

## Estimación de las tasas específicas de reacción en un proceso de producción de PHB

Virginia Mazzone \* Mariana Suarez \* Fabián Santillán \* Félix Safar \*  
Natalia Lorena Rojas \*\*,1

\* IACI, Universidad Nacional de Quilmes, Argentina (e-mail:  
vmazzone@unq.edu.ar)

\*\* IMBA, Universidad Nacional de Quilmes, Argentina (e-mail:  
lrojas@unq.edu.ar)

---

Resumen: Este trabajo propone soluciones a las problemáticas asociadas al control de procesos fermentativos, dado que en ellos la medición en línea de variables fundamentales suele ser técnicamente dificultosa o muy costosa. Esto genera importantes dificultades cuando se necesita controlar alguna de dichas variables.

En primer lugar, se obtiene el modelo para la producción de un biopolímero (PHB), proceso en el cual se estudia la estimación en línea de las velocidades específicas de reacción con coeficientes de rendimiento conocidos. Se proponen además observadores adaptativos, extendiendo el problema a la estimación conjunta de velocidad específica de reacción y estados no medibles.

*Keywords:* procesos fed-batch, producción de PHB, filtro de Kalman extendido.

---

### 1. INTRODUCCIÓN

Desde el punto de vista de la ingeniería de control, los bioprocesos presentan una gran cantidad de desafíos. En efecto, las reacciones biológicas suelen estar sometidas a perturbaciones externas, los biorreactores presentan comportamientos altamente no lineales, y la medición en línea de sus variables principales es dificultosa o muy costosa. En este contexto, el modelado, estimación de variables y control de los procesos biotecnológicos se torna relevante para las industrias y en consecuencia para el sistema productivo.

Entre los parámetros que presentan gran dificultad de medición en forma directa se encuentran las tasas específicas de reacción. Dado que las mismas son de interés para controlar, optimizar y monitorear el desempeño de un bioproceso es útil disponer de alguna técnica que permita estimarlas en base a la medición y/o estimación de otras variables disponibles. En este marco, puede utilizarse un observador de estados para proveer información en línea que permita estimar dinámicamente las velocidades específicas de reacción.

En cuanto a las técnicas de estimación, Bastin and Dochain (1990) desarrollan distintos métodos para procesos biotecnológicos, tales como observadores exponenciales y asintóticos, así como el filtro de Kalman extendido para el caso en que se conocen los coeficientes de rendimiento en la reacción biológica.

Por otra parte, las estrategias de control desarrolladas más recientemente, que combinan conceptos de control adaptativo con una realimentación no lineal del error estimado (Mazzone et al., 2008), ponen de manifiesto la necesidad de contar con estimaciones precisas de la variable controlada. El retardo introducido por los observadores

convencionalmente empleados para estos fines resulta en una seria limitación sobre el desempeño de lazo cerrado. En consecuencia, el diseño de observadores más eficientes permitirá una mejora en estos sistemas de control. Por ejemplo, observadores de alta ganancia para procesos biotecnológicos son propuestos por Dochain (2008), analizándose también la estimación recursiva de parámetros basada en un observador.

En lo que respecta a biorreactores discontinuos alimentados, trabajos recientes (De Battista et al., 2011) estiman la velocidad específica de crecimiento mediante observadores diseñados por la técnica de modos deslizantes de segundo orden. Por otra parte, aquellas investigaciones que se centran en el problema de rechazo de perturbaciones y disminución de sensibilidad al ruido en procesos continuos, tal como el de lodos activados para tratamiento de efluentes, han propuesto, entre otros, observadores de alta ganancia adaptivos (Methnani et al., 2011; Boizot et al., 2010) o de modos deslizantes (Nuñez et al., 2012). Una ventaja adicional de la implementación de observadores de alta ganancia (tipo filtro de Kalman extendido) para estos sistemas es que pueden utilizarse como generadores de residuos en la detección de fallas, (Suarez and Muravchik, 2001).

