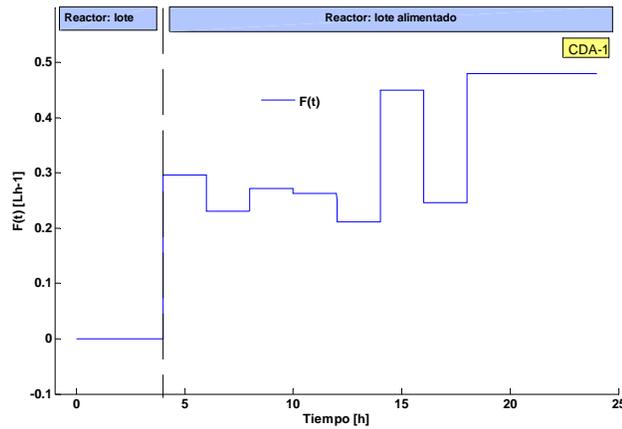


Figura 5-43: CDA-1. Dinámica del flujo de alimentación en el biorreactor

La característica más importante para este cultivo (reactor lote alimentado) es la dinámica de alimentación de sustrato al biorreactor. Ya que la velocidad específica de crecimiento es una función del flujo de alimentación ($F(t)$) al biorreactor. De acuerdo con Aranda, $\mu_t = f(F(t))$. Del balance de masa en estado estable o pseudo-estable para el sustrato (si $S_t \approx 0$ entonces $\frac{dS_t}{dt} \simeq 0$) se encontró que la velocidad específica de crecimiento es [60]:

$$\mu_t = \frac{D_t S_{in} Y_{XS}}{X_t} = \frac{F_t}{V_t X_t} Y_{XS} S_{in} = D_t \frac{S_{in}}{X_t} Y_{XS} \quad (5.5)$$

5.7.6. Velocidad específica de crecimiento experimental

Para esta fermentación se calculó la velocidad específica de crecimiento con los datos experimentales de biomasa, los resultados se muestran en la Figura 5.44.

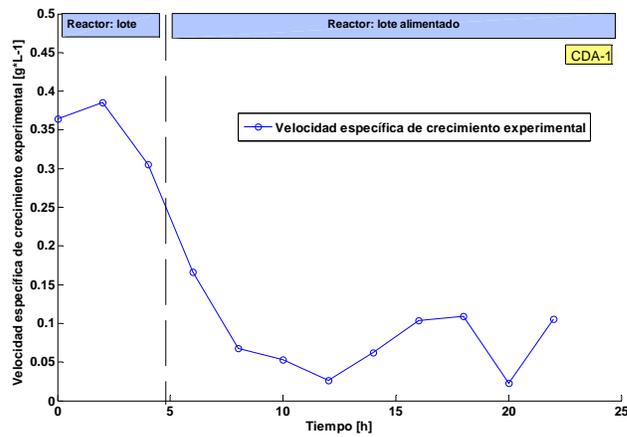
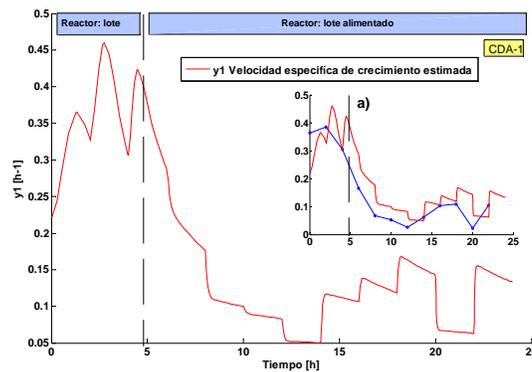


Figura 5-44:CDA-1. Evolución de la velocidad específica de crecimiento calculada

5.7.7. Estimación de la velocidad específica de crecimiento experimental (μ_t^{Exp})

La velocidad específica de crecimiento experimental, μ_t^{Exp} , se estimó observando el error $X_t^{Exp} - \hat{X}_t$. La dinámica de μ_t^{Exp} se observa en la Figura 5.45. Esta evolución se tomó como referencia para el resto de las estimaciones, es decir, μ_t^{Exp} se define como *set point*.

Figura 5-45:CDA-1. Evolución de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ con $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$

En la figura a) de la Figura 5.45 se muestra la evolución de la velocidad específica de crecimiento calculada a partir de los datos experimentales y la evolución de la velocidad específica de crecimiento experimental estimada $\hat{\mu}_t^{Exp}$ (o **y1**), se observa una evolución más precisa para $\hat{\mu}_t^{Exp}$ debido a que la estimación se realizó en línea en comparación con la primera donde sólo se dispone de un número limitado de datos.

5.7.8. Observación del error $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$

La evolución de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ se logró minimizando el error de $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$ por medio del diseño de los parámetros C_1 y C_2 en la estructura del estimador (4.87-88). La observación del error $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$ se muestra en la Figura 5.46.

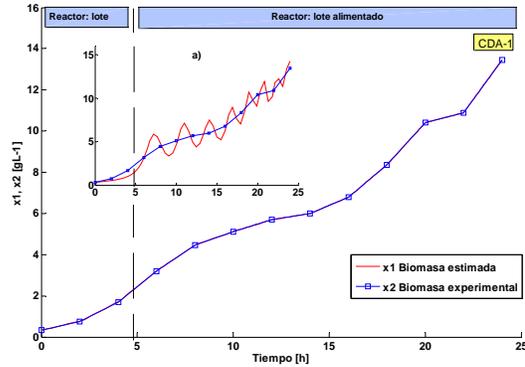


Figura 5-46: **CDA-1**. Evolución de \hat{X}_t^{Exp} con $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$

La evolución de la dinámica del error (biomasa experimental, X_t^{Exp} con respecto a la biomasa estimada, \hat{X}_t) se muestra en la figura a) para una primera aproximación del estimador con $C_1 = 0,07 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 0,1225 L^2h^{-2}g^{-2}$. Finalmente en la figura principal se muestra el mejor desempeño del estimador con $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$. En la Figura 5.47 se observa la norma del error para la biomasa estimada para los dos diseños de los parámetros C_1 y C_2 .

5.7.9. Norma del error de \hat{X}_t^{Exp} .

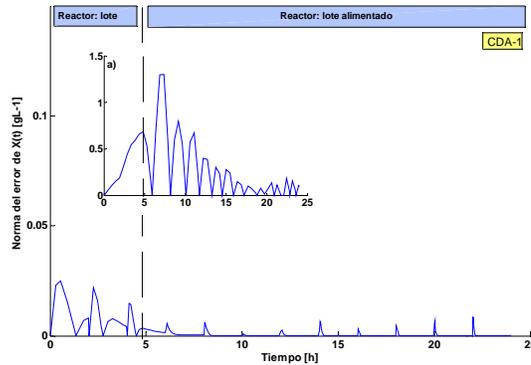


Figura 5-47: **CDA-1**. Norma del error de \hat{X}_t^{Exp} con $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$

Que tan alejados estuvieron los valores de biomasa experimental estimada, \hat{X}_t^{Exp} , de los valores de biomasa X_t^{Exp} al final de la estimación de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ se muestran en la Figura 5.47 y como en el caso anterior una vez que se conoció $\hat{\mu}_t^{Exp}$ se continuó con el cálculo del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno experimental.

5.7.10. Coeficiente volumétrico de transferencia de masa de referencia, $k_L a_t^{Exp}$.

La evolución de $k_L a_t^{Exp}$ calculado se muestra en la Figura 5.48. La evolución de $k_L a_t^{Exp}$ en la etapa de reactor lote este incrementa con la edad del cultivo, y por tanto por el aumento de la población celular en el biorreactor. Durante el cultivo en lote alimentado la dinámica de $k_L a_t^{Exp}$ esta relacionada directamente con la dinámica del flujo de alimentación al biorreactor. Finalmente la evolución de $k_L a_t^{Exp}$ también se consideró como la dinámica de referencia para validar el estimador para el coeficiente volumétrico de transferencia de masa.

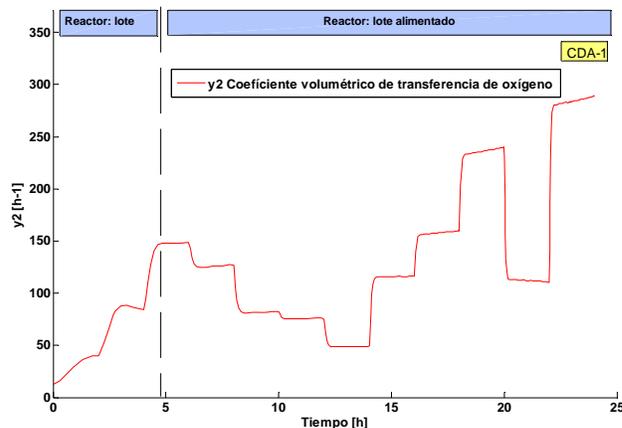


Figura 5-48: CDA-1.Evolución de $k_L a_t^{Exp}$

5.7.11. Observación de estados experimentales.

Se utilizó el modelo del **NOD** para estimar los estados del proceso de fermentación. La evolución de biomasa, substrato, oxígeno, y el volumen observados se muestran en las Figuras: 5-49, 5-50, 5-51 y 5- 52 respectivamente.

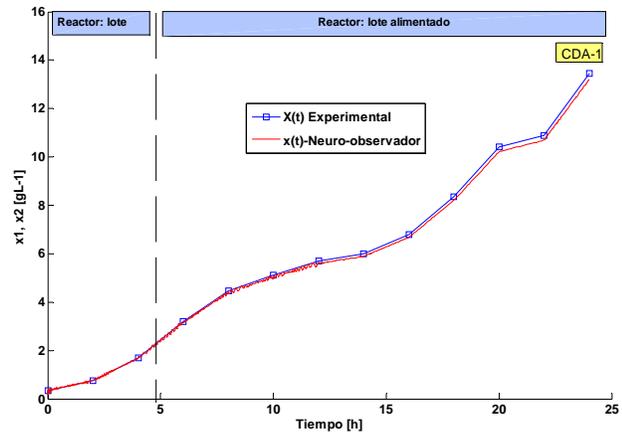


Figura 5-49: **CDA-1**:Biomasa observada, X_t^{Obs}

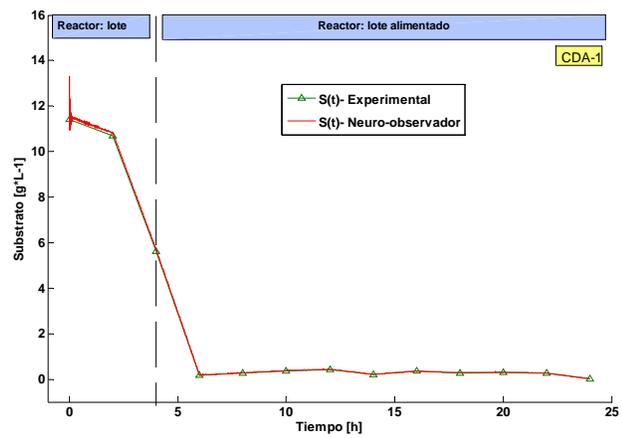


Figura 5-50: **CDA-1**. Substrato observado, S_t^{Obs}

5.7. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA-1: REACTOR LOTE ALIMENTADO (*S. CEREVICIAE*)107

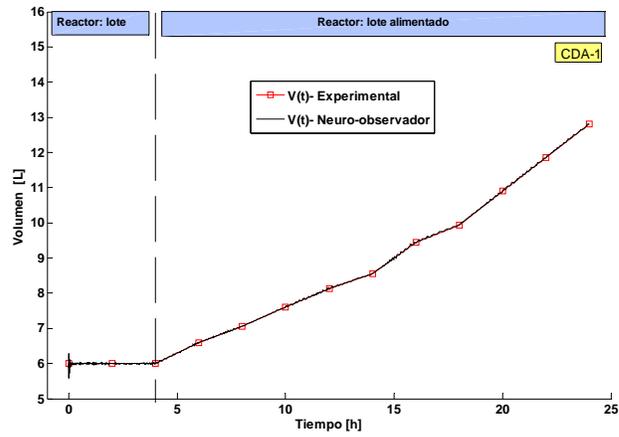


Figura 5-51: CDA-1. Volumen observado, V_t^{Obs}

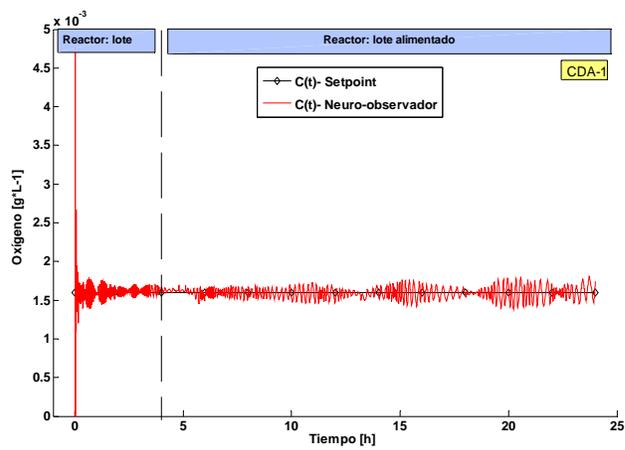
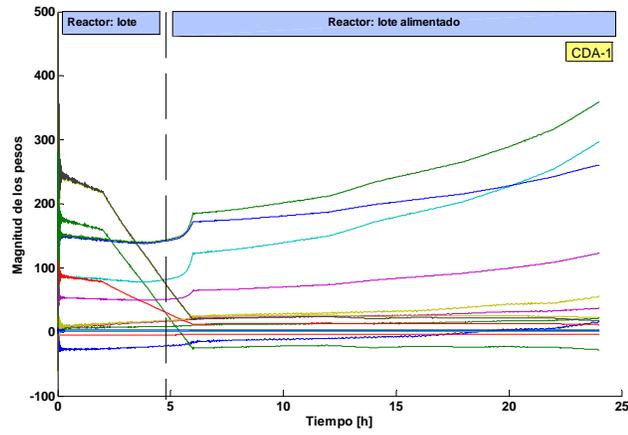
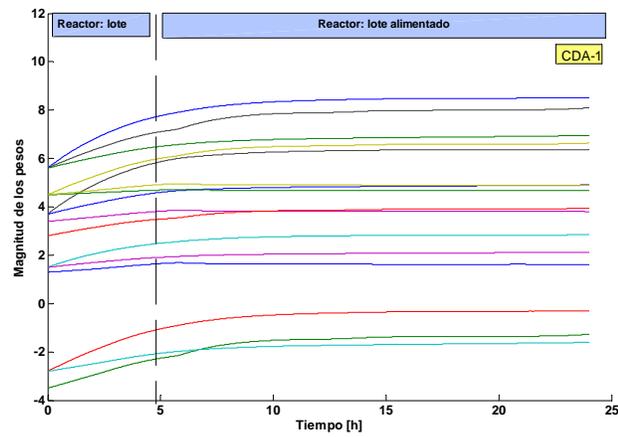


Figura 5-52: CDA-1. Oxígeno observado, C_t^{Obs}

En las Figuras 5-53-54 se muestra la evolución de los pesos de la ley de aprendizaje de la red

Figura 5-53: CDA-1. Evolución de $W_{1,t}$ observador de estadosFigura 5-54: CDA-1. Evolución de $W_{2,t}$ observador de estados

5.7.12. Velocidad específica de crecimiento observada, $\hat{\mu}_t^{Obs}$.

Después de que se observó la biomasa con el **NOD** esta se utilizó para estimar la velocidad específica de crecimiento observada, $\hat{\mu}_t^{Obs}$, la evolución de la misma se presenta en la Figura 5-55.

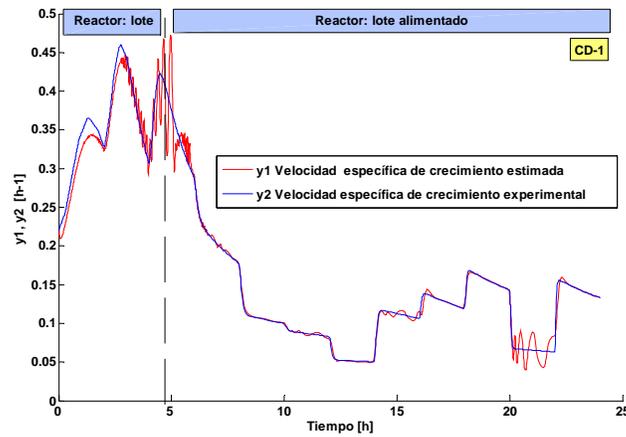


Figura 5-55: CDA-1. Evolución de $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ con $C_1 = 7,7 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 14,8225 L^2h^{-2}g^{-2}$

5.7.13. Coeficiente volumétrico de transferencia de masa $\widehat{k_L a_t}^{obs}$

Se estimó el coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $\widehat{k_L a_t}^{obs}$, se utilizó la velocidad específica observada, $\widehat{\mu}_t^{Obs}$, y la biomasa observada, X_t^{Obs} el mejor desempeño del estimador de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ se muestra en la Figura 5-56 donde se puede ver que en $t = 20 h$ se observó oscilación de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ con respecto a la dinámica de referencia, esto es fue una consecuencia de la misma variación que se presentó en la dinámica estimada de $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ también en $t = 20 h$.

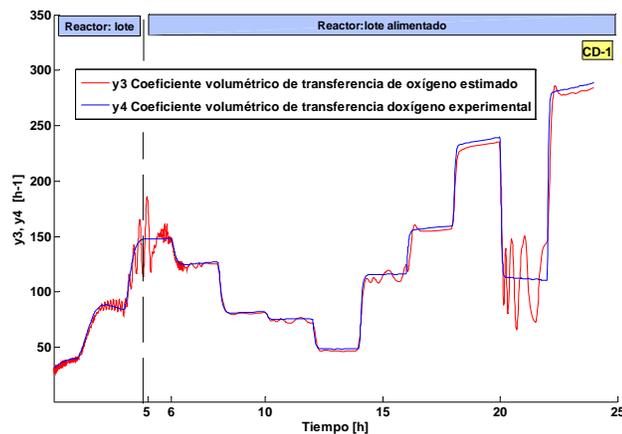


Figura 5-56: CDA-1. Evolución de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ para $C_1 = 10 * 10^3 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 25 * 10^8 L^2h^{-2}g^{-2}$

5.8. Corrida experimental CDA-2: Reactor lote alimentado (*S. cerevisiae*)

Esta fue la última fermentación analizada para los cultivos de *S. cerevisiae*, de igual forma que los cultivos **CDA** y **CDA-1** el objetivo principal fue estimar $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ a partir de los datos experimentales. En las figuras siguientes se muestran los resultados obtenidos para este cultivo.

5.8.1. Estados experimentales

Los resultados experimentales para este cultivo **CDA-2** se muestran en la Figura 5-57, se observa que en este cultivo el incremento de volumen fue prácticamente lineal para el reactor lote alimentado.

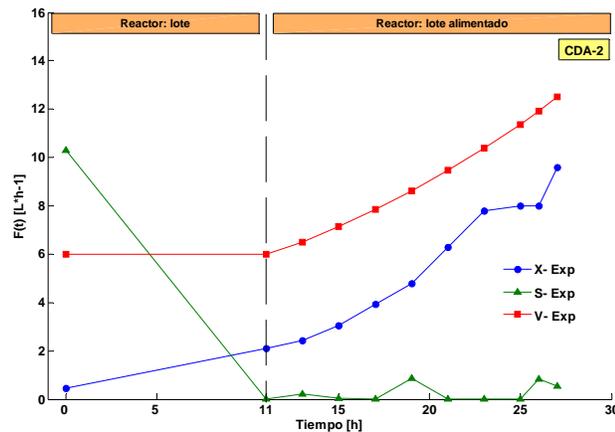


Figura 5-57: **CDA-2**. Evolución de los estos experimentales

5.8.2. Flujo de alimentación al biorreactor

La dinámica del cultivo estuvo determinada por el flujo de alimentación, F_t , al biorreactor, la evolución de F_t se muestra en la Figura 5-58. Es importante mencionar que F_t fue incremento durante todo el reactor lote alimentado, comparado con el flujo de alimentación para las anteriores fermentaciones-**CDA** y **CDA-1**- Figuras 5-2 y 5-43 repectivamente.