Una aplicación de los procesos biotecnológicos que ha cobrado gran importancia en los últimos años es la producción de biopolímeros a partir de microorganismos en cultivos tipo batch o batch alimentados, utilizando como sustrato recursos renovables. Entre ellos el *Polihidroxibutirato (PHB)*, un biopoliéster de la familia de los polihidroxialcanoatos (PHAs), ha sido considerado como posible sustituto de plásticos derivados del petróleo como el polietileno y el polipropileno. Los PHAs pueden ser completamente degradados bajo ciertas condiciones por un gran número de microorganismos en un período de meses y son sintetizados naturalmente por una amplia

---

<sup>1</sup> Investigador del CONICET

variedad de organismos, desde bacterias hasta plantas, utilizando recursos renovables. De esta manera, mientras que los plásticos derivados de hidrocarburos utilizan las escasas reservas petroquímicas del planeta, la producción de PHAs se basa en la utilización de recursos renovables. Sin embargo, los altos costos de producción de PHAs, en comparación con los plásticos convencionales, limitan su aplicación industrial. En este contexto, el desarrollo de estrategias avanzadas de control puede ser un aporte interesante a la optimización del proceso, minimizando costos de producción a través de la utilización de desechos industriales y maximizando la cantidad de producto final.

En este trabajo se propone un modelo matemático para la producción intracelular de PHB, derivado de uno más general para procesos biotecnológicos. Se desarrolla una técnica para la estimación de las tasas específicas de reacción en dicho bioproceso y se diseña con este propósito un observador de estados tipo filtro de Kalman extendido (*Extended Kalman Filter, EKF*).

## 2. MODELO DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN INTRACELULAR DE PHB

En esta sección se desarrolla la metodología utilizada para el modelado de procesos biotecnológicos en general, y en base a ella se obtiene el modelo para la producción de PHB utilizando la bacteria **DSM-545**, *Cupriavidus Necator* (*C. Necator*). En este caso, el biopolímero es producido bajo condiciones de crecimiento con limitación en ciertos nutrientes, y se acumula en gránulos como compuestos de reserva de carbono y energía.

Para simular el modelo propuesto se utilizarán datos experimentales provistos por el Laboratorio de Bioprocesos de la Universidad Nacional de Quilmes.

### 2.1 Modelo Dinámico de la producción de PHB

Básicamente un biorreactor es un tanque acondicionado en el que ocurren diversas reacciones biológicas de forma simultánea en medio líquido. En función de la existencia o no de flujos de entrada y/o salida, el biorreactor puede operarse en forma continua, semicontinua (batch alimentado) o discontinua (batch). En cualquiera de estos casos, una hipótesis fundamental del modelo es la de mezclado perfecto, que implica que la composición del medio en el interior del reactor es homogénea, evitando así la aparición de gradientes de concentración en el mismo.

Un diagrama esquemático de un biorreactor operando en modo batch alimentado se muestra en la Fig. 1.

donde

- $V$ : Volumen del medio de cultivo, [l].
- $F_{in}$ : Flujo de entrada al biorreactor, [g/l.h].
- $Q_{in}$ : Flujo de entrada de gases, [g/l.h].
- $Q_{out}$ : Flujo de salida de gases, [g/l.h].
- $S_{in}$ : Concentración del sustrato a la entrada del biorreactor, [g/l].
- $S$ : Concentración del sustrato en el biorreactor, [g/l].
- $X_o$ : Concentración de biomasa de entrada (inóculo), [g/l].
- $X$ : Concentración de biomasa, [g/l].

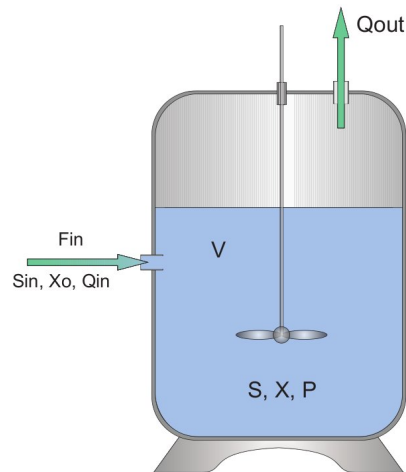


Figura 1. Biorreactor batch alimentado

- $P$ : Concentración de producto (metabólico), [g/l].