5.8. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA-2: REACTOR LOTE ALIMENTADO (*S. CEREVISIAE*)111

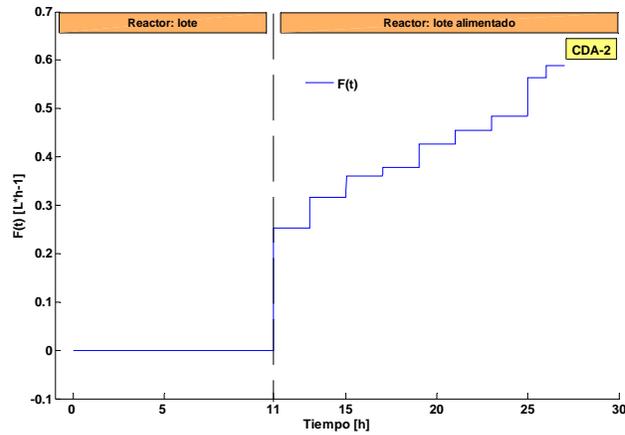


Figura 5-58: **CDA-2**. Dinámica del flujo de alimentación al biorreactor

5.8.3. Velocidad específica de crecimiento experimental, μ^{Exp}

Utilizando los datos experimentales de biomasa se calculó la velocidad específica de crecimiento, μ^{Exp} , el resultado obtenido se muestra en la Figura 5-59, claramente se puede ver que durante todo el cultivo en reactor lote sólo se dispuso de dos muestreos en $t = 0 h$ y $t = 11 h$ lo anterior no permitió poder conocer la evolución completa de μ^{Exp} . Para el reactor lote alimentado se dispone de más datos, sin embargo, la evolución de μ^{Exp} tampoco es completa debido la cantidad de datos experimentales.

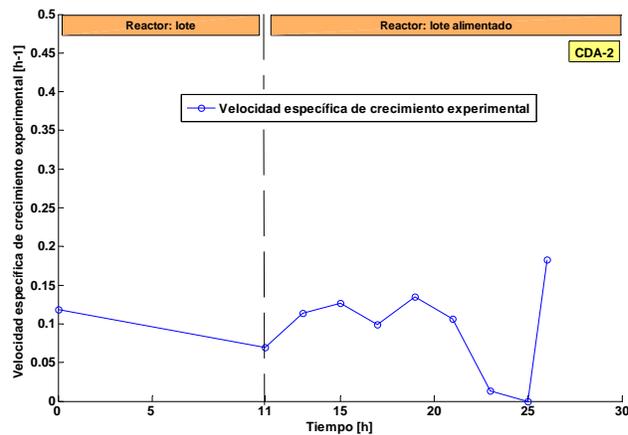


Figura 5-59: **CDA-2**: Velocidad específica de crecimiento experimental

5.8.4. Estimación de la velocidad específica de crecimiento experimental ($\hat{\mu}_t^{Exp}$)

Utilizando el estimador para la velocidad específica de crecimiento experimental estimada, $\hat{\mu}_t^{Exp}$, se logró obtener la dinámica completa de este parámetro. En la Figura 5-60 se muestran los resultados obtenidos para $\hat{\mu}_t^{Exp}$ al aplicar el algoritmo (4.87-88) se obtuvo la dinámica de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ esta se muestra en la Figura 5-60.

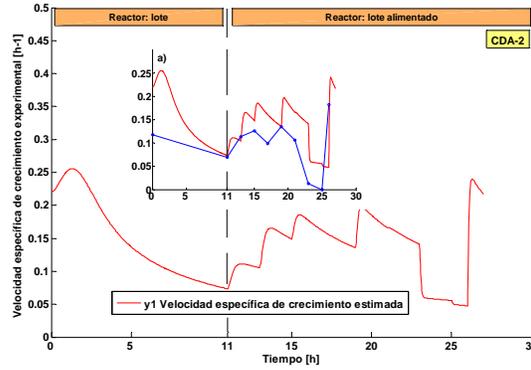


Figura 5-60: CDA-2. Evolución de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ con $C_1 = 5,6 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 7,84 \text{ .L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

Se comparó la velocidad específica de crecimiento experimental, μ^{Exp} , y la velocidad específica de crecimiento experimental estimada, $\hat{\mu}_t^{Exp}$, se comparó como se muestra en la figura a) de la Figura 5-60.

5.8.5. Observación del error $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$

Durante el proceso de estimación de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ el mejor desempeño para el estimador fue cuando se logró el menor error de $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$, es decir, la observación del error. Los resultados se muestran la Figura 5-61. Una primera aproximación en el diseño de los parámetros C_1 y C_2 se muestra en la figura a), y en la figura principal se muestra la evolución de X_t^{Exp} y \hat{X}_t^{Exp} , para $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp} \simeq 0$.

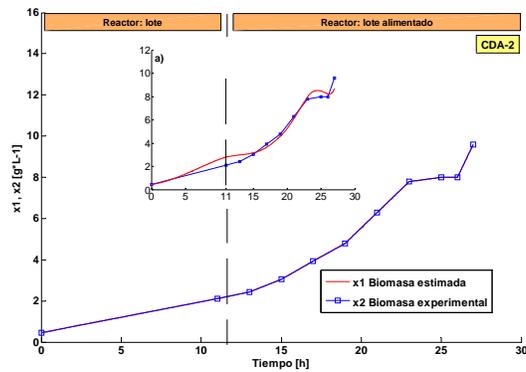


Figura 5-61: CDA-2. Evolución de \widehat{X}_t^{Exp} con $C_1 = 5,6 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 7,84 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

La norma del error de \widehat{X}_t^{Exp} , es decir, cuanto se alejan los valores de \widehat{X}_t^{Exp} de los datos experimentales, X_t^{Exp} , se muestra en la Figura 5-62 (figura principal) y la figura a).

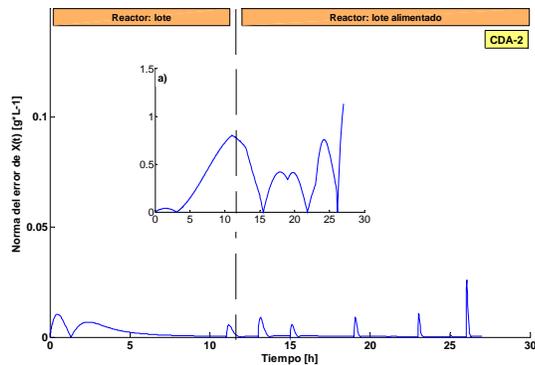


Figura 5-62: CDA-2. Norma del error de X_t^{Exp} con $C_1 = 5,6 \text{ Lh}^{-1}\text{g}^{-1}$ y $C_2 = 7,84 \text{ L}^2\text{h}^{-2}\text{g}^{-2}$

5.8.6. Coeficiente volumétrico de transferencia de masa aparente

Una vez que se estimó $\widehat{\mu}_t^{Exp}$ se calculó el coeficiente volumétrico de transferencia de masa teórico, $k_{La_t}^{Exp}$, que se tomó como la señal de referencia para evaluar el desempeño del estimador para el parámetro $\widehat{k_{La_t}^{obs}}$. La dinámica de referencia $k_{La_t}^{Exp}$ obtenida se muestra en la Figura 5-63.

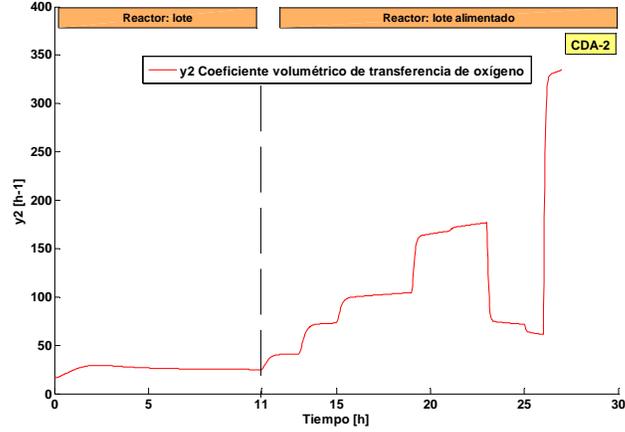


Figura 5-63: **CDA-2**. Coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno experimental o aparente

5.8.7. Identificación de estados experimentales: X_t^{Exp} , S_t^{Exp} , V_t^{Exp} y $C_t^{Setpoint}$

En este punto se definió el identificador como un entrenador basado en **RND**, es decir, la **RND** se aplicó para obtener la mejor aproximación posible a los datos experimentales. La descripción matemática de este tipo de **RND** está dada por (4.14). Los valores de P , K_1, K_2 , $W_{1,t=0}$ y $W_{2,t=0}$ definidas con anterioridad.

Las condiciones iniciales de la **RND** descrita por (4.14)

$$\hat{x}_{t=0} = [0,4482 \quad 10,3 \quad 0,0007 \quad 6]^T$$

La evolución de los estados experimentales y los estados identificados por **RND** se muestran en la Figura 5-64. Este procedimiento se desarrolló para generar los valores finales de matrices de los pesos y permitió la correcta selección de los parámetros de la **RND**. Todo el procedimiento desarrollado se conoce como el proceso de entrenamiento de la **RND**.

5.8. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA-2: REACTOR LOTE ALIMENTADO (*S. CEREVISIAE*)115

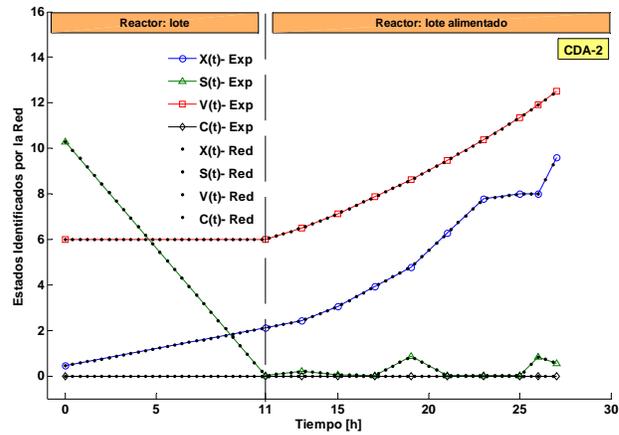


Figura 5-64: CDA-2. Estados identificados por la RND

5.8.8. Evolución de los pesos

La dinámica de la ley de aprendizaje de la RND para la identificación de los estados se muestra en las Figuras 5-65 y 5-66

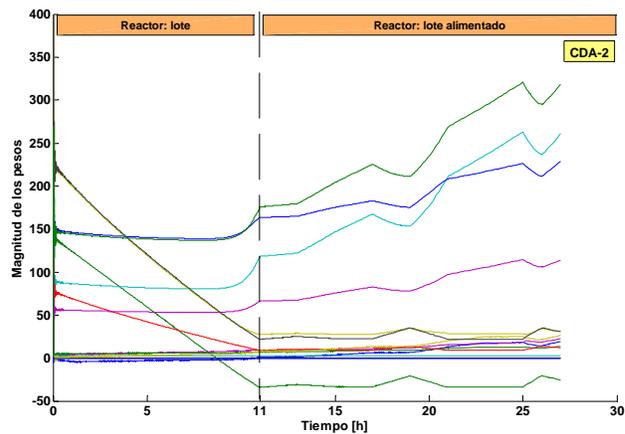


Figura 5-65: CDA-2. Evolución de $W_{1,t}$ en el identificador

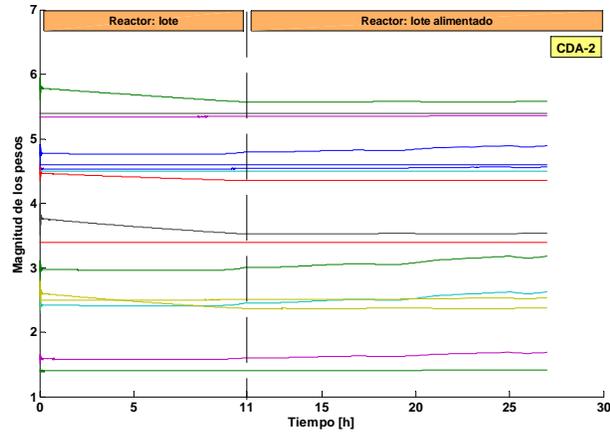


Figura 5-66: **CDA-2**. Evolución de $W_{2,t}$ en el identificador

Los valores finales de las matrices de pesos fueron los siguientes:

$$W_{1,t=27} = \begin{bmatrix} 19,4 & -25,45 & 0,08612 & 261 \\ 22,33 & 30,67 & 0,0791 & 229,1 \\ 13,36 & 12,06 & 2,219 & 113,9 \\ 26,35 & 30,46 & -0,7195 & 318,8 \end{bmatrix} \quad W_{2,t=27} = \begin{bmatrix} 4,56 & 5,579 & 3,395 & 2,625 \\ 5,362 & 2,374 & 5,3994 & 4,894 \\ 1,414 & 4,355 & 4,496 & 1,687 \\ 2,529 & 3,532 & 4,594 & 3,178 \end{bmatrix}$$

5.8.9. Estimación de biomasa y sustrato

Para poder identificar los estados experimentales, se definió en el capítulo cuatro una **RND** como **ONL**, la cual está descrita por (4.27). Los estados observados X_t^{obs} , S_t^{obs} , C_t^{obs} y V_t^{obs} se muestran en las Figuras 5-67, 5-68, 5-69 y 5-70 respectivamente.

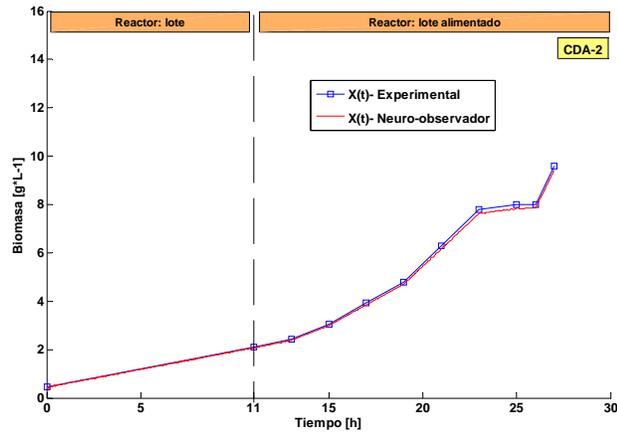


Figura 5-67: **CDA-2**. Biomasa observada, X_t^{Obs}

5.8. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA-2: REACTOR LOTE ALIMENTADO (*S. CEREVISIAE*)117

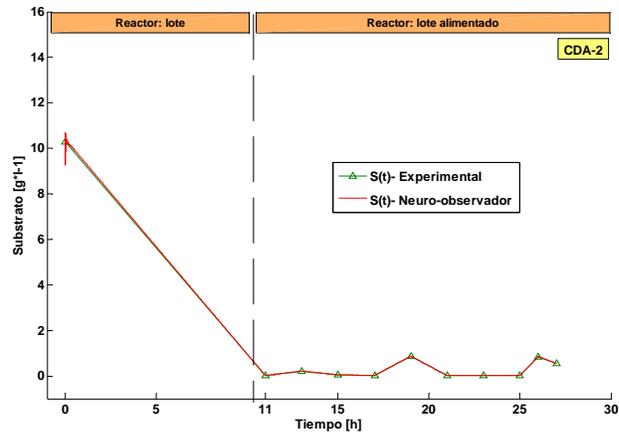


Figura 5-68: **CDA-2**. Substrato observado, S_t^{Obs}

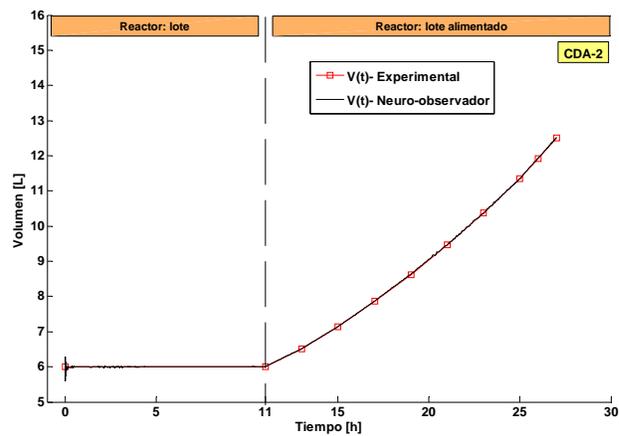


Figura 5-69: **CDA-2**. Volumen observado V_t^{Obs}

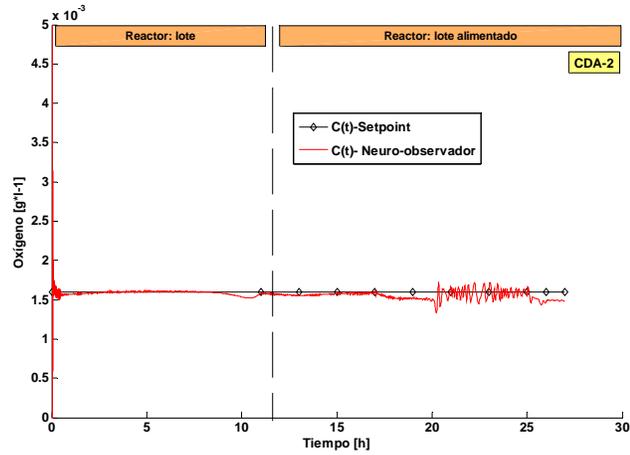


Figura 5-70: CDA-2. Oxígeno observado, C_t^{Obs}

5.8.10. Evolución de los pesos

La evolución de los pesos $W_{1,t}$ y $W_{2,t}$ se muestran en las Figuras 5-71 y 5-72.

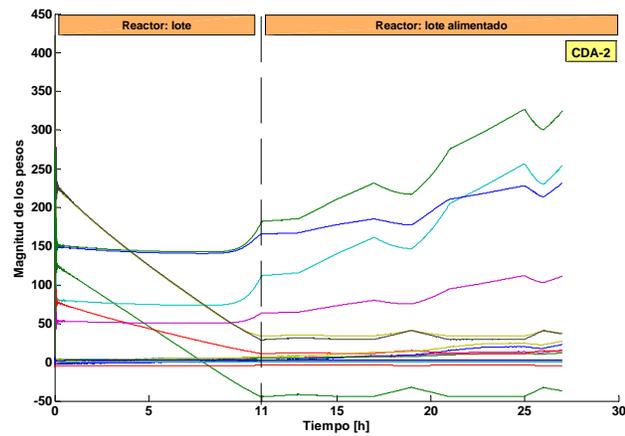


Figura 5.71: CDA-2. Evolución de $W_{1,t}$ observador de estados

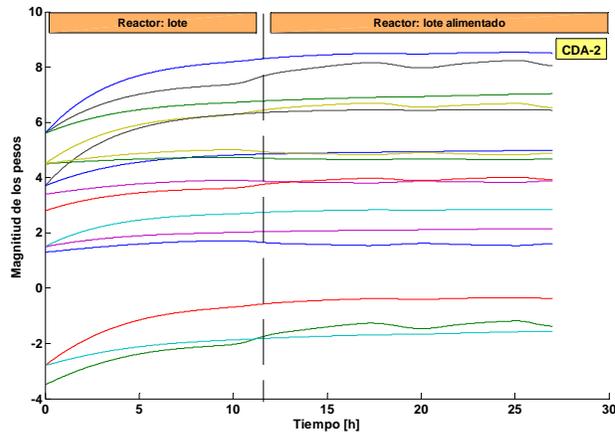


Figura 5.72: **CDA-2**. Evolución de $W_{2,t}$ observador de estados

Las condiciones iniciales de los pesos en la ley de aprendizaje fueron

$$W_{1,t=0} = W_{2,t=0} = \begin{bmatrix} 1,3 & 3,4 & 4,5 & 4,5 \\ -3,5 & 4,5 & 2,8 & 5,6 \\ -2,8 & 3,7 & 1,5 & 5,6 \\ -2,8 & 3,7 & 1,5 & 5,6 \end{bmatrix}$$

5.8.11. Velocidad específica de crecimiento observada, $\hat{\mu}_t^{Obs}$

Los resultados para $\hat{\mu}_t^{Obs}$ se desarrollaron para cuatro diseños diferentes de los parámetros C_1 y C_2 , estos se muestran en las figuras a), b), c) y d) de la Figura 5-73. El mejor desempeño de para el estimador fue para $C_1 = 3,5 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 3,0625 L^2h^{-2}g^{-2}$, este resultado corresponde a la figura c). Para cada uno de los cuatro diseños se determino la norma del error.