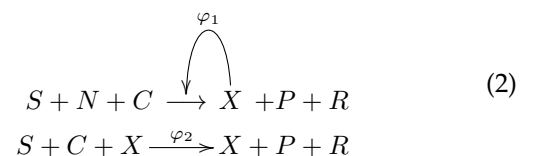
El modelo dinámico general para un bioproceso se basa en un conjunto de reacciones biológicas y en los balances de masa total y de cada componente para el sistema. De acuerdo a lo propuesto por Dochain (2008), el balance de materia para el componente  $\xi_i$  puede expresarse

$$\frac{d\xi_i}{dt} = \sum_{j \sim i} (\pm) k_{ij} \varphi_j + F_i - Q_i - D\xi_i \quad (1)$$

con

- $k_{ij}$ : coeficiente de rendimiento de  $\xi_i$  en la reacción  $j$ -ésima
- $\varphi_j$ : velocidad de la reacción  $j$ -ésima, [g/l.h]
- $F_i$ : flujo de entrada del componente  $i$ -ésimo, [g/l.h]
- $Q_i$ : flujo de salida del componente  $i$ -ésimo, [g/l.h]
- $D$ : factor de dilución, [h<sup>-1</sup>]

El esquema de reacción asociado a la producción de PHB por degradación de glucosa como fuente de carbono, puede representarse como dos reacciones que involucran seis componentes:



Las sustancias intervinientes son:

- $X$ : Concentración de biomasa residual (concentración celular sin el contenido de PHB, [g/l]).
- $S$ : Concentración de glucosa, [g/l].
- $N$ : Concentración de amonio ( $NH_4OH$ ), [g/l].
- $C$ : Concentración de  $O_2$  disuelto en el medio, [g/l].
- $P$ : Concentración de PHB, [g/l].
- $R$ : Concentración de  $CO_2$  disuelto en el medio, [g/l].

### 2.2 Reducción del Modelo Dinámico General

La expresión (1) aplicada al esquema de reacción para la producción de PHB dado por (2), resulta en un sistema de seis ecuaciones diferenciales ordinarias no lineales. Dada su complejidad matemática y los objetivos de modelado

en este caso, se plantea un modelo reducido que contemple la dinámica de interés.

Para ello se utiliza la técnica de perturbación singular desarrollada en Bastin and Dochain (1990), que resulta adecuada cuando las dinámicas de los sustratos y productos que no son de interés directo poseen baja solubilidad en fase líquida.

En este caso, tanto el oxígeno como el dióxido de carbono disueltos en el biorreactor tienen una solubilidad mucho menor, en condiciones normales de presión y temperatura, que la glucosa y el amoníaco. Por otro lado, el biorreactor provisto por el Laboratorio de Bioprocesos de la Universidad Nacional de Quilmes (Bioflo 3, New Brunswick Scientific) dispone de un controlador para  $O_2$  disuelto. Este se controla para que su nivel no descienda de un valor mínimo aceptable en el proceso. En efecto, la gráfica experimental de la Fig. 2 muestra que en la etapa de producción de PHB la concentración de  $O_2$  se encuentra en un valor constante.

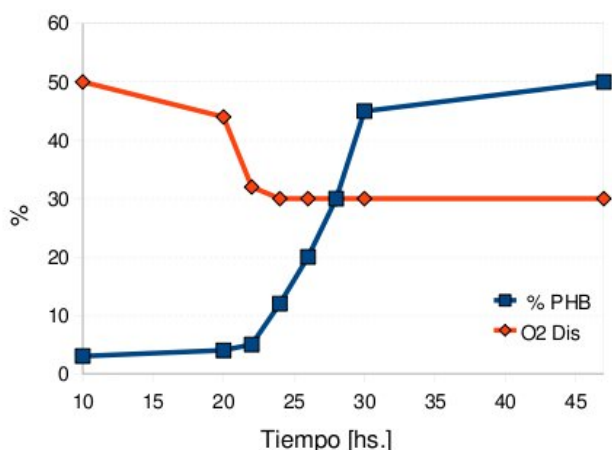


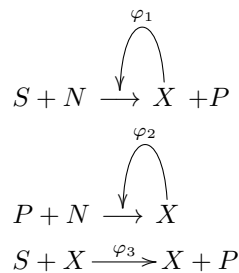
Figura 2. Datos experimentales de la producción de PHB

El modelo reducido resultante tiene, entonces, cuatro componentes: biomasa residual, glucosa, amonio y PHB.

### 2.3 Modelado de las Velocidades de Reacción

En el modelo matemático debe contemplarse la presencia de mecanismos de degradación de PHB en la bacteria *C. Necator*, hecho ampliamente conocido y estudiado en distintos trabajos, como por ejemplo en Baei et al. (2011). Dichos mecanismos generan una expresión cinética adicional que debe agregarse al esquema (2), dado que el PHB se acumula intracelularmente por un sistema de previsión en el microorganismo, actuando como una reserva de fuente de carbono para un uso potencial. Es decir, el PHB intracelular puede ser degradado cuando la bacteria requiere energía, por ejemplo frente a la ausencia de una fuente de carbono, obteniéndola mediante ruptura de las cadenas de PHB en monómeros, y utilizándola en general para lograr crecimiento bacteriano por reproducción celular.

De esta forma, el esquema de reacción asociado al modelo reducido y a la cinética descrita resulta



Teniendo en cuenta el esquema precedente, las velocidades de reacción corresponden a:

- $\varphi_1$ : Velocidad de crecimiento de la biomasa residual  $X$  en base a la glucosa  $S$ .
- $\varphi_2$ : Velocidad de crecimiento de la biomasa residual  $X$  en base al PHB  $P$ .
- $\varphi_3$ : Velocidad de producción de PHB, en base a la biomasa, la glucosa y el nitrógeno.

Para modelarlas, se procede como sugieren Bastin and Dochain (1990). Primero se escribe en forma vectorial

$$\varphi(\xi, t) = \begin{bmatrix} \varphi_1(\xi, t) \\ \varphi_2(\xi, t) \\ \varphi_3(\xi, t) \end{bmatrix} = G(\xi, t)\alpha(\xi, t), \quad (3)$$

donde  $G(\xi, t)$  es una matriz diagonal cuyos elementos son la productoria entre los reactantes que intervienen en la reacción y  $\alpha(\xi, t)$  es un vector que contiene las tasas específicas de reacción por unidad de reactante.

Para el caso analizado, y según Jamilis Ricaldoni et al. (2013),  $G(\xi, t)$  toma la forma

$$G(\xi, t) = \begin{bmatrix} XS & 0 & 0 \\ 0 & XP & 0 \\ 0 & 0 & XS \end{bmatrix} \quad (4)$$

Considerando la propuesta de Dochain et al. (2000) y específicamente la dinámica asociada a la *C. Necator* y el trabajo de Baei et al. (2011), se presenta la siguiente estructura de las tasas específicas de reacción

$$\alpha(\xi, t) = \begin{bmatrix} \alpha_1(\xi, t) \\ \alpha_2(\xi, t) \\ \alpha_3(\xi, t) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\mu_1}{\frac{KM_1 + S}{\mu_2}} \\ \frac{KM_2 + P}{C} \\ \frac{\mu_3}{(KM_3 + S)(C + N)} \end{bmatrix} \quad (5)$$

con

- $\mu_i$ : Tasa específica máxima de reacción.
- $KM_i$ : Constante de Michaelis-Menten.
- $C$ : Constante de inhibición.

Reemplazando las expresiones anteriores en el modelo general (ecuación (1)), se obtiene la dinámica del sistema dada por

$$\begin{aligned}
 \dot{\xi} &= K \cdot \varphi + F - D\xi \\
 \dot{\xi} &= \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 \\ -k_1 & 0 & -k_2 \\ -k_3 & -k_4 & 0 \\ 0 & -1 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \varphi_1 \\ \varphi_2 \\ \varphi_3 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 \\ F_S \\ F_N \\ 0 \end{bmatrix} - D\xi \quad (6)
 \end{aligned}$$

donde  $F_S$  y  $F_N$  son los caudales de entrada de glucosa y nitrógeno respectivamente, y  $K$  es la matriz de los coeficientes de rendimiento.

### 3. ESTIMADOR DE TASAS ESPECÍFICAS DE REACCIÓN

Las tasas específicas de reacción de los procesos biotecnológicos son parámetros que resultan de gran interés para controlar, optimizar y monitorear el desempeño un bioproceso y que a su vez presentan gran dificultad de medición en forma directa. Por esta situación, surge la necesidad de poseer alguna técnica que permita estimar dichas tasas específicas en base a la medición y/o estimación de otras variables disponibles.