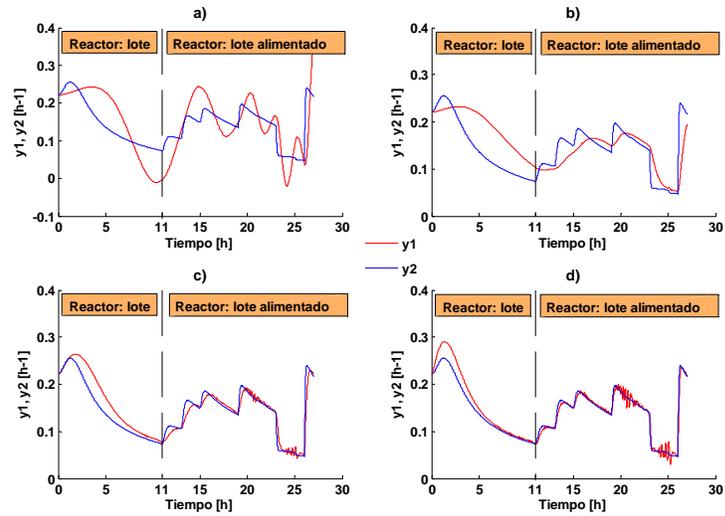


Figura 5-73: **CDA-2**. Evolución de $\hat{\mu}_t^{Obs}$ con $C_1 = 3,5 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 3,0625 L^2h^{-2}g^{-2}$ para **c**)

5.8.12. Norma del error

El desempeño del estimador se evalúa a través de la norma del error. Los resultados para los diferentes diseños de los parámetros C_1 y C_2 se muestran en la Figura 5-74 donde se observa la convergencia de la norma del error muy cercana a cero. Y el mejor desempeño del estimador fue en la figura c) ya que corresponde a los mismos valores utilizados para el diseño de los parámetros C_1 y C_2 . En este caso sólo se muestran los valores de C_1 y C_2 para el diseño c)

5.8. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA-2: REACTOR LOTE ALIMENTADO (*S. CEREVISIAE*)121

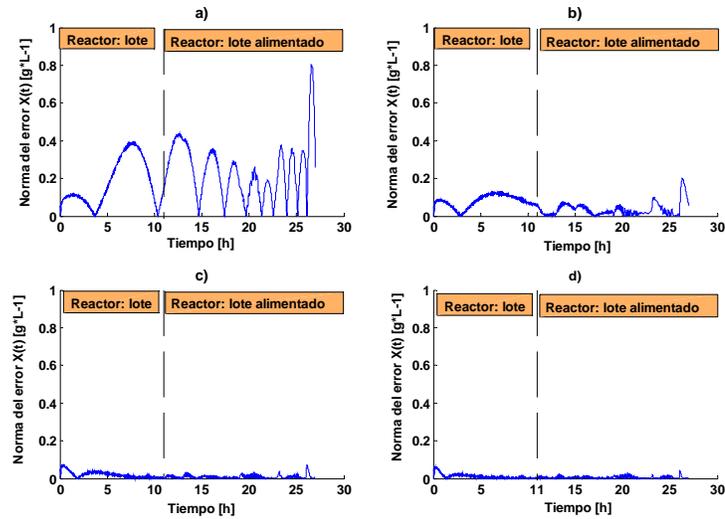


Figura 5-74: CDA-2. Norma del error de $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ con $C_1 = 3,5 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 3,0625 L^2h^{-2}g^{-2}$ para c)

5.8.13. Coeficiente volumétrico de transferencia de masa $\widehat{k_L a_t}^{obs}$

Finalmente se estimo $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ los resultados obtenidos se muestran en las figuras a), b), c) y d) de la Figura 5-75.

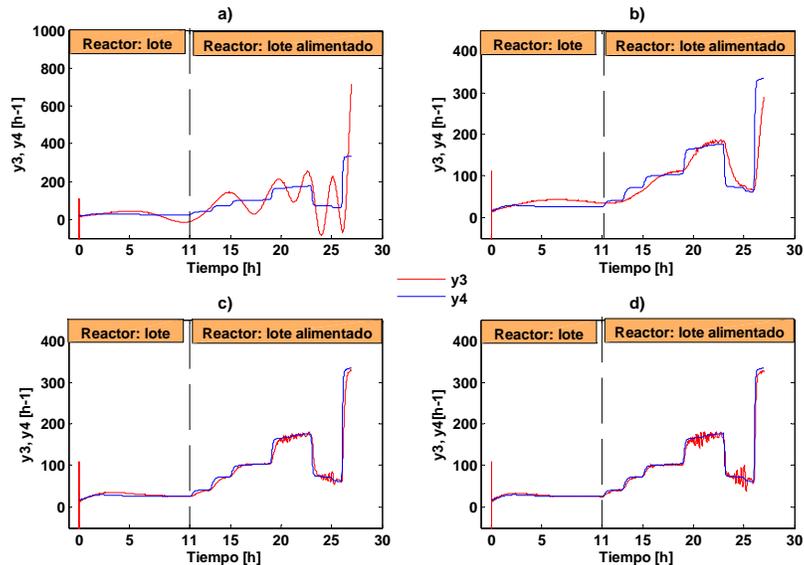


Figura 5-75: CDA-2. Evolución de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ para $C_1 = 11 * 10^4 Lh^{-1}g^{-1}$ y $C_2 = 30,25 * 10^8 L^2h^{-2}g^{-2}$ para c)

5.9. Corrida experimental CDA-IBT: Reactor lote (*A. vinelandii*)

Los datos experimentales de la fermentación **CDA-IBT**, fueron utilizados para validar el desempeño del *software sensor* diseñado para estimar el parámetro $k_L a_t$. La señal de referencia utilizada fue la evolución de $k_L a_t^{Exp}$, dicha evolución se obtuvo en línea utilizando un medidor paramagnético de oxígeno. Para esta fermentación durante todo el cultivo fueron accesibles en línea $k_L a_t^{Exp}$ y C_t .

5.9.1. Estados experimentales

Los estados experimentales para esta fermentación se muestran en la Figura 5-76

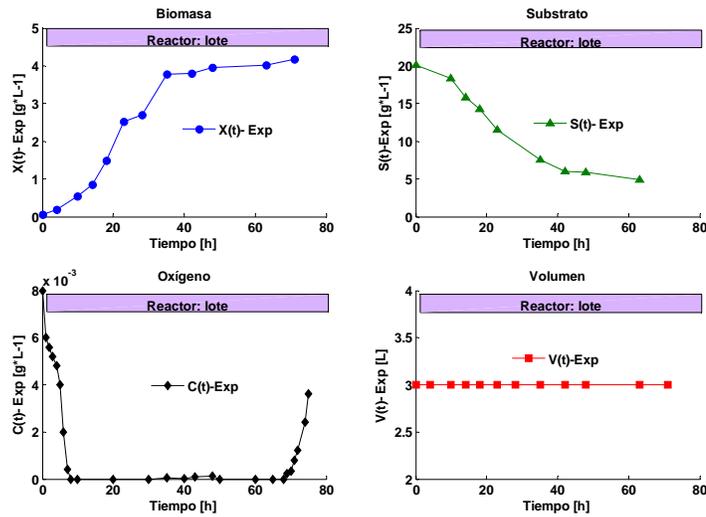


Figura 5-76: CDA-IBT. Estados experimentales

5.9.2. Velocidad específica de crecimiento experimental estimada, $\hat{\mu}_t^{Exp}$.

La velocidad específica de crecimiento experimental estimada, $\hat{\mu}_t^{Exp}$, se estimó utilizando el algoritmo descrito por (4.87-88). El diseño de los parámetros C_1 y C_2 se realizó de acuerdo a los datos reportados en la Tabla 5.5, los resultados se muestran en la Figura 5-77.

Nótese que para esta corrida experimental se desarrolló el cálculo completo de los valores de los parámetros C_1 y C_2 de acuerdo con la definición (4.93).

Tabla 5.5: Diferentes diseños para los parámetros C_1 y C_2 en el proceso de estimación de $\hat{\mu}_t^{Exp}$.

5.9. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA-IBT: REACTOR LOTE (A. VINELANDII)123

Diseño	C_1	$Lh^{-1}g^{-1}$	C_2	$L^2h^{-2}g^{-2}$	Diseño	C_1	$Lh^{-1}g^{-1}$	C_2	$L^2h^{-2}g^{-2}$
A	0,7		0,1225		G	4,9		6,0025	
B	1,4		0,49		H	5,6		7,84	
C	2,1		1,1025		I	6,3		9,9225	
D	2,8		1,96		J	7		12,25	
E	3,5		3,0625		K	7,7		14,8225	
F	4,2		4,41		L	8,4		17,64	

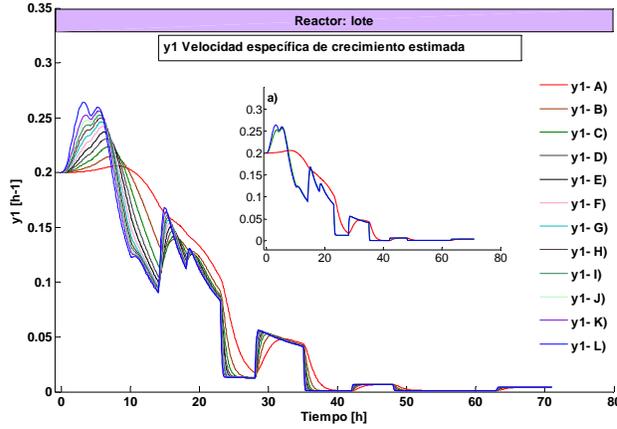


Figura 5-77: CDA-IBT. Evolución de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ con diferentes valores de C_1 y C_2

En la figura **a)** de la Figura 5-77 se muestra la evolución de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ para los diferentes diseños: **A** (línea roja), **J** (línea verde) y **K** (línea azul). Para estos tres diseños el mejor desempeño para del estimador fue para el diseño **J**. En la figura principal se muestra la evolución de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ para todos los diseños de los parámetros C_1 y C_2 . La característica sobresaliente es que a medida que el error $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp}$ converge a cero, la evolución de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ se define para cada diseño de C_1 y C_2 y cuando $X_t^{Exp} - \hat{X}_t^{Exp} \simeq 0$ se logra la evolución más precisa de $\hat{\mu}_t^{Exp}$.

En la Figura 5-78 se muestra la evolución final obtenida para $\hat{\mu}_t^{Exp}$ (Diseño **J**) y la velocidad específica de crecimiento experimental, μ_t^{Exp} .

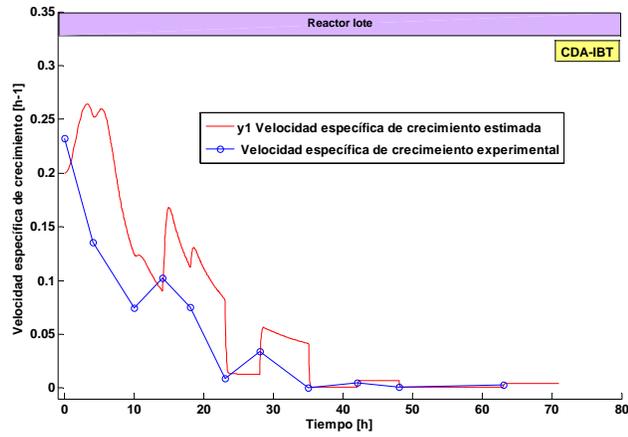


Figura 5-78: **CDA-IBT**. Evolución de $\hat{\mu}_t^{Exp}$ con diferentes valores de C_1 y C_2

5.9.3. Identificación de estados experimentales: X_t^{Exp} , S_t^{Exp} , V_t^{Exp}

Las condiciones iniciales de la **RND** descrita por (4.14) fueron las siguientes:

$$\hat{x}_{t=0} = [0,05 \quad 20,07 \quad 0,0008 \quad 3]^T$$

En la Figura 5-79 se muestra la identificación de los estados por la red, el cuarto estado, C_t , se muestra en la Figura 5-80 donde esta fue la dinámica de referencia utilizada en la etapa de validación del estimador propuesto para esta fermentación.

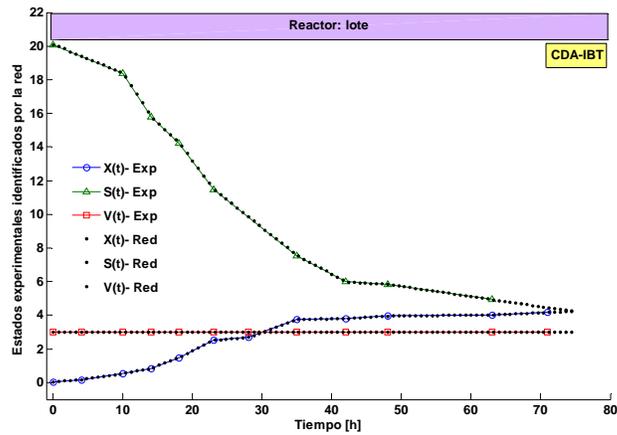


Figura 5-79: **CDA-IBT**. Estados experimentales (X_t^{Exp} , S_t^{Exp} , V_t^{Exp}) identificados con la **RND**

5.9. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA-IBT: REACTOR LOTE (A. VINELANDII)125

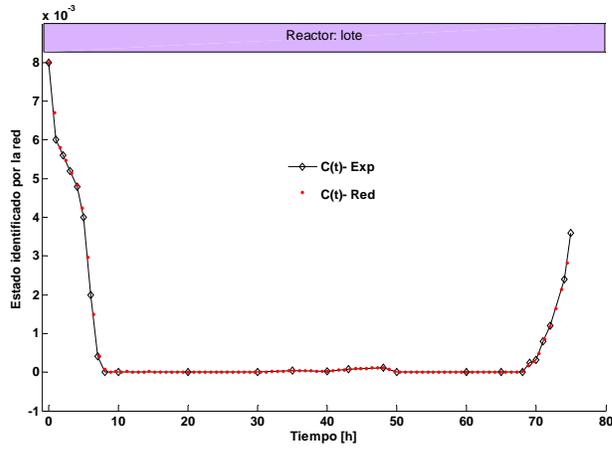


Figura 5-80: CDA-IBT. Estado experimental C_t^{Exp} identificado con la RND

5.9.4. Evolución de los pesos

En las Figura 5-81 y 5-82 se muestra el comportamiento de los pesos durante el proceso de ajuste de la ley de aprendizaje.

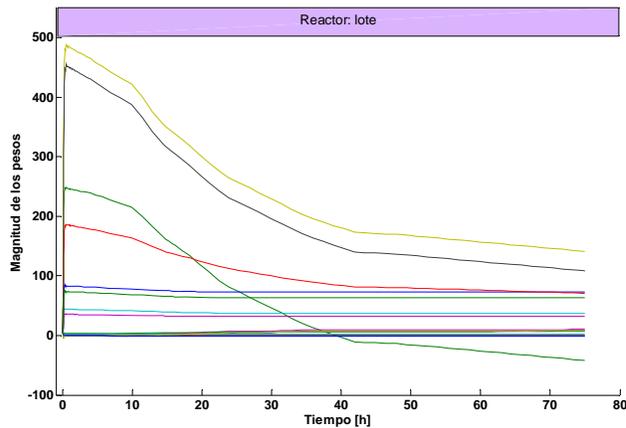


Figura 5-81: CDA-IBT. Evolución de $W_{1,t}$ en el identificador

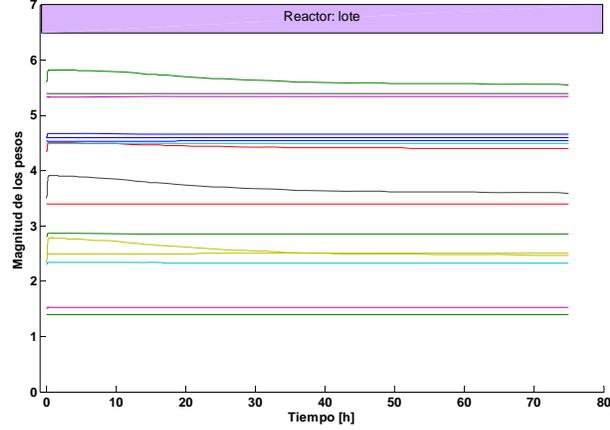


Figura 5-82: **CDA-IBT**. Evolución de $W_{2,t}$ en el identificador

Los valores finales de las matrices de pesos $W_{1,t}$ y $W_{2,t}$ en el proceso de entrenamientos fueron los siguientes:

$$W_{1,t} = \begin{bmatrix} 7,84 & -42,22 & 0,5268 & 37,45 \\ 10,2 & 141,1 & -0,2767 & 72,97 \\ 6,686 & 70,73 & 2,377 & 32,13 \\ 7,982 & 108,2 & -0,6687 & 63,62 \end{bmatrix}$$

$$W_{2,t} = \begin{bmatrix} 4,543 & 5,556 & 3,397 & 2,332 \\ 5,344 & 2,468 & 5,395 & 4,663 \\ 1,401 & 4,401 & 4,498 & 1,524 \\ 2,505 & 3,596 & 4,595 & 2,8556 \end{bmatrix}$$

5.9.5. Observación de los estados experimentales con el NOD

Los estados experimentales fueron observados ($\hat{x}_t^{Obs} = [X_t^{Obs} \ S_t^{Obs} \ C_t^{Obs} \ V_t^{Obs}]^T$) utilizando el **NOD** descrito por (4.27), los resultados obtenidos se muestran en las Figuras 5-83, 5-84, 5-85 y 5-86 para biomasa, substrato, oxígeno y volumen respectivamente.