Tomando nuevamente el proceso biotecnológico descrito en la ecuación (6), se utilizará un observador de estados para proveer, a través de la estimación de los mismos, información *on-line* que permita obtener una estimación dinámica de las velocidades específicas de reacción  $\alpha_i(\cdot)$  del proceso en cuestión.

Se propone el algoritmo de estimación descrito por Bastin and Dochain (1990),

$$\frac{d\hat{\xi}}{dt} = KG(\xi)\hat{\alpha}(\xi) - D\xi + F - \Omega(\xi - \hat{\xi}) \quad (7)$$

$$\frac{d\hat{\alpha}(\xi)}{dt} = [KG(\xi)]^T \Gamma (\xi - \hat{\xi}) \quad (8)$$

donde  $\hat{\alpha}$  indica la estima del vector de tasas  $\alpha$ . La matriz  $\Omega$  es una matriz cuadrada que puede depender de los estados  $\xi$  siempre que sea estable para todo  $\xi(t)$ . Dado que el valor actual de  $\alpha$  es desconocido, es reemplazado por su estimado  $\hat{\alpha}$  que se actualiza con la ecuación (8). El factor de corrección es la desviación  $(\xi - \hat{\xi})$ , que indirectamente refleja el error entre  $\hat{\alpha}(\xi)$  y  $\alpha(\xi)$ .

El algoritmo dado por (7) y (8) logra la estimación de las tasas específicas de reacción con decaimiento exponencial del error si se cumple que:

- La función  $\alpha(\xi)$  es diferenciable con respecto a  $\xi$ .
- La matriz  $K.G(\xi)$  es persistentemente excitadora.
- La matriz  $\Gamma$  de la ley de corrección es tal que la matriz:  $\Omega^T \Gamma + \Gamma \Omega$  es definida negativa.

Las condiciones antes mencionadas permiten demostrar que la dinámica del error es exponencialmente estable. Para ello, se define el error de observación  $e$  y el error de tracking  $\bar{\alpha}$  como

$$\begin{aligned} e &= \xi - \hat{\xi} \\ \bar{\alpha} &= \alpha(\xi) - \hat{\alpha} \end{aligned} \quad (9)$$

donde la dinámica de cada una viene dada por

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} e \\ \bar{\alpha} \end{pmatrix} = A(\xi) \begin{pmatrix} e \\ \bar{\alpha} \end{pmatrix} + v, \quad (10)$$

siendo  $A(\xi) = \begin{pmatrix} \Omega & K.G(\xi) \\ -G^T(\xi)K^T\Gamma & 0 \end{pmatrix}$  y  $v = \begin{pmatrix} 0 \\ \frac{d\alpha}{dt} \end{pmatrix}$

El vector de entradas  $v$  representa una perturbación en la dinámica de estimación del sistema error, ecuación (10), causada por los cambios en la tasa  $\alpha(\xi)$ .

Así, se eligen a las matrices  $\Omega$  y  $\Gamma$  de la siguiente forma

$$\Omega = \text{diag}\{-\omega_i\} \quad \Gamma = \text{diag}\{\gamma_j\} \quad (11)$$

$i = 1, \dots, N \quad j = 1, \dots, r$   
 $\omega_i, \gamma_j \in \mathbb{R}^+$

Esta elección, basada en la resolución de la ecuación de Lyapunov, hace que la condición de que  $\Omega^T \Gamma + \Gamma \Omega$  sea definida negativa se cumpla siempre. Como consecuencia directa de esto último queda garantizada la estabilidad exponencial del sistema dado por la ecuación (10), ya que verifica el Teorema de Estabilidad de Lyapunov para sistemas lineales variantes en el tiempo.

De esta forma, el ajuste de los valores de las matrices  $\Omega$  y  $\Gamma$  se realiza en base a una estructura de matriz de tipo diagonal, definida negativa, para  $\Omega$  y otra elección de matriz diagonal definida positiva para  $\Gamma$ , como por ejemplo

$$\Omega = \begin{bmatrix} -13 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -15 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -10 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -10 \end{bmatrix}$$

$$\Gamma = \begin{bmatrix} 171 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 71 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 181 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 191 \end{bmatrix}$$

Con estos datos, se efectúan diversos ensayos para la estimación de las tasas específicas de reacción. En primer lugar se toma como entrada el vector de estados real, sin ruidos de medición ni perturbaciones en el modelo nominal de la planta. Las condiciones iniciales del estimador para las tasas específicas de reacción son nulas, pues en el caso más general éste es un dato desconocido. La evolución de la estimación en el tiempo en esta circunstancia es la que se muestra en la Fig. 3. Puede verse la convergencia del valor de la tasa de reacción estimada hacia la real. En  $t = 50hs$  se aplica la restricción en el nitrógeno que se impone al inicializar la etapa de predominancia en la producción de PHB, justamente a las  $t = 50hs$ .