5.9. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA-IBT: REACTOR LOTE (A. VINELANDII)127

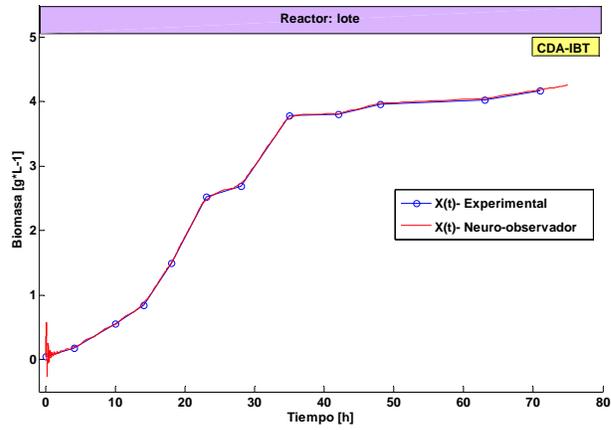


Figura 5-83: CDA-IBT. Biomasa observada, X_t^{Obs}

5.9.6. Substrato

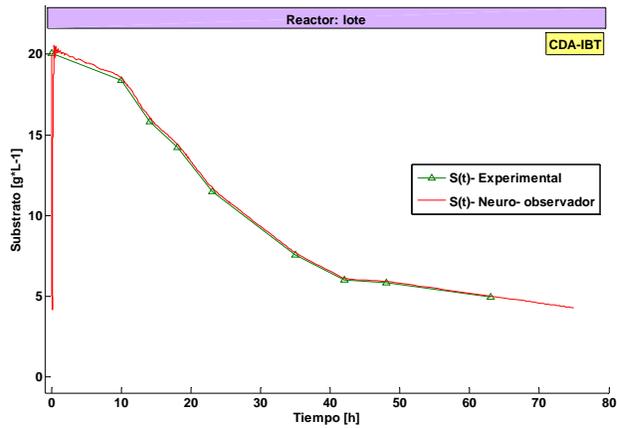


Figura 5-84: CDA-IBT. Substrato observado, S_t^{Obs}

5.9.7. Oxígeno

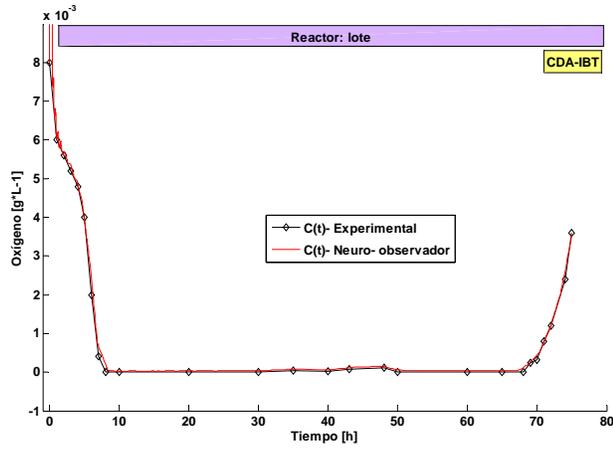


Figura 5-85: CDA-IBT. Oxígeno observado, C_t^{Obs}

Volumen

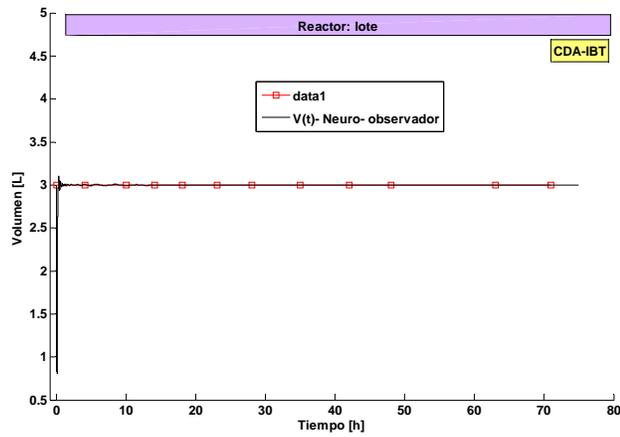


Figura 5-86: CDA-IBT: volumen observado, V_t^{Obs} .

5.9.8. Evolución de los pesos

En las Figuras 5-87 y 5-88 se observa la evolución de $W_{1,t}$ y $W_{2,t}$ en la ley de aprendizaje descrita por (4.28) y (4.29),

5.9. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA-IBT: REACTOR LOTE (A. VINELANDII)129

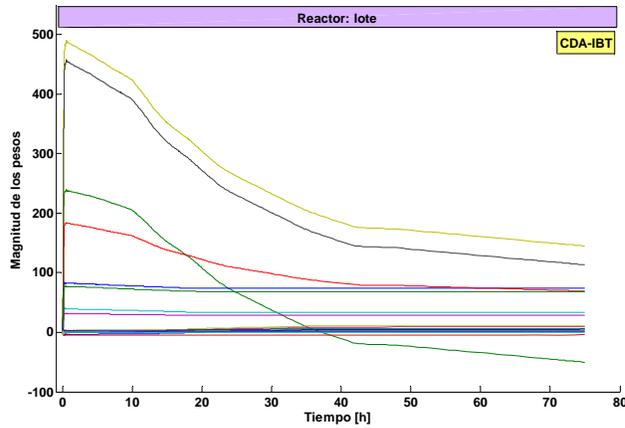


Figura 5-87: CDA-IBT. Magnitud de $W_{1,t}$, observación de estados

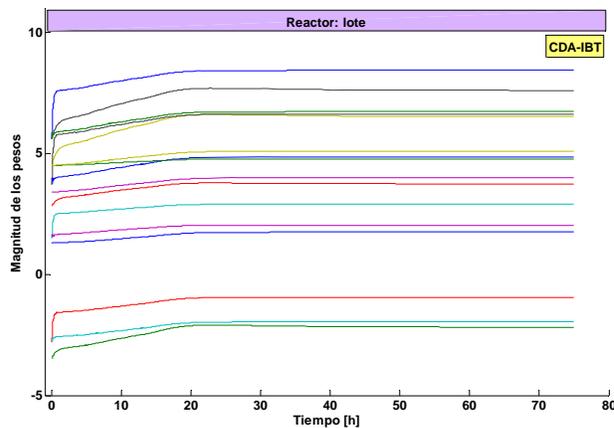


Figura 5-88: CDA-IBT. Magnitud de $W_{2,t}$, observación de estados

5.9.9. Velocidad específica de crecimiento observada, $\hat{\mu}_t^{Obs}$

En el proceso de estimación de $\hat{\mu}_t^{Obs}$ se realizó diseñando los parámetros C_1 y C_2 en la estructura del algoritmo de estimación descrito por (4.123-124). Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 5-89.

Los resultados que fueron obtenidos en el proceso de estimación para $\hat{\mu}_t^{Obs}$ mostrados en la Figura 5.87 corresponden al diseño de los parámetros C_1 y C_2 que se muestra en la Tabla 5.6, donde el mejor desempeño fue para el Diseño **D**, este hecho fue confirmado al calcular la norma del error de $\hat{\mu}_t^{Obs}$ con respecto a la señal de referencia $\hat{\mu}_t^{Exp}$.

Tabla 5.6. Diseño de C_1 y C_2 , estimación de $\hat{\mu}_t^{Obs}$ en CDA-IBT

Diseño	Figura	C_1	$Lh^{-1}g^{-1}$	C_2	$L^2h^{-2}g^{-2}$
A	a)		1,4		0,49
B	b)		4,2		4,41
C	c)		6,3		9,92
D	d)		9,8		24,41

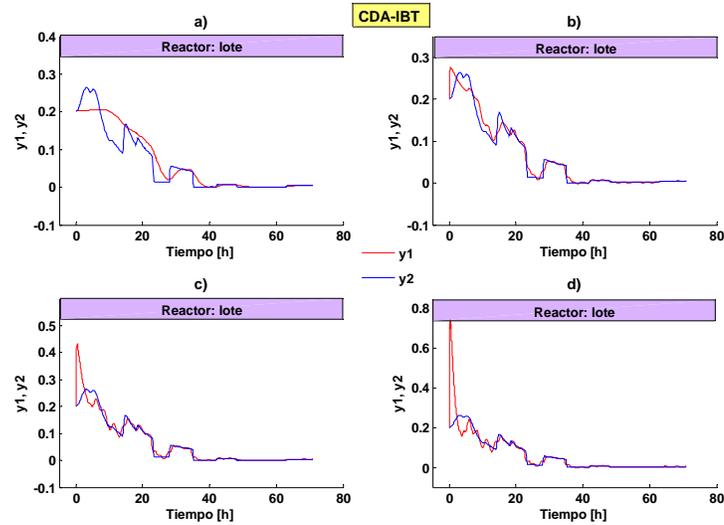


Figura 5-89: **CDA-IBT**. Evolución de $\hat{\mu}_t^{Obs}$ para diferentes diseños de C_1 y C_2

5.9.10. Norma del error $\hat{\mu}_t^{Exp} - \hat{\mu}_t^{Obs}$

Los resultados obtenidos para los diseños de C_1 y C_2 de la Tabla 5.6 norma del error de $\hat{\mu}_t^{Exp} - \hat{\mu}_t^{Obs}$, se muestran en la Figura 5-90, y corresponde a los mismo diseños de los parámetros C_1 y C_2 de la Tabla 5.6. El menor error se muestra en la figura d) que corresponde al Diseño D.

5.9. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA-IBT: REACTOR LOTE (A. VINELANDII)131

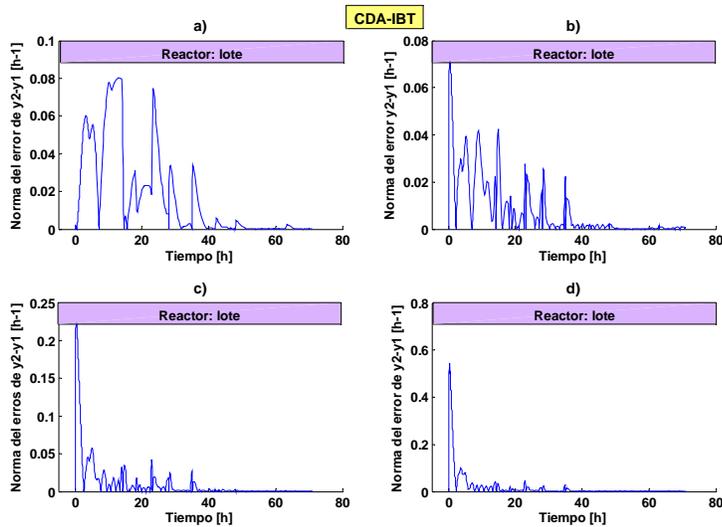


Figura 5-90: CDA-IBT. Norma del error de $\hat{\mu}_t^{Obs}$

5.9.11. Observación del error de $X_t^{Obs} - \hat{X}_t^{Obs}$

La convergencia del error $X_t^{Obs} - \hat{X}_t^{Obs}$ a cero, se muestran en la Figura 5-91. La evolución de \hat{X}_t^{Obs} para los diferentes diseños de los parámetros C_1 y C_2 de la Tabla 5.6.

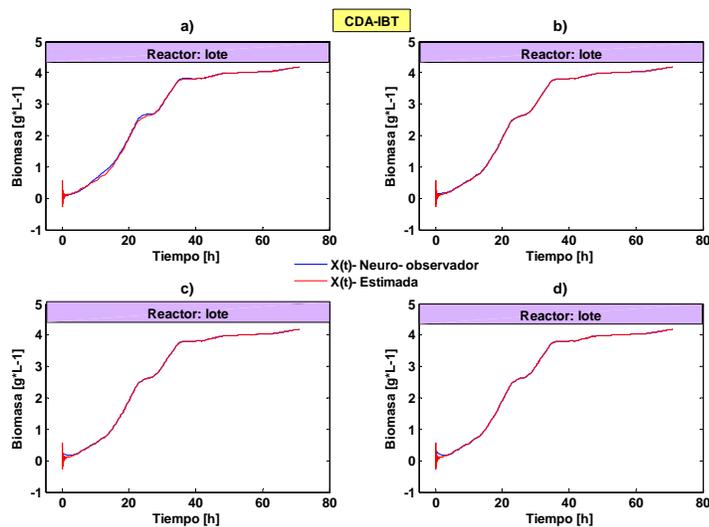


Figura 5-91: CDA-IBT. Evolución \hat{X}_t^{Obs} con diferentes diseños de C_1 y C_2

5.9.12. Norma del error de \widehat{X}_t^{Obs}

Para el proceso de estimación de $\widehat{\mu}_t^{Obs}$, la norma del error de \widehat{X}_t^{Obs} obtenida se muestra en la Figura 5-92, se observa que en cada una de las figuras **a)**, **b)**, **c)** y **d)** esta presente en $t = 0$ el valor de la norma del error es aproximadamente de 0.5 gL^{-1} , es decir, el valor de que tanto esta alejado el proceso de estimación con respecto a la referencia. Para entender lo anterior se realizó un acercamiento en el siguiente intervalo $10 \text{ h} \geq t \geq 0 \text{ h}$ los resultados se muestran en la Figura 5-93 donde se puede apreciar el sobre paso que hay en $t = 0 \text{ h}$, el cual esta directamente relacionado con el diseño de los parámetros C_1 y C_2 , la velocidad de convergencia del estimador para $\widehat{\mu}_t^{Obs}$, sin embargo, los resultados obtenidos son bastante aceptables.

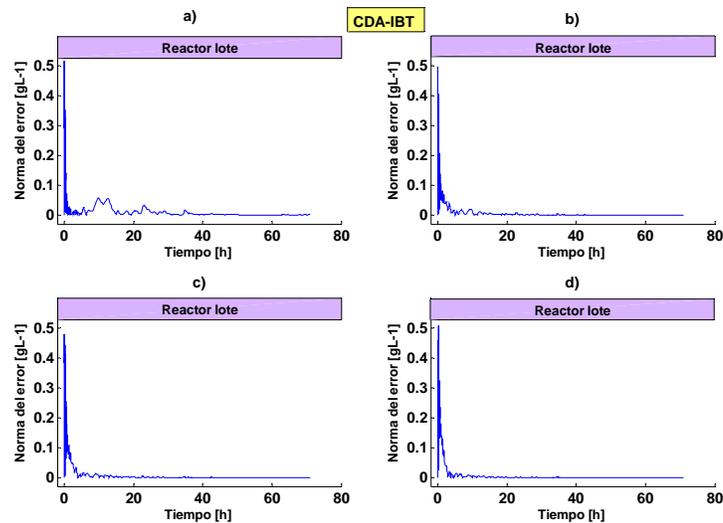


Figura 5-92: CDA-IBT. Norma del error de \widehat{X}_t^{Obs}

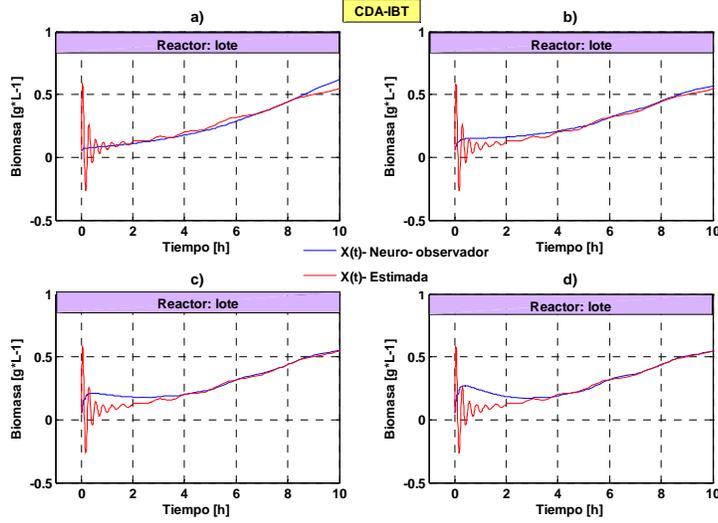


Figura 5-93: CDA-IBT. Evolución \hat{X}_t^{Obs} acercamiento en $10 h \geq t \geq 0 h$

5.9.13. Coeficiente volumétrico de transferencia de masa $\widehat{k_L a_t}^{obs}$

Finalmente los resultados obtenidos para $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ y \widehat{X}_t^{Obs} fueron aplicados en la estructura del estimador diseñado para estimar el $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ descrito por el algoritmo descrito por (4.136-137) esta basado en la observación del error de $C_t^{Exp} - \widehat{C}_t^{Obs}$. Donde C_t^{Exp} es la concentración de oxígeno disuelto en el medio de cultivo, el cual estuvo disponible en línea para toda la evolución del cultivo.

La convergencia del error $C_t^{Exp} - \widehat{C}_t^{Obs}$ a cero se logró en base al diseño de los parámetros C_1 y C_2 (ganancias) en la estructura del algoritmo del estimador para $\widehat{k_L a_t}^{obs}$, de acuerdo con el diseño de C_1 y C_2 mostrados en la Tabla 5.7. Los resultados se muestran en la Figura 5-94, para los cuatro diseños (a), b), c) y d)) de C_1 y C_2 la estimación del parámetro $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ es aceptable, sin embargo cuando analizamos la convergencia del error $C_t^{Exp} - \widehat{C}_t^{Obs}$ (Figura 5-95) observamos que para el diseño a) el error $C_t^{Exp} - \widehat{C}_t^{Obs}$ no converge a cero para este diseño. Y para los diseños restantes la observación del error $C_t^{Exp} - \widehat{C}_t^{Obs} \simeq 0$.

Tabla 5.7. Diseño de C_1 y C_2 , estimación de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ en CDA-IBT

Diseño	Figura	C_1	$Lh^{-1}g^{-1}$	C_2	$L^2h^{-2}g^{-2}$
A	a)	1000		250×10^3	
B	b)	5000		625×10^4	
C	c)	10×10^3		25×10^6	
D	d)	11×10^3		3025×10^5	

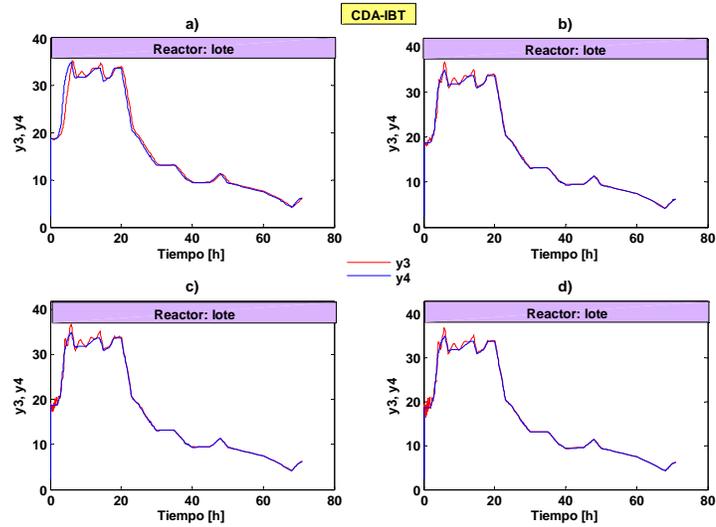


Figura 5-94: **CDA-IBT**. Estimación de $k_L a_t^{obs}$

El mejor desempeño del estimador se obtuvo para el Diseño **D**, en la figura d). La observación del error $C_t^{Exp} - \hat{C}_t^{Obs}$ para los diseños de C_1 y C_2 de la Tabla 5.7, se muestra en la Figura 5-94. El mejor desempeño de la convergencia del error a cero corresponde al Diseño **D**, figura d).

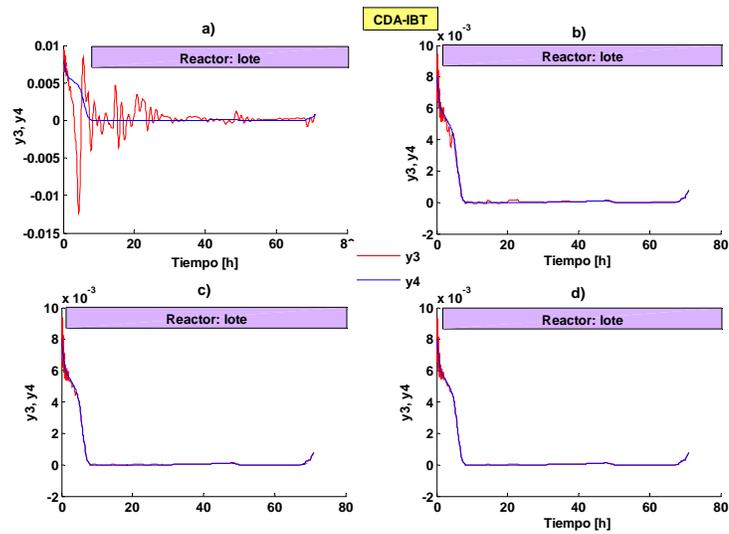


Figura 5-95: **CDA-IBT**. Observación del error $C_t^{Exp} - \hat{C}_t^{Obs}$

Para una situación práctica sólo se podrá disponer de una referencia promedio para la evolución del parámetro $k_L a_t$ de acuerdo a una serie de corridas

del proceso como tal. Sin embargo, la dinámica de un cultivo entre lote y lote presenta desviaciones y entonces el comportamiento del parámetro $k_L a_t$ seguramente también las presentará. Por tanto, el desempeño del estimador propuesto esta basado en la observación del error entre el estado disponible en línea, C_t , y el correspondiente estado estimado, \hat{C}_t^{Obs} .