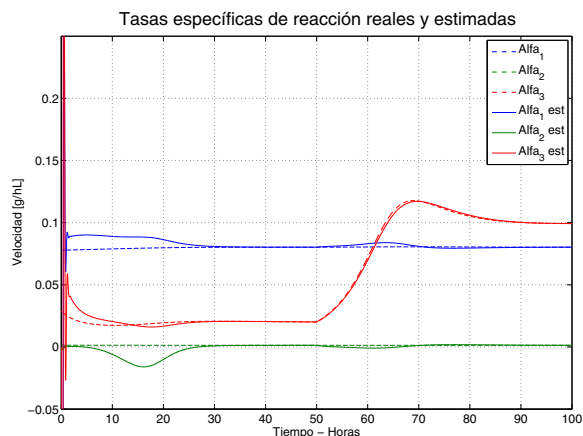


Figura 3. Tasas específicas de reacción reales y estimadas, sin ruido de medición

En la Fig. 4 se ve la respuesta del estimador ante una medición ruidosa del vector de estados del sistema. Es

importante ver que la estimación no puede llevarse a cabo directamente desde los valores de las variables de estado del sistema si estas últimas tienen ruido de medición. De aquí la importancia de los observadores que tienen la capacidad de filtrar las señales entrantes. Esto último puede verse en la Fig. 6, en la que la estimación de las tasas específicas de reacción puede llevarse a cabo gracias a que el vector de estados estimados por el observador de tipo EKF logra rechazar el ruido blanco gaussiano y las perturbaciones del modelo.

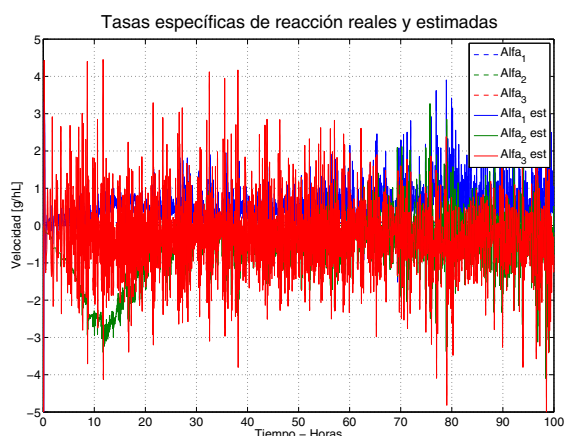


Figura 4. Tasas específicas de reacción reales y estimadas, utilizando el vector de estados con ruido y perturbaciones en el modelo

### 3.1 Observador de Estados de Kalman Extendido

En esta sección se describen las características del Observador de Estado de Kalman Extendido (EKF). Comúnmente este método es utilizado para estimar los valores de las variables de estado de un sistema dinámico en presencia de perturbaciones y ruido estocástico.

El observador EKF permite ajustar arbitrariamente la velocidad de convergencia de las variables estimadas a su valor real por ser un observador de tipo exponencial. Esta asignación arbitraria de la velocidad de convergencia es una característica necesaria para posteriormente poder aplicar técnicas de control que necesiten de los valores de los estados estimados.

En particular, se requiere el conocimiento de la estructura matemática de la cinética de reacción  $\varphi(\xi)$  y de los parámetros de la matriz de rendimientos  $K$ . Además, se asume que las tasas de alimentación  $F(t)$ , la salida de gases  $Q(t)$  y el factor de dilución  $D(t)$  son conocidos, así como también se requiere la medición on-line de un subconjunto de las variables de estado  $\xi(t)$  del sistema.