5.9.14. Desviación de los valores estimados con respecto a los datos experimentales

Para cuantificar la convergencia de los algoritmos matemáticos utilizados se considero la suma de las diferencias al cuadrado entre las mediciones y los valores estimados en los cuatro algoritmos utilizados:

1. Identificación de estados experimentales con la **RND**.
2. Observación de estados experimentales con el observador basado en **RND** o **NOD**.
3. Estimador para la velocidad específica de crecimiento.
4. Estimador para el coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $k_L a$.

Los resultados siguientes corresponde a la corrida experiemetal **CDA-IBT**.

Identificación de estados experimentales con la RND

En el paso de identificación de los estados experimentales utilizando la RND, la desviación entre los estados estimados y los estados experimentales de biomasa, substrato, oxígeno y volumen se muestran a continuación:

Biomasa:

$$\begin{aligned} \%E_{\hat{X}_t^{Exp}} &= 100 \times \sum_{k=1}^N \left[\hat{X}_t^{Exp} - X_t^{Exp} \right]^2 & (5.6) \\ \%E_{\hat{X}_t^{Exp}} &= 7,838 \times 10^{-8} \frac{g^2}{L^2} \end{aligned}$$

Substrato:

$$\begin{aligned} \%E_{\hat{S}_t^{Exp}} &= 100 \times \sum_{k=1}^N \left[\hat{S}_t^{Exp} - S_t^{Exp} \right]^2 & (5.7) \\ \%E_{\hat{S}_t^{Exp}} &= 0,001691 \frac{g^2}{L^2} \end{aligned}$$

Oxígeno:

$$\begin{aligned} \%E_{\hat{C}_t^{Exp}} &= \sum_{k=1}^N \left[\hat{C}_t^{Exp} - C_t^{Exp} \right]^2 \times 100 & (5.8) \\ \%E_{\hat{C}_t^{Exp}} &= 4,5954 \times 10^{-7} \frac{g^2}{L^2} \end{aligned}$$

Volumen:

$$\begin{aligned} E_{\widehat{V}_t^{Exp}} &= 100 \times \sum_{k=1}^N \left[\widehat{V}_t^{Exp} - V_t^{Exp} \right]^2 \\ E_{\widehat{V}_t^{Exp}} &= 1,186 \times 10^{-7} L^2 \end{aligned} \quad (5.9)$$

con X_t^{Exp} y \widehat{X}_t^{Exp} valor de la concentración de biomasa experimental y la extimada en el tiempo k y N al final del tiempo de fermentación y de manera semejante para el resto de los estados.

5.9.15. Observación de estados experimentales con el observador basado en RND

Para el proceso de observación de estados experimentales utilizando la RND, los resultados se muestran a continuación.

Biomasa:

$$\begin{aligned} \%E_{\widehat{X}_t^{Obs}} &= 100 \times \sum_{k=1}^N \left[\widehat{X}_t^{Obs} - X_t^{Exp} \right]^2 \\ \%E_{\widehat{X}_t^{Obs}} &= 0,02203 \frac{g^2}{L^2} \end{aligned} \quad (5.10)$$

Substrato:

$$\begin{aligned} \%E_{\widehat{S}_t^{Obs}} &= 100 \times \sum_{k=1}^N \left[\widehat{S}_t^{Obs} - S_t^{Exp} \right]^2 \\ \%E_{\widehat{S}_t^{Obs}} &= 2,568 \frac{g^2}{L^2} \end{aligned} \quad (5.11)$$

Oxígeno:

$$\begin{aligned} \%E_{\widehat{C}_t^{Obs}} &= 100 \times \sum_{k=1}^N \left[\widehat{C}_t^{Obs} - C_t^{Exp} \right]^2 \\ \%E_{\widehat{C}_t^{Obs}} &= 9,818 \times 10^{-6} \frac{g^2}{L^2} \end{aligned} \quad (5.12)$$

Volumen:

$$\begin{aligned} \%E_{\widehat{V}_t^{Obs}} &= 100 \times \sum_{k=1}^N \left[\widehat{V}_t^{Obs} - V_t^{Exp} \right]^2 \\ \%E_{\widehat{V}_t^{Obs}} &= 0,4589 L^2 \end{aligned} \quad (5.13)$$

con X_t^{Exp} y \widehat{X}_t^{Obs} valor de la concentración de biomasa experimental y la extimada en la estructura del NOD en el tiempo k y N al final del tiempo de fermentación y de manera semejante para el resto de los estados.

Estimador para la velocidad específica de crecimiento

La desviación de la velocidad específica de crecimiento estimada, $\widehat{\mu}_t^{Obs}$, con respecto a la velocidad específica de crecimiento experimental, μ_t^{Exp} es

$$\begin{aligned} \%E_{\widehat{\mu}_t^{Obs}} &= 100 \times \sum_{k=1}^N \left[\widehat{\mu}_t^{Obs} - \mu_t^{Exp} \right]^2 \\ \%E_{\widehat{\mu}_t^{Exp}} &= 0,0001263 \frac{1}{h^2} \end{aligned} \quad (5.14)$$

con μ_t^{Exp} y $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ el valor de la velocidad específica de crecimiento experimental medida y estimada. Para $\widehat{\mu}_t^{Obs}$ esta dinámica fue estimada asumiendo que μ_t^{Obs} se tenía en línea, la que se obtuvo utilizando la dinámica de la biomasa observada, X_t^{Obs} .

Estimador para el coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $k_L a$

La variación para el coeficiente volumétrico de transferencia de masa estimado, $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ y el coeficiente volumétrico de transferencia de masa experimental, $k_L a_t^{Exp}$, es

$$\begin{aligned} \%E_{\widehat{k_L a_t}^{obs}} &= 100 \times \sum_{k=1}^N \left[\widehat{k_L a_t}^{obs} - k_L a_t^{Exp} \right]^2 \\ \%E_{\widehat{k_L a_t}^{Exp}} &= 0,1571 \frac{1}{h^2} \end{aligned} \quad (5.15)$$

con $k_L a_t^{Exp}$ y $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ el valor del coeficiente volumétrico de transferencia de masa medido y su estimado. La desviación en el proceso de estimación del parámetro estimado, $\widehat{k_L a_t}^{obs}$, para cada diseño en la Tabla 5.7 aplicando la definición (5.15) los resultados se resume en la Tabla 5.8.

Tabla 5.8 Desviación de $k_L a_t^{Exp}$ y $\widehat{k_L a_t}^{obs}$

Diseño	$\%E_{\widehat{k_L a_t}^{obs}}$
	h^{-2}
A	2.426
B	0.1571
C	0.3959
D	0.4232

Los resultados de la Tabla 5.8 confirman el hecho de que el diseño **B** se logra el mejor desempeño del estimador para $\widehat{k_L a_t}^{obs}$

5.9.16. Desempeño del estimador con perturbaciones

En los resultados anteriores correspondientes a la validación del algoritmo propuesto para estimar el parámetro $k_L a_t$ no se considero que los datos que entrego el sensor para oxígeno disuelto pueden estar afectados por posibles perturbaciones durante el proceso de medición. Para probar la robustez del algoritmo propuesto para estimar el parámetro $k_L a_t$, se considero que las mediciones de oxígeno disuelto en el medio de cultivo estaban afectadas por perturbaciones. La estructura del algoritmo propuesto para estimar el $k_L a_t$ se describio en (4.141-143). Para lo cual la principal consideración para el diseño del estimador fue asumir que las perturbaciones, $\epsilon_{y,t}$, durante el proceso de medición de oxígeno disuelto en el medio de cultivo, están disponibles en línea con C_t definida como $C_{m,t} = C_t + \epsilon_{y,t}$, donde la señal de perturbación utilizada, $\epsilon_{y,t}$, fue ruido blanco, es decir, una señal aleatoria (proceso estocástico) que se caracteriza porque sus valores de señal en dos instantes de tiempo diferentes no guardan correlación estadística. Como consecuencia de ello, su densidad espectral de potencia es una constante. La señal de ruido utilizada se muestra en la Figura 5.95

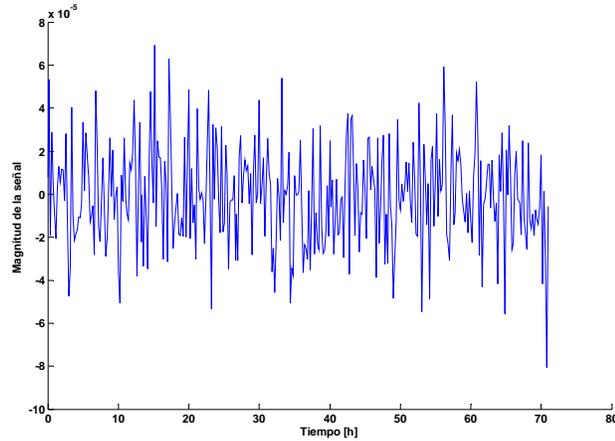


Figura 5-96: Señal de ruido blanco

La señal del ruido mostrada en la Figura 5-96 interfiere con la señal que entrega el sensor para oxígeno disuelto, ambas señales la señal del estado C_t cuando se considera que no hay perturbaciones y la señal afectada por la perturbación, $C_{m,t}$, se muestra en la Figura 5-97.

5.9. CORRIDA EXPERIMENTAL CDA-IBT: REACTOR LOTE (A. VINELANDII)139

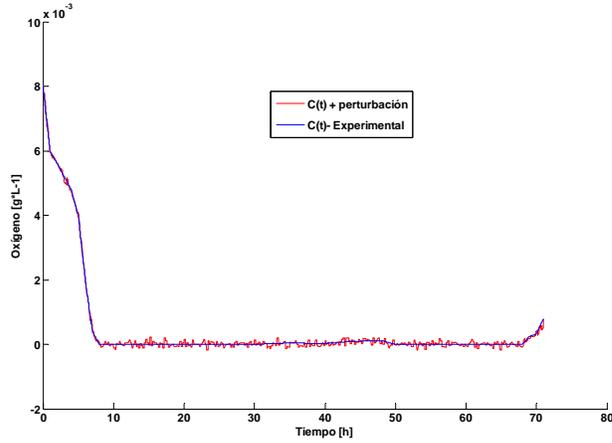


Figura 5-97 Observación de la desviación entre $C_{m,t}$ y \widehat{C}_t^{Obs}

Cuando se utiliz la señal $C_{m,t}$ para estimar el parámetro $k_L a$ en el algoritmo de estimación propuesto descrito por (4.141-143) se obtuvo el siguiente resultado.

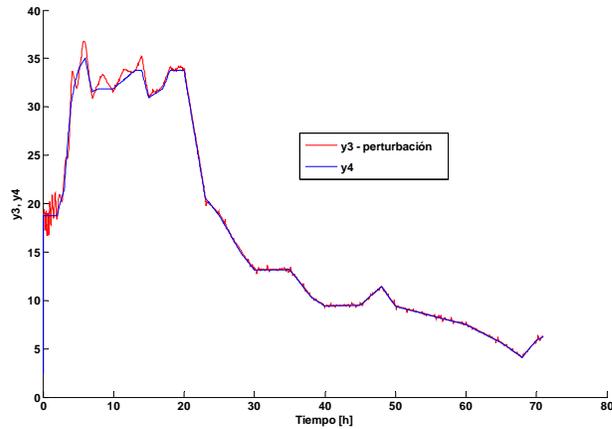


Figura 5-98 Evolución de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ y $k_L a_t^{Exp}$ en presencia de perturbaciones

En la Figura 5-98 se muestra la evolución simultanea de $\widehat{k_L a_t}^{obs}$ y $k_L a_t^{Exp}$, para esta dinámica las desviaciones entre los valores estimados y los valores experimentales fue de

$$\%E_{\widehat{k_L a_t}^{obs}} = 0,4248 \frac{1}{h^2}$$

para el resultado anterior el diseño de los parámetros C_1 y C_1 fueron los mismos que para el diseño **B** de la Tabla 5.8, sin embargo, el porciento de la desviación fue mayor en el caso de presencia de perturbaciones en la señal de medida para el

oxígeno disuelto en el medio de cultivo. Sin embargo, el valor obtenido continua siendo bastante aceptable.

Finalmente es importante hacer notar que el hecho de haber adicionado una señal de perturbación a la señal entregada por el sensor para oxígeno disuelto fue con la finalidad de mostrar la robustez del estimador propuesto, sin embargo, el diseño del neuro-observador basado en RND fue diseñado para ser robusto en presencia de perturbaciones.

Capítulo 6

Conclusiones Generales

En este trabajo se diseñó un estimador para medir el coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $k_L a$, en un biorreactor tipo tanque agitado. La estructura del algoritmo matemático o *software sensor* del estimador se diseñó aplicando redes neuronales diferenciales (RND) y observadores no lineales.

Se determinó la prueba de estabilidad del estimador, basada en la teoría de estabilidad de Lyapunov, para los sistemas no lineales diseñados, este hecho asegura la estabilidad del *software sensor*.

El algoritmo matemático diseñado para estimar el parámetro $k_L a$ requirió del hecho de poder tener en línea la concentración de biomasa, X_t , y la velocidad específica de crecimiento, μ_t . Lo anterior fue resuelto utilizando la **RND** y el algoritmo de estimación para μ_t .

La accesibilidad a la dinámica completa del sistema (biorreactor) se logró aplicando el observador de estados basado en **RND**, es decir, la dinámica completa del biorreactor se construyó únicamente con un sólo estado disponible en línea en el biorreactor, donde el estado utilizado fue la concentración de oxígeno disuelto en el medio de cultivo, C_t .

La bondad del *software sensor* desarrollado fue que únicamente conociendo la dinámica de C_t en el medio de cultivo se pudo estimar el parámetro $k_L a$.

Se propuso este trabajo con el propósito declarado de tratar de diseñar un sensor virtual para estimar el parámetro $k_L a$, por tanto los objetivos que fueron propuestos al inicio de este trabajo, se cumplieron, mediante el desarrollo del *software sensor* para estimar el parámetro $k_L a$ en el biorreactor, este hecho quedó demostrado al validar el *software sensor* con datos experimentales para diferentes cultivos aerobios de *S. cerevisiae* y *A. vinelandii* (cultivos en reactor lote alimentado y lote respectivamente).

Para los cultivos de *A. vinelandii* el porcentaje de error fue de 1.4% y para los cultivos de *S. cerevisiae* de 7.1% o que permite sugerir que el estimador diseñado puede ser implementado en un biorreactor utilizando una tarjeta de adquisición de datos a través de la plataforma de MATLAB. Esto es la implementación en tiempo real del estimador en un biorreactor. Lo anterior requiere de utilizar una computadora personal (PC) para desarrollar las tareas asociadas a la lectura de

variables físicas provenientes del fermentador, es decir, el proceso de adquisición de datos a través de una tarjeta recolectora de datos. El programa que se puede utilizar para realizar la interfase entre la PC y el usuario, es el Real Time Windows Target (RTWT), perteneciente a la familia de programas del Real Time Workshop (RTW). Este es un Toolbox del sistema integrado de desarrollo conocido como MATLAB.

Finalmente, con la curva de aprendizaje adquirida en el desarrollo de este trabajo se pueden plantear los siguientes pasos a seguir en esta línea de investigación:

Diseñar un *software sensor* que sea más robusto para poder estimar el parámetro $k_L a$, utilizando más información disponible en el sistema que permita estimar el parámetro $k_L a$ a través de un sensor virtual.

Apéndices

.1. Apéndice 1: Medios de cultivo: *S. cerevisiae*

Se utilizaron los siguientes medios de cultivo para el desarrollo de la población microbiana los cuales se describen a continuación.

.1.1. Medio de conservación de la levadura

Las cepas se conservaron en tubos de agar inclinados, a 4° C, y se resiembran cada 4 a 6 meses. La composición del medio de conservación fue:

Glucosa 20g/L

Extracto de levadura 10g/L

Agar-agar 20g/L

.1.2. Medio de cultivo sintético

Los cultivos para el reactor lote alimentado se efectuaron utilizando un medio sintético con la siguiente composición:

Glucosa

Sulfato de amonio 15 g/L

Fosfato monobásico de potasio 7 g/L

Cloruro de calcio dihidratado 0.25 g/L

Cloruro de sodio 0.5 g/L

Cloruro de magnesio hexahidratado 6 g/L

Solución de minerales 10 mL/L

Solución de vitaminas 10 mL/L

pH 5.0

.1.3. Solución de minerales

Sulfato de hierro heptahidratado 278 mg

Sulfato de zinc heptahidratado 288 mg

Sulfato de cobre pentahidratado 7.5 mg

Milbdato de sodio dihidratado 25 mg

Cloruro de cobalto hexahidratado 25 mg

Sulfato de magnesio monohidratado 169 mg

Agua destilada aforar a 500 mL

.1.4. La solución de vitaminas

Biotina 1.5 mg
 Pantotenato de calcio 20 mg
 Inositol 125 mg
 Piridoxina 25 mg
 Agua destilada aforar a 500 mL

.1.5. Preparación del inóculo

El inóculo se desarrollo en un litro de medio sintético con 50 g/L de glucosa. El medio se inocula con biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* proveniente de los tubos de agar inclinado, y se incuba a 30° C con una velocidad de agitación de 250 rpm por 28 horas.

.2. Apéndice 2: Estimador para μ_t

En el presente apéndice se presenta el desarrollo matemático para demostrar la estructura del sistema de ecuaciones que describe la dinámica del error para el estimador de la velocidad específica de crecimiento, μ_t . Esta demostración esta referida cuando las mediciones de biomasa, X_t , (mediciones en línea, suposición fundamental) presentan perturbaciones o ruido, es decir, $\epsilon_{y,t} \neq 0$.

Nota: La dinámica del error para el algoritmo estimador de μ_t , tiene la siguiente estructura (sistema (4.107), (4.108)): $(\frac{d}{dt}x(t) = X_{m,t}Ax(t) + B(t)u(t))$, y en el capítulo 4 se asumió que las mediciones del ruido en la concentración de biomasa, $X_{m,t}$, están disponible en (4.106) de la forma $X_{m,t} = X_t + \epsilon_{y,t}$.

Si se definen los errores para la biomasa X_t y la velocidad específica de crecimiento μ_t como

$$\tilde{X}_t = X_t - \hat{X}_t \quad (1)$$

$$\tilde{\mu}_t = \mu_t - \hat{\mu}_t \quad (2)$$

y derivando los errores

$$\frac{d}{dt}\tilde{X}_t = \frac{d}{dt}X_t - \frac{d}{dt}\hat{X}_t \quad (3)$$

$$\frac{d}{dt}\tilde{\mu}_t = \frac{d}{dt}\mu_t - \frac{d}{dt}\hat{\mu}_t \quad (4)$$

Desarrollando (3):

$$\frac{d}{dt}\tilde{X}_t = \mu_t X_t - D_t X_t - \left[\hat{\mu}_t X_{m,t} - D_t X_{m,t} + C_1 X_{m,t} \left[X_{m,t} + \hat{X}_t \right] \right] \quad (5)$$

$$\frac{d}{dt}\tilde{X}_t = \mu_t X_t - \hat{\mu}_t X_{m,t} - D_t X_t + D_t X_{m,t} - C_1 X_{m,t} \left[X_{m,t} + \hat{X}_t \right] \quad (6)$$

por simplicidad los términos de (6) se agrupan de la forma siguiente:

$$\frac{d}{dt}\tilde{X}_t = \mu_t X_t - \hat{\mu}_t X_{m,t} \quad (7)$$

$$-D_t X_t + D_t X_{m,t} \quad (8)$$

$$-C_1 X_{m,t} [X_{m,t} + \hat{X}_t] \quad (9)$$

Desarrollando (7)

$$\frac{d}{dt}\tilde{X}_t = \mu_t X_t - \hat{\mu}_t X_{m,t} \quad (10)$$

$$= \mu_t (X_{m,t} - \epsilon_{y,t}) - \hat{\mu}_t X_{m,t} \quad (11)$$

$$= \tilde{\mu}_t X_{m,t} - \mu_t \epsilon_{y,t} \quad (12)$$

Ahora desarrollamos (8)

$$-D_t X_t + D_t X_{m,t} \quad (13)$$

$$+D_t \epsilon_{y,t} \quad (14)$$

y para (9)

$$-C_1 X_{m,t} [X_{m,t} + \hat{X}_t] \quad (15)$$

$$-C_1 X_{m,t} \epsilon_{y,t} - C_1 X_{m,t} \tilde{X}_t \quad (16)$$

Con los resultados de (7), (8) y (9), Entonces (6) tiene la forma siguiente:

$$\frac{d}{dt}\tilde{X}_t = \tilde{\mu}_t X_{m,t} - \mu_t \epsilon_{y,t} + D_t \epsilon_{y,t} - C_1 X_{m,t} \epsilon_{y,t} - C_1 X_{m,t} \tilde{X}_t \quad (17)$$

Finalmente se desarrolla (4):

$$\frac{d}{dt}\tilde{\mu}_t = \frac{d}{dt}\mu_t - C_2 X_{m,t} [X_{m,t} + \hat{X}_t] \quad (18)$$

$$= \frac{d}{dt}\mu_t - C_2 X_{m,t} \epsilon_{y,t} - C_2 X_{m,t} \tilde{X}_t \quad (19)$$

Con el desarrollo de (17) y (19) la dinámica de error para el estimador es

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} \tilde{X}_t \\ \tilde{\mu}_t \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \tilde{\mu}_t X_{m,t} - \mu_t \epsilon_{y,t} + D_t \epsilon_{y,t} - C_1 X_{m,t} \epsilon_{y,t} - C_1 X_{m,t} \tilde{X}_t \\ \frac{d}{dt}\mu_t - C_2 X_{m,t} \epsilon_{y,t} - C_2 X_{m,t} \tilde{X}_t \end{bmatrix} \quad (20)$$

El sistema (20) (dinámica del error) se expresa de la forma matricial siguiente:

$$\frac{d}{dt}x(t) = X_{m,t} A x(t) + B(t)u(t) \quad (21)$$

Con

$$x(t) = \begin{bmatrix} \tilde{X}_t \\ \tilde{\mu}_t \end{bmatrix}^T \quad (22)$$

$$J = \frac{\partial [x(t)]}{\partial [\tilde{X}_t, \tilde{\mu}_t]} = A = \begin{bmatrix} -C_1 X_{m,t} & X_{m,t} \\ -C_2 X_{m,t} & 0 \end{bmatrix} \quad (23)$$

$$= X_{m,t} A = X_{m,t} \begin{bmatrix} -C_1 & 1 \\ -C_2 & 0 \end{bmatrix} \quad (24)$$

$$J = \frac{\partial [x(t)]}{\partial [\epsilon_{y,t}, \mu_t]} = B(t) = \begin{bmatrix} D_t - \mu_t - C_1 X_{m,t} & 0 \\ -C_2 X_{m,t} & 1 \end{bmatrix} \quad (25)$$

$$u(t) = \begin{bmatrix} \epsilon_{y,t} \\ \frac{d}{dt} \mu_t \end{bmatrix} \quad (26)$$

La estructura de (21) es la misma estructura para el algoritmo para el estimador (4.109).

.3. Apéndice 3: Estimador para $k_L a_t$

La demostración matemática de la dinámica del error (4.144) para el algoritmo del estimador para estimar el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno, $k_L a_t$, se desarrolla a continuación. Esta demostración esta referida cuando las mediciones de oxígeno, C_t , (mediciones en línea, suposición fundamental) presentan perturbaciones o ruido, es decir, $\epsilon_{y,t} \neq 0$.

Nota: La dinámica del error para el diseño del estimador de $k_L a_t$ se defino en el capítulo 4 (sistema (4.144)) como $\frac{d}{dt} x(t) = [C^* - C_t] Ax(t) + B(t)u(t)$. Las perturbaciones en la medición del oxígeno disuelto en el medio de cultivo están definidas como $C_{m,t} = C_t + \epsilon_{y,t}$ (4.141)

Los errores se definen como:

$$\tilde{C}_t = C_t - \hat{C} \quad (27)$$

$$\widetilde{k_L a_t} = k_L a_t - \widehat{k_L a_t} \quad (28)$$

Derivando el error \tilde{C}_t :

$$\frac{d}{dt} \tilde{C}_t = \frac{d}{dt} C_t - \frac{d}{dt} \hat{C} \quad (29)$$

Desarrollando cada término de (29)

$$\frac{d}{dt} \tilde{C}_t = k_L a_t [C^* - C_t] - OUR_t \quad (30)$$

$$- \left[\widehat{k_L a_t} [C^* - C_{m,t}] - OUR_t + C_1 [C^* - C_{m,t}] [C_{m,t} - \hat{C}_t] \right] \quad (31)$$

$$\frac{d}{dt} \tilde{C}_t = k_L a_t [C^* - C_t] - \widehat{k_L a_t} [C^* - C_{m,t}] \quad (32)$$

$$- C_1 [C^* - C_{m,t}] [C_{m,t} - \hat{C}_t] \quad (33)$$

Trabajando con los dos primeros términos en (32)

$$\frac{d}{dt} \widetilde{C}_t = k_L a_t [C^* - C_{m,t} - \epsilon_{y,t}] - \widehat{k}_L a_t [C^* - C_{m,t}] \quad (34)$$

$$-C_1 [C^* - C_{m,t}] [C_{m,t} - \widehat{C}_t] \quad (35)$$

$$\frac{d}{dt} \widetilde{C}_t = k_L a_t [C^* - C_{m,t}] + k_L a_t \epsilon_{y,t} - \widehat{k}_L a_t [C^* - C_{m,t}] \quad (36)$$

$$-C_1 [C^* - C_{m,t}] [C_{m,t} - \widehat{C}_t] \quad (37)$$

$$\frac{d}{dt} \widetilde{C}_t = \widetilde{k}_L a_t [C^* - C_{m,t}] + k_L a_t \epsilon_{y,t} \quad (38)$$

$$-C_1 [C^* - C_{m,t}] [C_{m,t} - \widehat{C}_t] \quad (39)$$

Ahora con el último término de (39)

$$\frac{d}{dt} \widetilde{C}_t = \widetilde{k}_L a_t [C^* - C_{m,t}] + k_L a_t \epsilon_{y,t} \quad (40)$$

$$-C_1 [C^* - C_{m,t}] [C_t - \widehat{C} + \epsilon_{y,t}] \quad (41)$$

$$\frac{d}{dt} \widetilde{C}_t = \widetilde{k}_L a_t [C^* - C_{m,t}] + k_L a_t \epsilon_{y,t} \quad (42)$$

$$-C_1 [C^* - C_{m,t}] \widetilde{C}_t - C_1 [C^* - C_{m,t}] \epsilon_{y,t} \quad (43)$$

Ahora derivamos $\widetilde{k}_L a_t$ (28) y desarrollando los términos de (44) de forma semejante a \widetilde{C}_t :

$$\frac{d}{dt} \widetilde{k}_L a_t = \frac{d}{dt} k_L a_t - \frac{d}{dt} \widehat{k}_L a_t \quad (44)$$

$$\frac{d}{dt} \widetilde{k}_L a_t = \frac{d}{dt} k_L a_t - [C_2 [C^* - C_{m,t}] [C_{m,t} - \widehat{C}_t]] \quad (45)$$

$$\frac{d}{dt} \widetilde{k}_L a_t = \frac{d}{dt} k_L a_t - C_2 [C^* - C_{m,t}] [C_t - \widehat{C} + \epsilon_{y,t}] \quad (46)$$

$$\frac{d}{dt} \widetilde{k}_L a_t = \frac{d}{dt} k_L a_t - C_2 [C^* - C_{m,t}] \widetilde{C}_t - C_2 [C^* - C_{m,t}] \epsilon_{y,t} \quad (47)$$

Con las expresiones para $\frac{d}{dt} \widetilde{C}_t$ y $\frac{d}{dt} \widetilde{k}_L a_t$ (42), (44) y (47) el sistema para la dinámica del error es:

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} \widetilde{C}_t \\ \widetilde{k}_L a_t \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \widetilde{k}_L a_t [C^* - C_{m,t}] + k_L a_t \epsilon_{y,t} - C_1 [C^* - C_{m,t}] \widetilde{C}_t - C_1 [C^* - C_{m,t}] \epsilon_{y,t} \\ \frac{d}{dt} k_L a_t - C_2 [C^* - C_{m,t}] \widetilde{C}_t - C_2 [C^* - C_{m,t}] \epsilon_{y,t} \end{bmatrix} \quad (48)$$

Entonces (48) se expresa en forma matricial en (49)

$$\frac{d}{dt}x(t) = [C^* - C_t] Ax(t) + B(t)u(t) \quad (49)$$

Entonces A , $B(t)$ y $u(t)$ tienen la forma siguiente:

$$A = \begin{bmatrix} -C_1 [C^* - C_{m,t}] & [C^* - C_{m,t}] \\ -C_2 [C^* - C_{m,t}] & 0 \end{bmatrix} \quad (50)$$

$$= [C^* - C_{m,t}] A = [C^* - C_{m,t}] \begin{bmatrix} -C_1 & 1 \\ -C_2 & 0 \end{bmatrix} \quad (51)$$

$$B(t) = \begin{bmatrix} k_L a_t - C_1 [C^* - C_{m,t}] & 0 \\ -C_2 [C^* - C_{m,t}] & 1 \end{bmatrix} \quad (52)$$

$$u(t) = \begin{bmatrix} \epsilon_{y,t} \\ \frac{d}{dt} k_L a_t \end{bmatrix} \quad (53)$$

Por tanto el sistema (49) es el mismo sistema en (44) con lo cual queda demostrado.

.4. Apéndice 4: Eigenvalores

Si $\lambda_1 < \lambda_2 < 0$, entonces

$$\int_0^t | \lambda_1 \exp(\lambda_1 s) - \lambda_2 \exp(\lambda_2 s) | ds \quad (54)$$

$$= \exp(\lambda_2 t) - \exp(\lambda_1 t) + 2 [\exp(\lambda_1 \psi) - \exp(\lambda_2 \psi)] \quad (55)$$

Con

$$\psi = \frac{\ln\left(\frac{\lambda_2}{\lambda_1}\right)}{\lambda_1 - \lambda_2}, \text{ para todo } t > \psi \quad (56)$$

Prueba: El valor de ψ definido por (56) es claramente el único valor tal que:

$$\lambda_1 \exp(\lambda_1 \psi) = \lambda_2 \exp(\lambda_2 \psi) \quad (57)$$

Entonces es fácil ver que:

$$\int_0^t | \lambda_1 \exp(\lambda_1 s) - \lambda_2 \exp(\lambda_2 s) | ds \quad (58)$$

$$= \int_0^\psi | \lambda_1 \exp(\lambda_1 s) - \lambda_2 \exp(\lambda_2 s) | ds \quad (59)$$

$$+ \int_\psi^t | \lambda_1 \exp(\lambda_1 s) - \lambda_2 \exp(\lambda_2 s) | ds \quad (60)$$

5. Apéndice 5: Sistema lineal de segundo orden

Se considera el sistema lineal de segundo orden:

$$\frac{d}{dt}x(t) = Ax(t) + b(t)u(t) \quad (61)$$

Con

$$x(t) = \begin{bmatrix} x_1(t) \\ x_2(t) \end{bmatrix} \quad (62)$$

$$A = \begin{bmatrix} -C_1 & 1 \\ -C_2 & 0 \end{bmatrix} \quad (63)$$

$$B(t) = \begin{bmatrix} b_1(t) \\ b_2(t) \end{bmatrix} \quad (64)$$

Asumiendo que $b_1(t)$ y $b_2(t)$ están acotadas:

$$|b_1(t)| \leq B_1, \quad |b_2(t)| \leq B_2 \quad (65)$$

y que la matriz A tiene eigenvalores distintos y reales $\lambda_1 < \lambda_2 < 0$ (por ejemplo, $C_2 = \frac{\alpha C_1^2}{4}$).

Entonces,

$$\limsup_{t \rightarrow \infty} |x_1(t)| \leq \frac{2B_1}{\lambda_1 - \lambda_2} \left\{ \begin{bmatrix} \lambda_1 \\ \lambda_2 \end{bmatrix}^{\left(\frac{\lambda_1}{\lambda_1 - \lambda_2}\right)} - \begin{bmatrix} \lambda_1 \\ \lambda_2 \end{bmatrix}^{\left(\frac{\lambda_1}{\lambda_1 - \lambda_2}\right)} \right\} + B_2 \frac{B_2}{\lambda_1 \lambda_2} \quad (66)$$

$$\limsup_{t \rightarrow \infty} |x_2(t)| \leq B_1 - \frac{\lambda_1 + \lambda_2}{\lambda_1 \lambda_2} B_2 \quad (67)$$

Prueba

La solución de $x(t)$ en (61) puede escribirse como sigue:

$$x(t) = PJ(t)P^{-1}x(0) + \int_0^t PJ(t-\tau)P^{-1}b(\tau) d\tau \quad (68)$$

con :

$$P = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ -\lambda_1 & -\lambda_2 \end{bmatrix} \quad (69)$$

El eigenvector de la matriz de A

$$P^{-1} = \frac{1}{\lambda_1 - \lambda_2} \begin{bmatrix} -\lambda_1 & 1 \\ -\lambda_2 & -1 \end{bmatrix} \quad (70)$$

$$J(t) = \begin{bmatrix} \exp(\lambda_1 t) & 0 \\ 0 & \exp(\lambda_2 t) \end{bmatrix} \quad (71)$$

Y la solución $x(t)$ en (68) es:

$$x_1(t) = \frac{1}{\lambda_1 - \lambda_2} \int_0^t \{(z_1 + z_2) b_1(\tau) + (z_3 + z_4) b_2(\tau)\} d\tau \quad (72)$$

Con

$$(z_1 + z_2) b_1(\tau) = (\lambda_1 \exp(\lambda_1 [t - \tau]) - \lambda_2 \exp(\lambda_2 [t - \tau])) b_1(\tau) \quad (73)$$

$$(z_3 + z_4) b_2(\tau) = (\exp \lambda_1 [t - \tau] - \lambda_2 \exp(\lambda_2 [t - \tau])) b_2(\tau) \quad (74)$$

$$x_2(t) = \frac{1}{\lambda_1 - \lambda_2} \int_0^t \{(z_5 + z_6) b_1(\tau) + (z_7 + z_8) b_2(\tau)\} d\tau \quad (75)$$

Con

$$(z_5 + z_6) b_1(\tau) = (\lambda_1 \lambda_2 [\exp(\lambda_2 [t - \tau]) - \exp(\lambda_1 [t - \tau])]) b_1(\tau) \quad (76)$$

$$(z_7 + z_8) b_2(\tau) = ([\lambda_1 \exp(\lambda_2 [t - \tau])] - \lambda_2 \exp(\lambda_1 [t - \tau])) b_2(\tau) \quad (77)$$

Es fácil ver que

$$\lambda_1 \exp(\lambda_1 [t - \tau]) - \lambda_2 \exp(\lambda_2 [t - \tau]) > 0 \quad (78)$$

$$[\lambda_1 \exp(\lambda_2 [t - \tau])] - \lambda_2 \exp(\lambda_1 [t - \tau]) > 0 \quad (79)$$

Ahora se analiza separadamente $x(t)_1$ y $x(t)_2$ usando ψ (56) y la desigualdad de *Cauchy-Schwartz*, tenemos de (72):

$$|x(t)_1| < \frac{1}{\lambda_1 - \lambda_2} \int_0^t \{z_9 + z_{10}\} d\tau \quad (80)$$

Con

$$z_9 = B_1 |\lambda_1 \exp(\lambda_1 [t - \tau]) - \lambda_2 \exp(\lambda_2 [t - \tau])| \quad (81)$$

$$z_{10} = B_2 [\exp(\lambda_1 [t - \tau]) - \exp(\lambda_2 [t - \tau])] \quad (82)$$

y utilizando el apéndice 3:

$$|x(t)_1| < (B_1 [z_{11} + z_{12}]) \quad (83)$$

$$z_{11} = [\exp(\lambda_2 t)] - \exp(\lambda_1 t) + 2 [\exp(\lambda_1 \psi)] \quad (84)$$

$$z_{12} = B_2 \left[\frac{1}{\lambda_1} (\exp(\lambda_1 t) - 1) - \frac{1}{\lambda_2} (\exp(\lambda_2 t) - 1) \right] \quad (85)$$

Por lo tanto, tomando el límite por la derecha de (80) para $t \rightarrow \infty$, se puede obtener la desigualdad (66).

De forma similar, usando (78) y (79)

$$|x(t)_1| < \frac{1}{\lambda_1 - \lambda_2} (z_{13} + z_{14} + z_{15}) \quad (86)$$

Con

$$z_{13} = B_1 \lambda_1 \lambda_2 \left[\frac{1}{\lambda_1} (\exp(\lambda_1 t) - 1) - \frac{1}{\lambda_2} (\exp(\lambda_2 t) - 1) \right] \quad (87)$$

$$z_{14} = B_2 \left[\frac{\lambda_1}{\lambda_2} (\exp(\lambda_2 t) - 1) - \frac{\lambda_2}{\lambda_1} (\exp(\lambda_1 t) - 1) \right] \quad (88)$$

Por lo tanto tomando el límite de (67) para $t \rightarrow \infty$, obteniendo la desigualdad

.6. Apéndice 6: Corolario A

Si se considera que C_2 seleccionada tal que:

$$C_2 = \alpha \frac{C_1^2}{4}, \quad 0 < \alpha < 1 \quad (89)$$

Entonces las expresiones

$$\limsup |x_1(t)| \leq \frac{2B_1}{C_1 \sqrt[2]{1-\alpha}} [\Psi_1 + \Psi_2] + \Psi_3 \quad (90)$$

con

$$\Psi_1 = \left\{ \frac{1 - \sqrt[2]{1-\alpha}}{1 + \sqrt[2]{1-\alpha}} \right\}^{-1} \left(\left[\frac{1 - \sqrt[2]{1-\alpha}}{2\sqrt[2]{1-\alpha}} \right] \right) \quad (91)$$

$$\Psi_2 = - \left\{ \frac{1 - \sqrt[2]{1-\alpha}}{1 + \sqrt[2]{1-\alpha}} \right\}^{-1} \left(\left[\frac{1 + \sqrt[2]{1-\alpha}}{2\sqrt[2]{1-\alpha}} \right] \right) \quad (92)$$

$$\Psi_3 = \frac{4}{\alpha C_1} B_2 \quad (93)$$

Prueba

$$\lambda_1 = \frac{-C_1}{2} [1 - \sqrt[2]{1-\alpha}] \quad (94)$$

$$\lambda_2 = \frac{-C_1}{2} [1 + \sqrt[2]{1-\alpha}] \quad (95)$$

.7. Apéndice 7: Solución de la ecuación de Lyapunov

En esta parte se presenta el desarrollo matemático para la solución de la ecuación de Lyapunov ($A^T P + PA + Q = 0$).