Se considera  $\xi_1 = [1 \ 0 \ 0 \ 0] \xi$  como variable de estado medida y el modelo dinámico dado por la ecuación 6. De esta forma, se llega a la siguiente expresión para el observador no lineal

$$\dot{\hat{\xi}} = K\varphi(\hat{\xi}) - D\hat{\xi} + F + \Omega(\hat{\xi})[\xi_1 - \hat{\xi}_1] \quad (12)$$

donde  $\hat{\xi}$  es el vector de estado estimado y  $\Omega(\hat{\xi})$  es una matriz  $n \times q$  tal que el error de estimación  $e = \xi - \hat{\xi}$  sea

asintóticamente (exponencialmente) estable. Consecuentemente la dinámica de  $e$  viene dada por

$$\dot{e} = K[\varphi(\xi) - \varphi(\hat{\xi})] - De - \Omega(\hat{\xi})Le \quad (13)$$

Linealizando alrededor de  $e = 0$  se obtiene

$$\dot{e} = [A(\hat{\xi}) - \Omega(\hat{\xi})L]e, \quad (14)$$

con

$$A(\hat{\xi}) = K \left[ \frac{\partial \varphi(\xi)}{\partial \xi} \right]_{\xi=\hat{\xi}} - D\mathbb{I}_n. \quad (15)$$

Siempre que el sistema sea exponencialmente observable, puede asignarse la dinámica del error en la ecuación 14 en forma arbitraria a través de la elección de  $\Omega$ .

El diseño del observador de Kalman extendido está basado en una optimización cuadrática del error de observación. El problema es encontrar una matriz  $\Omega(\hat{\xi})$  que minimice el valor cuadrático medio del error

$$E = \int_0^t \|\xi - \hat{\xi}\|^2 d\tau = \int_0^t \|e(\tau)\|^2 d\tau \quad (16)$$

La solución a este problema de minimización resulta

$$\Omega(\hat{\xi}) = R(\hat{\xi}, t) L^T \quad (17)$$

donde  $R(\hat{\xi}, t)$  es una matriz simétrica de  $n \times n$  generada por la siguiente ecuación diferencial de Riccati

$$\frac{dR}{dt} = -R L^T L R + R A^T(\hat{\xi}) + A(\hat{\xi}) R \quad (18)$$

Para la resolución de la ecuación 18 se considera la condición inicial

$$R(t) = \begin{bmatrix} 3150 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 110 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 110 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 36 \end{bmatrix}, \quad (19)$$

que es definida positiva.

En la Fig. 5 se muestra la convergencia de los estados estimados y en la Fig. 6, la convergencia de las tasas específicas de reacción utilizando el observador de Kalman extendido en lugar de la ecuación 7.

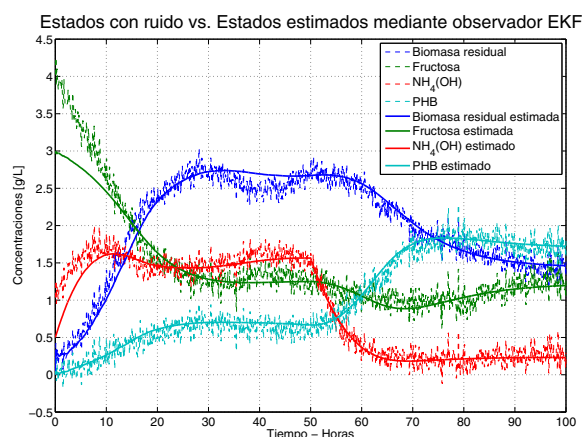


Figura 5. Estados estimados del sistema mediante el observador de Kalman extendido

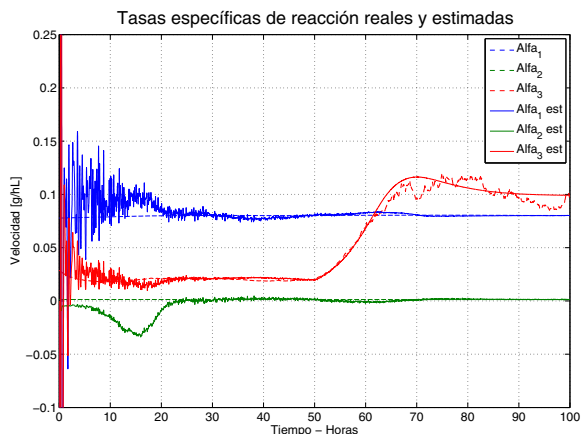


Figura 6. Tasas específicas de reacción reales y estimadas, utilizando el estimado del vector de estados, con ruido de medición y perturbaciones

#### 4. CONCLUSIONES

Los modelos matemáticos de los bioprocesos son altamente no lineales y en muchos casos poseen varias variables de estado. En particular, la complejidad del modelo asociado al bioproceso de producción de PHB impone diversas limitaciones.