Se parte del hecho que $P > 0$ y $Q > 0$, es decir, las matrices P y Q son definidas positivas en (96)

$$A^T P + PA + Q = 0 \quad (96)$$

Supóngase que tenemos una matriz $Q > 0$. Para encontrar una matriz P apropiada, se utiliza

$$P = \int_0^\infty (e^{A\tau})^T Q e^{A\tau} d\tau \quad (97)$$

Notamos que

$$\frac{d}{dt} e^{A\tau} = A e^{A\tau} = e^{A\tau} A \quad (98)$$

$$\frac{d}{dt} (e^{At})^T Q e^{At} = (e^{At} A)^T Q e^{At} + (e^{At})^T Q (e^{At} A) \quad (99)$$

y relacionando (97) con (96) se tiene que

$$A^T P + PA = A^T \int_0^\infty (e^{A\tau})^T Q e^{A\tau} d\tau + \int_0^\infty (e^{A\tau})^T Q e^{A\tau} d\tau A \quad (100)$$

$$= \int_0^\infty (e^{A\tau} A)^T Q e^{A\tau} d\tau + \int_0^\infty (e^{A\tau})^T Q (e^{A\tau} A) d\tau \quad (101)$$

$$= \int_0^\infty \left[(e^{A\tau} A)^T Q e^{A\tau} + (e^{A\tau})^T Q (e^{A\tau} A) \right] d\tau \quad (102)$$

$$= \int_0^\infty \left[\frac{d}{dt} (e^{A\tau})^T Q e^{A\tau} \right] d\tau \quad (103)$$

Por el teorema fundamental de calculo, la integral de la derivada es justamente es la función evaluada en los limites. De esta manera tenemos

$$A^T P + PA = \left[(e^{A\tau})^T Q e^{A\tau} \right]_0^\infty \quad (104)$$

$$= (e^{A^\infty})^T Q e^{A(\infty)} - (e^{A^0})^T Q e^{A(0)} \quad (105)$$

El sistema es estable si y solo si $e^{A^\infty} = 0$. De esta manera tenemos

$$A^T P + PA = - (e^{A^0})^T Q e^{A(0)} = -(I) Q (I) = -Q \quad (106)$$

Entonces, queda demostrado (96).

.8. Apéndice 8: Prueba de la función de Lyapunov para la RND

En este apéndice se desarrolla la demostración de la ley de aprendizaje utilizada en la estructura del identificado de estados basado en redes neuronales.

$$\dot{\hat{x}} = A\hat{x}_t + W_{1,t}\sigma(\hat{x}_t) + W_{2,t}\phi(\hat{x}_t)\gamma(u(\hat{x}_t)) \quad (107)$$

ahora se suponemos que existe una red identifica al sistema de forma exacta expresada como

$$\dot{\hat{x}} = f(x_t, u_t) + \Delta f \quad (108)$$

$$\dot{\hat{x}} = Ax_t + W_{1,t}^*\sigma(x_t) + W_{2,t}^*\phi(x_t)\gamma(u(x_t)) + \Delta f$$

donde Δf se define como el error de modelado. El error se definio en (4.18) como

$$\Delta_t = \hat{x}_t - x_t$$

Derivando el error

$$\dot{\Delta}_t = \dot{\hat{x}}_t - \dot{x}_t \quad (109)$$

sustituyendo en (108 y 109) en (110)

$$\begin{aligned} \dot{\Delta}_t &= A\hat{x}_t + W_{1,t}\sigma(\hat{x}_t) + W_{2,t}\phi(\hat{x}_t)\gamma(u(\hat{x}_t)) \\ &\quad - [Ax_t + W_{1,t}^*\sigma(x_t) + W_{2,t}^*\phi(x_t)\gamma(u(x_t)) + \Delta f] \quad (110) \\ \dot{\Delta}_t &= A\Delta_t + W_{1,t}\sigma(\hat{x}_t) + W_{2,t}\phi(\hat{x}_t)\gamma(u(\hat{x}_t)) \\ &\quad - W_{1,t}^*\sigma(x_t) - W_{2,t}^*\phi(x_t)\gamma(u(x_t)) - \Delta f \end{aligned}$$

Definimos

$$\tilde{\sigma} : = \sigma(\hat{x}_t) - \sigma(x_t) \quad (111)$$

$$\tilde{\phi} : = \phi(\hat{x}_t) - \phi(x_t) \quad (112)$$

Reordenado términos y utilizando las definiciones

$$\dot{\Delta}_t = A\Delta_t + W_{1,t}\sigma(\hat{x}_t) - W_{1,t}^*\sigma(x_t) + W_{2,t}\phi(\hat{x}_t)\gamma(u(\hat{x}_t)) - W_{2,t}^*\phi(x_t)\gamma(u(x_t)) - \Delta f$$

La siguiente demostración se desarrolla para mostrar que la función de Lyapunov candidata definida en (4.36)

$$V_t = \Delta_t^T P \Delta_t + tr \left[\tilde{W}_{1,t}^T K_1^{-1} \tilde{W}_{1,t} \right] + tr \left[\tilde{W}_{2,t}^T K_2^{-1} \tilde{W}_{2,t} \right]$$

en la estructura de la ley de aprendizaje del estimador es una **Función de Lyapunov** $V[x]$ que cumple con las siguientes propiedades:

1. $V[\bar{x}] = 0$
2. $V[x] > 0$, para toda $x \neq \bar{x}$
3. $\dot{V}[x] < 0$, a lo largo de la trayectoria $\dot{x} = f(x)$, en el apéndice 7 se presenta la teoría de Estabilidad de Lyapunov.

Se parte del hecho que un sistema no lineal $\dot{x} = f(x_t, u_t, t)$ siempre se puede expresar alternativamente por un término conocido más un término desconocido en la siguiente forma:

Definimos un sistema no lineal de la forma

$$\dot{x} = f(x, u) \quad (113)$$

definimos una red

$$\dot{x} = A\hat{x} + W_{1,t}\sigma(\hat{x}) + W_{2,t}\phi(\hat{x})\gamma(u_t) \quad (114)$$

ahora supones que existe una red que se ajusta al sistema con la siguiente forma

$$\dot{x} = f(x, u) = Ax + W_1^* \sigma(x) + W_2^* \phi(x) \gamma(u_t) + \Delta f \quad (115)$$

donde Δf es el error de modelado definido como

$$\dot{x} = f(x, u) - Ax - W_1^* \sigma(x) - W_2^* \phi(x) \gamma(u_t) \quad (116)$$

Las cotas a utilizar son las siguientes:

$$\tilde{\sigma}^T \Lambda \tilde{\sigma} \leq \Delta_t^T D_T \Delta_t \quad (117)$$

$$\tilde{\sigma} = \sigma(\hat{x}) - \sigma(x) \quad (118)$$

$$\gamma(u_t)^T \tilde{\phi}^T(\hat{x}_t) \Lambda \gamma(u_t) \tilde{\phi}(\hat{x}_t) \leq \Delta_t^T D_\phi \Delta_t \|\gamma(u)\|^2 \leq \bar{u} \quad (119)$$

$$\tilde{\sigma} = \sigma(\hat{x}) - \sigma(x) \quad (120)$$

$$\tilde{\phi} = \phi(\hat{x}) - \phi(x)$$

$$W_1^* \Lambda W_1^* \leq \bar{W}_1$$

$$W_2^* \Lambda W_2^* \leq \bar{W}_2$$

La ecuación de Riccati

$$PA + A^T P + PRP + Q_0 = 0$$

el error se define como sigue

$$\Delta_t = \hat{x} - x$$

y derivando el error

$$\dot{\Delta}_t = \dot{\hat{x}} - \dot{x}$$

sustituyendo en la ecuación anterior

$$\dot{\Delta}_t = A\hat{x} + W_{1,t}\sigma(\hat{x}) + W_{2,t}\phi(\hat{x})\gamma(u_t) - [Ax + W_1^*\sigma(x) + W_2^*\phi(x)\gamma(u_t) + \Delta f]$$

agrupando términos

$$\dot{\Delta}_t = A(\hat{x} - x) + W_{1,t}\sigma(\hat{x}) + W_{2,t}\phi(\hat{x})\gamma(u_t) - W_1^*\sigma(x) - W_2^*\phi(x)\gamma(u_t) - \Delta f$$

$$\dot{\Delta}_t = A\Delta_t + W_{1,t}\tilde{\sigma} + W_{1,t}\sigma(x_t) + W_{2,t}\tilde{\phi}\gamma(u_t) + W_{2,t}\phi(x_t)\gamma(u_t) - W_1^*\phi(x_t) - W_2^*\phi(x_t)\gamma(u_t) - \Delta f$$

$$\dot{\Delta}_t = A\Delta_t + W_{1,t}\tilde{\sigma} + \tilde{W}_{1,t}\sigma(x_t) + W_{2,t}\tilde{\phi}\gamma(u_t) + \tilde{W}_{2,t}\phi(x_t)\gamma(u_t) - \Delta f$$

De la función de Lyapunov candidata

$$V_t = \Delta_t^T P \Delta_t + tr \left[\tilde{W}_1^T K_1^{-1} \tilde{W}_1 \right] + tr \left[\tilde{W}_2^T K_2^{-1} \tilde{W}_2 \right]$$

se derivando

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} V_t &= \dot{\Delta}_t^T P \Delta_t + \Delta_t^T P \dot{\Delta}_t + tr \left[\dot{\widetilde{W}}_1^T K_1^{-1} \widetilde{W}_1 + \widetilde{W}_1^T K_1^{-1} \dot{\widetilde{W}}_1 \right] + tr \left[\dot{\widetilde{W}}_2^T K_2^{-1} \widetilde{W}_2 + \widetilde{W}_2^T K_2^{-1} \dot{\widetilde{W}}_2 \right] \\ \frac{d}{dt} V_t &= 2\Delta_t^T P \dot{\Delta}_t + 2tr \left[\dot{\widetilde{W}}_1^T K_1^{-1} \widetilde{W}_1 \right] + 2tr \left[\dot{\widetilde{W}}_2^T K_2^{-1} \widetilde{W}_2 \right] \end{aligned}$$

trabajando con $2\Delta_t^T P \dot{\Delta}_t$ y al sustituir $\dot{\Delta}_t$ se tiene

$$\begin{aligned} 2\Delta_t^T P \dot{\Delta}_t &= 2\Delta_t^T P \left[A\Delta_t + W_{1,t}\tilde{\sigma} + \widetilde{W}_{1,t}\sigma(x_t) + W_{2,t}\tilde{\phi}\gamma(u_t) + \widetilde{W}_{2,t}\phi(x_t)\gamma(u_t) - \Delta f \right] \\ &= 2\Delta_t^T P A \Delta_t + 2\Delta_t^T P W_{1,t}\tilde{\sigma} + 2\Delta_t^T P \widetilde{W}_{1,t}\sigma(x_t) \\ &\quad + 2\Delta_t^T P W_{2,t}\tilde{\phi}\gamma(u_t) + 2\Delta_t^T P \widetilde{W}_{2,t}\phi(x_t)\gamma(u_t) - 2\Delta_t^T P \Delta f \end{aligned}$$

Por comodidad identificamos cada uno de los términos como sigue

$$\begin{aligned} \Delta_t^T P \dot{\Delta}_t &= \\ 2\Delta_t^T P A \Delta_t &\quad \text{a)} \\ +2\Delta_t^T P W_{1,t}\tilde{\sigma} &\quad \text{b)} \\ +2\Delta_t^T P \widetilde{W}_{1,t}\sigma(x_t) &\quad \text{c)} \\ +2\Delta_t^T P W_{2,t}\tilde{\phi}\gamma(u_t) &\quad \text{d)} \\ +2\Delta_t^T P \widetilde{W}_{2,t}\phi(x_t)\gamma(u_t) &\quad \text{e)} \\ +2\Delta_t^T P \Delta f &\quad \text{f)} \end{aligned}$$

desarrollamos b)

$$2\Delta_t^T P A \Delta_t$$

como

$$[\Delta_t^T P A \Delta_t]^T = \Delta_t^T P A \Delta_t$$

utilizando la siguiente desigualdad matricial

$$X^T + (X^T Y)^T \leq X^T \Lambda^{-1} X + Y^T \Lambda Y$$

Hacemos la selección de la forma

$$\begin{aligned} Y &= \tilde{\sigma} \\ X^T &= \Delta_t^T P W_{1,t} \end{aligned}$$

entonces

$$\begin{aligned} 2\Delta_t^T P W_{1,t} &\leq \Delta_t^T P W_{1,t} \Lambda^{-1} + \tilde{\sigma}^T \Lambda \tilde{\sigma} \\ &\leq \Delta_t^T (P W_{1,t} \Lambda^{-1} W_{1,t}^T P) \Delta_t + \tilde{\sigma}^T \Lambda \tilde{\sigma} \\ &\leq \Delta_t^T (P \overline{W}_1 P) \Delta_t + \Delta_t^T D_t \Delta_t \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& 2\Delta_t^T P W_{2,t} \tilde{\phi} \gamma(u_t) \\
X &= \Delta_t^T P W_{2,t} \\
Y &= \tilde{\phi} \gamma(u_t) \\
2\Delta_t^T P W_{2,t} \tilde{\phi} \gamma(u_t) &\leq \Delta_t^T P W_{2,t} + \Lambda^{-1} (\Delta_t^T P W_{2,t})^T + (\tilde{\phi} \gamma(u_t))^T \Lambda \tilde{\phi} \gamma(u_t) \\
&\leq \Delta_t^T (P \bar{W}_2 P) \Delta_t + \tilde{\phi} \Lambda \phi \|\gamma(u_t)\|^2 \\
&\leq \Delta_t^T (P \bar{W}_2 P) \Delta_t + \Delta_t D_\phi \Delta_t \bar{u}
\end{aligned}$$

c)

$$\begin{aligned}
& 2\Delta_t^T P \tilde{W}_{1,t} \sigma(x_t) \\
2\Delta_t^T P \tilde{W}_{1,t} \sigma(x_t) &= 2tr \left[P \Delta_t \sigma(\hat{x}_t) \tilde{W}_{1,t} \right]
\end{aligned}$$

d)

$$\begin{aligned}
& 2\Delta_t^T P W_{2,t} \tilde{\phi} \gamma(u_t) \\
2\Delta_t^T P W_{2,t} \tilde{\phi} \gamma(u_t) &= 2tr \left[P \Delta_t \gamma(u_t)^T \phi(\hat{x}_t)^T \tilde{W}_{2,t} \right]
\end{aligned}$$

de la función de candidata de Lyapunov

$$\begin{aligned}
& \leq \Delta_t^T A^T P \Delta_t + \Delta_t^T P A \Delta_t + \Delta_t^T P A \Delta_t + \Delta_t^T (P \bar{W}_1 P) \Delta_t \\
& + D_\sigma \Delta_t + \Delta_t (P \bar{W}_2 P) \Delta_t + \Delta_t^T D_\phi \Delta_t \tilde{u} \\
& + 2tr \left[\begin{array}{c} \bullet \\ \tilde{W}_{1,t} \end{array} K_1^{-1} \tilde{W}_{1,t} + P \Delta_t \sigma(\hat{x}_t) \tilde{W}_{1,t} \right] \\
& + 2tr \left[\begin{array}{c} \bullet \\ \tilde{W}_{2,t} \end{array} K_2^{-1} \tilde{W}_{2,t} + P \Delta_t \gamma(u_t)^T \phi(\hat{x}_t) \tilde{W}_{2,t} \right]
\end{aligned}$$

factorizando Δ_t y Δ_t^T

$$\begin{aligned}
\dot{V} &\leq \Delta_t^T [A^T P + P A + P (\bar{W}_1 + \bar{W}_2) P + D\phi + D\sigma + Q_0] \Delta_t^T - \Delta_t^T Q_0 \Delta_t \\
& + 2tr \left[\begin{array}{c} \bullet \\ \tilde{W}_{1,t} \end{array} K_1^{-1} + P \Delta_t \sigma(\hat{x}_t) \right] \tilde{W}_{1,t} \\
& + 2tr \left[\begin{array}{c} \bullet \\ \tilde{W}_{2,t} \end{array} K_2^{-1} + P \Delta_t \gamma(u_t)^T \phi(\hat{x}_t) \right] \tilde{W}_{2,t} \\
& 2tr \left[\begin{array}{c} \bullet \\ \tilde{W}_{1,t} \end{array} K_1^{-1} + P \Delta_t \sigma(\hat{x}_t) \right] \tilde{W}_{1,t} = 0 \\
& \begin{array}{c} \bullet \\ \tilde{W}_{1,t} \end{array} K_1^{-1} + P \Delta_t \sigma(\hat{x}_t) = 0
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\dot{\widetilde{W}}_{1,t}^T &= -K_1 [P\Delta_t\sigma(\widehat{x}_t)]^T \\
+2tr \left[\left[\dot{\widetilde{W}}_{2,t}^T K_2^{-1} + P\Delta_t\gamma(u_t)^T \phi(\widehat{x}_t) \right] \widetilde{W}_{2,t} \right] &= 0 \\
\dot{\widetilde{W}}_{2,t}^T K_2^{-1} + P\Delta_t\gamma(u_t)^T \phi(\widehat{x}_t) &= 0 \\
\dot{\widetilde{W}}_{2,t} &= -K_2 \left[P\Delta_t\gamma(u_t)^T \phi(\widehat{x}_t) \right]^T
\end{aligned}$$

Finalmente se encuentra la ley de aprendizaje para la función de Lyapunov propuesta, la cual se definió previamente en (4.16-17)

.9. Apéndice 9: Teoría de Estabilidad de Lyapunov

El concepto de estabilidad de acuerdo a Lyapunov ha tenido muchas aplicaciones en sistemas de control; de hecho toda la teoría de sistemas dinámicos esta basada en los métodos de Lyapunov.

.9.1. Teoría de estabilidad de Lyapunov

Definición A (función definida positiva)

Una función W diferenciable continuamente: $\mathfrak{R}^n \rightarrow \mathfrak{R}_+$ se dice que es una función definida positiva en la region U de \mathfrak{R}^n que contiene el origen si **(1)** $W(0) = 0$ y **(2)** $W(x) > 0$ para $x \in U$ y $x \neq 0$. $W(x)$ es semidefinida positiva si $W(x) \geq 0$ para $x \in U$ y $x \neq 0$.

Convenientemente, si la condición **(2)** en la Definición A es remplazada por $W(x) < 0$, entonces $W(x)$ se dice que es semidefinida negativa. $W(x)$ se dice que es semidefinida positiva si $W(x) \leq 0$.

Definición B (diferenciabilidad continua)

Una función $f(x, t)$ donde $f : U \times [a, b] \rightarrow \mathfrak{R}^m$ para un dominio $U \subset \mathfrak{R}^n$ se dice que continuamente diferenciable al rededor de $U \times [a, b]$ si ambas $f(x, t)$ y $[\partial f / \partial x](x, t)$ son continuas sobre $U \times [a, b]$.

Nótese que la diferenciabilidad continua al rededor de un dominio implica la propiedad local de Lipschitz.

.9.2. Matriz definida positiva

Una matriz $n \times n$, $Q = Q^T$, se dice que es definida positiva, para todo $x \in \mathfrak{R}^n$, $f(x) = x^T Q x$ es una función definida positiva.

Una matriz definida positiva es una matriz especial y aparece de diferentes formas en sistemas y teoría de control. Se puede mostrar que una matriz definida positiva tiene las siguientes propiedades:

1. Todos los eigenvalores de una matriz definida positiva son reales
2. Todos los eigenvalores de una matriz definida positiva son positivos
3. Los eigenvalores de una matriz definida positiva son ortogonales. Una consecuencia de esto es que existe una matriz unitaria, U , tal que $\Lambda = U^T Q U$ es una matriz diagonal de eigenvalores de Q y donde $U U^T = U^T U = I$
4. Una matriz definida positiva puede ser factorizada (factorización Cholesky): $Q = F^T F$ para alguna matriz F

Por tanto, cualquier matriz simétrica con todos los eigenvalores positivos es una matriz definida positiva. Dada una matriz

$$Q = \begin{bmatrix} q_{11} & q_{12} \\ q_{21} & q_{22} \end{bmatrix} \quad (121)$$

esta matriz es definida positiva si y solo si (i) $q_{11} > 0$, (ii) $q_{12} = q_{21}$, (iii) $q_{22} = \frac{q_{21}^2}{q_{11}}$. La condición (ii) asegura que la matriz es simétrica, condiciones (i) y (iii) aseguran que la matriz Q es definida positiva.

.9.3. Función definida positiva

Una función $f(x)$ se dice que es positiva si (i) $f(x) \geq 0$ para toda x , $f(x) = 0$ si y sólo si $x = 0$.

.9.4. Función definida negativa

Una función definida negativa, $f(x)$, se dice que es definida negativa si (i) $f(x) \leq 0$ para toda x , (ii) $f(x) = 0$ si y sólo si $x = 0$.

.9.5. Funciones de Lyapunov

Un sistema no lineal se representa por

$$\frac{d}{dt}x = \dot{x} = f(x) \quad (122)$$

Se define un punto de equilibrio como \bar{x} , con

$$f(\bar{x}) = 0 \quad (123)$$

\bar{x} es estable en el sentido de Lyapunov si existe una cantidad positiva ϱ tal que para toda $\delta = \delta(\varrho)$, se tiene que

$$|x(t_{=0}) - \bar{x}| < \delta \implies |x - \bar{x}| < \varrho \quad (124)$$

para toda $t > t_{=0}$, se establece que \bar{x} es asintóticamente estable si esta es estable y

$$|x - \bar{x}| \rightarrow 0 \text{ como } t \rightarrow \infty \quad (125)$$

Por otro lado \bar{x} es inestable si esta no es estable.

Para determinar la estabilidad o la inestabilidad de \bar{x} se dispone de dos métodos principales: método indirecto de Lyapunov y método directo de Lyapunov.

.9.6. Método indirecto de Lyapunov

El *método indirecto de Lyapunov* requiere la linealización del sistema no lineal, $\dot{x} = f(x)$. La expansión de la serie de Taylor al rededor \bar{x} (redefiniendo $x \rightarrow x - \bar{x}$),

$$\dot{x} = Ax + g(x), \quad (126)$$

$$A = \frac{\partial}{\partial x} [f]_{\bar{x}}, \quad (127)$$

A es la matriz jacobiana de $f(x)$, y $g(x)$ contiene los términos de mayor orden de la serie de Taylor;

$$\lim_{|x| \rightarrow 0} \frac{|g(x)|}{|x|} = 0 \quad (128)$$

Entonces el sistema no lineal $\dot{x} = f(x)$ es asintóticamente estable si y sólo si el sistema lineal $\dot{x} = Ax$, todos los eigenvalores de A tienen parte real negativa.

Una desventaja del método es que si alguno de los eigenvalores de A son cero y el resto tienen parte real negativa, entonces, no es posible sacar alguna conclusión sobre el sistema no lineal, pero la mayor desventaja es que el método requiere la linealización del sistema $\dot{x} = f(x)$, esta linealización del sistema es aplicada para situaciones cuando las condiciones iniciales están muy cercanas al punto de equilibrio.

.9.7. Método directo de Lyapunov

El segundo método es el *método directo de Lyapunov*; este es una generalización del concepto Lagrange de estabilidad de energía potencial mínima. Considere el sistema no lineal $\dot{x} = f(x)$. Suponemos que existe una función, llamada **Función de Lyapunov**, $V[x]$ con las siguientes propiedades:

1. $V[\bar{x}] = 0$
2. $V[x] > 0$, para toda $x \neq \bar{x}$
3. $\dot{V}[x] < 0$, a lo largo de la trayectoria $\dot{x} = f(x)$

Entonces, \bar{x} es asintóticamente estable. Se puede ver que el método infiere sobre la existencia de una **Función de Lyapunov**, la cual es una función de energía, cero en el equilibrio, definida positiva por todas partes también, y continuamente decreciente cuando se aproxima al equilibrio. Debe notarse que la derivada $\dot{V}[x]$ es entendida como la diferencial total a lo largo de la curva solución de $\dot{x} = f(x)$:

$$\begin{aligned} \dot{V}[x] &= \frac{\partial}{\partial x} V \cdot \frac{d}{dt} x \\ &= \frac{\partial}{\partial x} V \cdot f(x) \\ &= \frac{\partial}{\partial x_1} V \cdot f_1 + \frac{\partial}{\partial x_2} V \cdot f_2 + \dots + \frac{\partial}{\partial x_n} V \cdot f_n \end{aligned} \quad (129)$$

el método tiene varias ventajas:

- ◆ responde a las preguntas de estabilidad de sistemas no lineales,
- ◆ puede fácilmente tratar sistemas variantes en el tiempo $\dot{x} = f(x, t)$,
- ◆ puede determinar la estabilidad asintótica, así como también estabilidad sencilla,
- ◆ puede determinar la región de estabilidad asintótica o el dominio de atracción de un equilibrio. La prueba del método directo de Lyapunov se presenta en el apéndice 6

La principal desventaja es que no existe una forma sistemática para obtener la **Función de Lyapunov**, esto es más un arte que ciencia.

.9.8. Sistemas autónomos

Para el caso de sistemas autónomos, el teorema de estabilidad de Lyapunov puede ser probada como sigue:

Teorema 1(Estabilidad de Lyapunov de sistemas autónomos). Para $\bar{x} = 0$ es un punto de equilibrio para un sistema descrito por:

$$\dot{x} = f(x) \quad (130)$$

donde $f : U \rightarrow \mathfrak{R}^n$ es localmente *Lipschitz* y $U \subset \mathfrak{R}^n$ un dominio que contiene el origen. $V : U \rightarrow \mathfrak{R}$ es una función diferenciable continua y definida positiva en U .

1. Si $\dot{V}[x] = [\partial V/\partial x] f$ es semidefinida negativa, entonces $\bar{x} = 0$ es punto de equilibrio estable.
2. Si $\dot{V}[x] = [\partial V/\partial x] f$ es definida negativa, entonces $\bar{x} = 0$ es un punto de equilibrio asintóticamente estable.

En ambos casos $V[x]$ es llamada una **Función de Lyapunov**. Además, si las condiciones se mantienen para toda $x \in \mathfrak{R}^n$ y $\|x\| \rightarrow \infty$ implica que $V[x] \rightarrow \infty$, entonces $\bar{x} = 0$ es globalmente estable en el caso 1 y globalmente asintóticamente estable en el caso 2.

Pero, siempre es posible encontrar una **Función de Lyapunov** para un sistema lineal de la forma:

$$\dot{x} = Ax \quad (131)$$

Seleccionando la **Función de Lyapunov** de forma cuadrática:

$$\begin{aligned} V[x] &= x^T P x \\ &= (Ax)^T P x + x^T P A x \\ &= x^T A^T P x + x^T P A x \\ &= x^T (A^T P + P A) x \\ &= x^T Q x \end{aligned} \quad (132)$$

Con

$$A^T P + PA + Q = 0 \quad (133)$$

Es la ecuación matricial de Lyapunov, si Q es una matriz definida positiva, entonces el sistema es asintóticamente estable.

El criterio para el análisis de estabilidad para una función $V[x]$ es el criterio de estabilidad de Lyapunov.

Una matriz A es una matriz estable para todos los eigenvalores de A , si y solo si para cualquier matriz (simétrica) semidefinida positiva Q existe una matriz (simétrica) definida positiva P que satisface

$$A^T P + PA = -Q \quad (134)$$

Bibliografía

- [1] B. McNeil and L. Harvey, *Fermentation a Practical Approach*. IRL at Press, 1990.
- [2] N. G. McDuffie, *Biorreactor Desing*. Butterworth-Heinemann, 1991.
- [3] J. I. J. P. I.J. Dunn, E. Heinzle, *Biological Reaction Engineering*. VCH Verlagsgesellschaft 1992, 1992.
- [4] W. L. Luyben, *Process Modeling, Simulation and Control for Chemical Engineers*. McGraw-Hill, 1990.
- [5] J. C. M. Juan A. Asenjo, *Biorreactor System Desing*. Merce Dekker, Inc., 1995.
- [6] C. O. M. T. A.I Galaction, D. Cascaval, "Prediction of oxygen mass transfer coefficients in stirred bioreactors for bacteria, yeasts and fungus broths," *Biochemical Engineering*, vol. 20, pp. 85–94, 2004.
- [7] A. T. R.I. Carbajal, "On the applicability of the dynamic pressure step method for kla determination in stirred newtonian and non-newtonian fluids, culture media and fermentation broths," *Biochemical Engineering*, vol. 18, pp. 185–192, 2004.
- [8] A. Z. Dimiter Hadjiev, Nour Eddine Sabiri, "Mixing time in bioreactors under aerated conditions," *Biochemical Engineering*, vol. 27, pp. 323–330, 2006.
- [9] O. T. R. Alvaro R. Lara, Enrique Galindo and L. A. Palomares, "Living with heterogenities in bioreactors," *Molecular Biotechnology*, pp. 355–382, 2006.
- [10] K. S. Qiang Hua, "Effect of dissolved oxygen concentration on the intracellular flux distribution for pyruvate fermentation," *Biotechnology*, vol. 68, pp. 135–147, 1999.
- [11] M. T. H. A. H.M. Yao, Y.C. Tian, "Variations and modelling of oxygen demand in amino acid production," *Chemical Engineering and Processing*, vol. 40, pp. 401–409, 2001.

- [12] M. A. C. O. Q. A. N. P. J. Wilson B. Aguiar Jr., Luís F.F. Faria, "Growth model and prediction of oxygen transfer-rate for xylitol production from d-xylose by *c. guilliermondii*," *Biochemical Engineering*, vol. 12, pp. 49–59, 2002.
- [13] E. G. O. T. R. Antonio de León, Vanessa Hernández, "Effects of dissolved oxygen tension on the production of recombinant penicillin acylase in *escherichia coli*," *ENZYME and MICROBIAL TECHNOLOGY*, vol. 33, pp. 689–697, 2003.
- [14] M. Sarrafzadeh and J. Navarro, "The effect of oxygen on the sporulation, endotoxin synthesis and toxicity of *bacillus thuringiensis h14*," *Microbiology & Biotechnology*, vol. 22, pp. 305–310, 2006.
- [15] C. B. P. Prasertsan, "Effect of aeration and agitation rates and scale-up on oxygen transfer coefficient, $k_L a$ in exopolysaccharide production from *enterobacter cloacae wd7*," *Carbohydrate Polymers*, vol. 66, pp. 216–228, 2006.
- [16] A. J. D. Jennifer V. Littlejohns, "Oxygen transfer in a gas-liquid system containing solids of varying oxygen affinity," *Chemical Engineering*, pp. 1–8, 2006.
- [17] C. P. A.-P. Zeng, T.-G.-Byun and W.-D. Deckwer, "Use of respiratory quotient as a control parameter for optimum oxygen supply and scale-up of 2,3-butanediol production under microaerobic conditions," *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 44, pp. 1107–1114, 1994.
- [18] T. M. M. Fijasová, V. Linek, "Mass transfer correlations for multiple-impeller gas-liquid contactors. analysis of the effect of axial dispersion in gas and liquid phases on "local" $k_L a$ values measured by the dynamic pressure method in individual stages of the vessel," *Chemical Engineering Science*, vol. 62, pp. 1650–1669, 2007.
- [19] B. I. M. Romain Lemoine, "An algorithm for predicting the hydrodynamic and mass transfer parameter in agitated reactors," *Chemical Engineering*, vol. 114, pp. 9–31, 2005.
- [20] A. B. P. Meenal S. Puthli, Virendra K. Rathod, "Gas-liquid mass transfer studies with triple impeller system on a laboratory scale bioreactor," *Biochemical Engineering*, vol. 23, pp. 25–30, 2005.
- [21] M. A. G. Francisco J. Montes, Jacinto Catalán, "Prediction of $k_L a$ in yeast broths," *Process Biochemistry*, vol. 34, pp. 549–555, 1999.
- [22] I. O. A. M. B. M. J. S. P. J. F. S. J.L. Casas López, E.M. Rodríguez Porcel and Y. Chisti, "Simultaneous determination of oxygen consumption rate and volumetric oxygen transfer coefficient in pneumatically agitated bioreactors," *American Chemical Society*, vol. 45, pp. 1167–1171, 2006.

- [23] N. F. B. S. D. D. D. B. L. Bodizs, M. Titica, "Oxygen control for an industrial pilot-scale fed-batch filamentous fungal fermentation," *Process Control*, vol. 17, pp. 595–606, 2007.
- [24] E. G. C. F. García-Ochoa, "Estimation of oxygen mass transfer coefficient in stirred tank reactors using artificial neural networks," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 28, pp. 560–569, 2001.
- [25] S. G. Salas, "Medición de los parámetros del coeficiente volumetrico de transferencia de oxígeno," Master's thesis, CINVESTAV-IPN, 2006.
- [26] E. S. Poznyak, A.S. and W. Yu, *Dynamic Neural Networks for Nonlinear Control: Identification, States Estimation and Trajectory Tracking*, N. Jersey, Ed. World Scientific, 2001.
- [27] C. K. A. Delgado, *Dynamic recurrent neural network for system identification and control*, IEEE, Ed. IEEE, 1995.
- [28] R.ñ. C. b. y. a. J. Matich, "Conceptos básicos y aplicaciones," *Facultad Reginal Rosario Departamento de Ingeniería química, Grupo de investigación a la Ingeniería Química*, vol. 1, pp. 6–30, 2001.
- [29] S. P. K., *Foundations of neural networks en Neural Networks Theory*, Technology and A. I. T. U. Series, Eds. IEEE, 1996.
- [30] H. S., *Neural networks a comprehensive foundations*. Prentice-Hall, 1999.
- [31] R. R., *Neural Networks a systematic Introduction*, EE.UU, Ed. Springer - Verlag, 1996.
- [32] T. Scheter, "Advances in biochemical engineering biotechnology," *Bionalysis and Biosensors for Bioprocess Monitoring*, vol. 66, pp. 3–36.
- [33] X. W. Fei Shang, Shaohong Wen and T. Tan, "High-cell-density fermentation for ergosterol production by *saccharomyces cerevisiae*," *The Society for Biotechnology*, vol. 101, pp. 38–41, 2006.
- [34] G. P. B. Ilse Y. Smets and J. F. V. Impe, "Feedback stabilization of fed-batch bioreactors: Non-monotonic growth kinetics," *Biotechnology Prog.*, vol. 18, pp. 1116–1125, 2008.
- [35] R. S. A. L. Stefan Gnoth, Marco Jenszch, "Control of cultivation processes for recombinant protein production: a review," *Springer-Verlag*, 2007.
- [36] A. V. W. F. Renard, "Robust adaptive control of yeast fed-batch cultures," *Computers & Chemical Engineering*, pp. 1–11, 2007.
- [37] G. L. Andreas Rudolf and G. Lidén, "Controlled pilot development unit-scale fed-batch cultivation of yeast on spruce hydrolysates," *Biotechnology Prog*, vol. 23, pp. 351–358, 2007.

- [38] E. J. e. a. Ilse Y. Smets, Johan E. Claes, "Optimal adaptive control of (bio)chemical reactors: past, present and future," *PROCESS CONTROL*, vol. 14, pp. 795–805, 2004.
- [39] G. Ellis, *Observers in control Systems*. ACADEMIC PRESS, 2002.
- [40] D. Dochain, "State and parameter estimation in chemical and biochemical processes: a tutorial," *Process Control*, vol. 13, pp. 801–818, 2003.
- [41] R. M. F. Adilson José de Assis, "Soft sensors development for on-line bioreactor state estimation," *Computers & Chemical Engineering*, vol. 24, pp. 1099–1103, 2000.
- [42] M. G. Frédéric Sauvage and D. Dochain, "Design of a nonlinear finite-time converging observer for a class of nonlinear systems," *Control Science and Engineering*, pp. 1–9, 2007.
- [43] A. G. González, "Observadores con proyección: desarrollo, análisis e implementación," Master's thesis, CINVESTAV-IPN, 2006.
- [44] A. V. W. Ph. Bogaerts, "Parameter identification for state estimation-application to bioprocess software sensors," *Chemical Engineering Science*, vol. 59, pp. 2465–2476, 2004.
- [45] C. G. Oscar A.Z. Sotomayor, Song Won Park, "Software sensor for on-line estimation of the microbial activity in activated sludge system," *ISA TRANSACTIONS*, vol. 41, pp. 127–143, 2002.
- [46] E. F. D. D. M. Perrier, S. Feyer de Azevedo, "Tuning of observer-based estimators: theory and applications to the on-line estimation of kinetic parameters," vol. 8, pp. 377–388, 2001.
- [47] G. v. S. Zita I.T.A. Soons, "Online automatic tuning and control for fed-batch cultivation," *Springer*, 2007.
- [48] V. L. Lorenzo Cazzador, "Nonlinear estimation of specific growth rate for aerobic fermentation processes," *BIOSCIENCE AND BIOENGINEERING*, vol. 47, pp. 626–632, 1995.
- [49] F. d. S. O. Lucia. Quintero. M, "Observadores de estados de un proceso de fermentación alcohólica en continuo mediante filtros de kalman extendido," 2005.
- [50] C. Santana, "Avances en el diagnóstico de la sepsis neonatal," *actitud Diagnóstico-Terapéutica*, vol. 28, pp. 90–92, 2004.
- [51] A. E. M. López and S. Alfaro, "Avances en inmunoterapia celular contra el melanoma maligno," *Med. Chile*, vol. 132, pp. 1115–1126, 2004.
- [52] J. C. A.I. Cabrera, J.S. Aranda, "Estimating the trehalose cytoplasmic content during a baker's yeast production process," *IFAC 2007*, 2007.

- [53] C. A. y. C. I. Miranda Hernández, R. F., “Hapatitis c dynamics’ estimation process by diferencial neural networks.” *Wold Congress On Computational Intelligence.*, 2006.
- [54] —, “Hapatitis c viral load control applying hamilton jacobi and sliding mode y techniques.” *Reserch In Cumputer Science-Neural Networks and Associative Memories*, pp. 25–35, 2006.
- [55] A. P. I. Chairez and T. Poznyak, “Bounded weights trajetories for neural network state estimation,” *Research in Computing Science*, vol. 21, pp. 13–24, 2006.
- [56] O. T. R. E. G. Rubén Priego-Jimenéz, Carlos Peña, “Specific growth rate determines the molecular mass of the alginate produce by azotobacter vinelandii,” *Biochemical Engineering*, vol. 25, pp. 187–193, 2005.
- [57] D. Dochain, “On-line parameter estimation adaptive state estimation and adaptive control of fermentation process,” Master’s thesis, UNIVERSITI CATHOLIQUE DE LOUVAIN, 1986.
- [58] D. B. B. Srinivasan, “Controllability and stability of repetitive batch processes,” *PROCESS CONTROL*, vol. 17, pp. 285–295, 2007.
- [59] F. M. Bernard Atkinson, *BIOCHEMICAL ENGINEERING AND BIOTECHNOLOGY HANDBOOK*. M-STOCTON PRESS, 1987.
- [60] J. S. A. Barradas, “Produccion de biomasse levurienne: Influence du procÉdÉ sur les potentialitÉs fermentaires des levures,” Master’s thesis, DOCTEUR DE L’INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE TOULOUSE, 1999.