En cuanto a la obtención del modelo debe enfrentarse una doble problemática. Por un lado, un sistema no-lineal complejo diverge rápidamente de cualquier aproximación o simplificación a la que se lo quiera someter, por lo que es difícil encontrar una versión simple de un modelo inherentemente complejo. Por otro lado, aun teniendo la estructura de las ecuaciones del modelo, el cálculo y la estimación de los parámetros presentes en las funciones no lineales del mismo son experimentalmente dificultosas de hallar, necesiándose una gran cantidad de datos experimentales para poder obtener dichas constantes del sistema.

El estimador basado en observador posee de forma simultánea una estructura simple y un buen desempeño, con pocas hipótesis a verificar si se lo compara con otras técnicas de estimación paramétrica. Como aspecto negativo, el estimador implementado necesita que la medición u observación de las variables de estado que ingresan al bloque estimador estén desprovistas de ruido, de lo contrario la estimación del parámetro no converge o bien amplifica el nivel de ruido y lo traslada a la señal de estimación de la tasa específica de reacción.

En este sentido, es importante el rol del observador EKF que, gracias a sus propiedades de filtrado, consigue resolver una dificultad crítica en este estimador que es el ruido, además de solucionar la problemática de la medición en línea de todos los estados.

#### REFERENCIAS

Baei, M.S., Najafpour, G., Younesi, H., Tabandeh, F., Isazadeh, H., and Khodabandeh, M. (2011). Growth kinetic parameters and biosynthesis of polyhydroxybutyrate in *Cupriavidus necator* dsmz545 on selected

substrates. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly CICEQ*, 17, 1–8.

Bastin, G. and Dochain, D. (1990). *On-line Estimation and Adaptive Control of Bioreactors*. Elsevier Amsterdam The Netherlands.

Boizot, N., Busvelle, E., and Gauthier, J. (2010). An adaptive high-gain observer for nonlinear systems. *Automatica*, 46, 1483–1488.

De Battista, H., Picó, J., Garelli, F., and Vignoni, A. (2011). Specific growth rate estimation in (fed-)batch bioreactors using second-order sliding observers. *Journal of Process Control*, 21, 1049–1055.

Dochain, D. (2008). *Bioprocess Control*. ISTE (London, UK) and John Wiley and Sons (USA).

Dochain, D., Perrier, M., de Azevedo, S.F., and Ferreira, E.C. (2000). Tuning of observer-based estimators. theory and application to the on-line estimation of kinetic parameters. *Control Engineering Practice*, 8, 377–388.

Jamilis Ricaldoni, M., Garelli, F., De Battista, H., Mozumder, S.I., Volcke, E., and Gonzalez, L.G. (2013). Observador de tasa de crecimiento en producción de bioplásticos. *RPIC XV Reunión de Trabajo en Procesamiento de la Información y el Control*.

Mazzone, V., De Battista, H., and Sira-Ramírez, H. (2008). Control de bioprocesos empleando conceptos de identificación algebraica. *XIII Congreso Latinoamericano de Control Automático, Venezuela*, 13, 801–818.

Methnani, Damak, Toumi, Lafont, and Gauthier (2011). Adaptive high-gain observers with an application to wastewater treatment plants. *IEEE, International Conference on Communications, Computing and Control Applications (CCCA)*.

Núñez, S., Garelli, F., and De Battista, H. (2012). Sliding mode observer for biomass estimation in a biohydrogen production process. *International Journal of Hydrogen Energy, Journal of process Control*, 37, 10089–10094.

Suarez, M. and Muravchik, C. (2001). Observador para del detección de fallas en una planta de tratamiento de aguas residuales. atenuación de perturbaciones. *RPIC IX Reunión de Trabajo en Procesamiento de la Información y el Control*.