

# Sufficient Conditions for State Observability in Multi-Substrate Bioprocesses with Additive Growth Dynamics

S. Nuñez, H. De Battista, F. Garelli and J. Picó

**Abstract**— The distinguishability of the non-measured states is relevant for the design and implementation of state observers. The aim of this study is to examine the observability of a fed-batch multi-substrate process with additive growth rate. Based on the model equations, sufficient conditions to fulfill the observability rank condition were determined. Results for three sets of outputs were analyzed for Monod and Haldane models.

**Keywords**— observability, state estimation, fed-batch, bioprocess.

## I. INTRODUCCION

EN la actualidad, variables físicas como la temperatura, pH, y compuestos gaseosos están disponibles para monitoreo de los bioprocessos. Sin embargo, existen situaciones en las que algunas variables importantes no pueden medirse directamente. En estos casos, una alternativa interesante para la implementación de estrategias de control y monitoreo es el uso de observadores de estado [1]. El análisis de observabilidad trata con la cuestión de si los estados no medidos pueden ser reconstruidos a partir de la medición de las salidas y de las entradas del proceso.

La observabilidad de sistemas no lineales es en general una tarea difícil dado que esta propiedad puede resultar dependiente de las entradas, es decir que, para algunas entradas, el sistema puede resultar no observable. El problema de observabilidad ha sido extensivamente estudiado y se han propuesto diferentes herramientas. En particular, el análisis del subespacio generado por los diferenciales de las salidas y sucesivas derivadas Lie en la dirección de los campos vectoriales del sistema provee resultados acerca de la distinguibilidad del estado.

Para analizar la observabilidad en procesos biotecnológicos, Williamson consideró un sistema de ecuaciones bilineales y obtuvo condiciones necesarias y suficientes para la observabilidad del estado [2]. Si bien esas condiciones son útiles para cultivos continuos, el resultado no es directamente aplicable a tasas de crecimiento no lineales. Luego esos resultados no pueden extenderse a cultivos semi-continuos. En [3], Alvarez y Alvarez analizaron el rango del

espacio de observación y determinaron que un cultivo continuo es ‘localmente débilmente observable’ para todas las combinaciones de entradas y salidas. Para cultivos semi-continuos con el flujo de alimentación como entrada, encontraron resultados similares a los obtenidos para cultivos continuos con tasa de dilución como entrada. En [4], Gauthier et al. presentaron condiciones necesarias y suficientes para observabilidad uniforme de sistemas afines en el control. Su resultado se basa en calcular un difeomorfismo a una forma no lineal particular. Además, propusieron un observador para un cultivo semi-continuo con cinética Contois. Dochain y Chen establecieron una condición necesaria para la observabilidad del sistema linealizado en procesos bioquímicos isotérmicos. El resultado es que el número de sustancias medidas más el rango de la matriz de coeficientes estequiométricos debe ser mayor o igual al número de estados. No se obtiene una condición suficiente porque solo se determina una cota superior para el rango de la matriz de observabilidad [5]. El análisis de observabilidad bajo incertidumbre en las entradas se consideró en [6]. En ese trabajo, se obtuvieron condiciones suficientes para detectabilidad y observabilidad global. Recientemente, esas ideas fueron aplicadas a cultivos continuos de fitoplancton [7].

Si bien se han reportado diferentes estudios de observabilidad para cultivos con un sustrato limitante, el problema de observabilidad en cultivos multi-sustrato ha recibido menos atención. En estos procesos, el crecimiento microbiano puede ser afectado por dos o más sustratos limitantes. Además, de acuerdo a como resulte la utilización de los nutrientes, pueden observarse diferentes tipos de crecimiento. Ciertos microorganismos exhiben crecimiento aditivo, donde la tasa de crecimiento total en los sustratos es la suma de las tasas de crecimiento individuales. En otros casos se observa efecto multiplicativo, donde la tasa de crecimiento total es el producto de las tasas de crecimiento individuales [8].

Este trabajo aborda el problema de observabilidad en un cultivo semi-continuo alimentado con dos sustratos. En particular se determinan condiciones suficientes para satisfacer la propiedad de ‘observabilidad local débil’ con diferentes salidas. En general, las condiciones resultan dependientes de la tasa de crecimiento, la cual es una función no lineal de los estados. Se presentan resultados para el caso aditivo con cinéticas Monod y Haldane. Se encontró que la condición de rango se satisface para el caso Monod. En caso de cinéticas Haldane, existe una región donde las condiciones provistas requieren una evaluación numérica. Si bien este

S. Nuñez, CONICET y Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Bs. As., Argentina, sebastian.nuniez@ing.unlp.edu.ar

H. De Battista, CONICET y Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Bs. As., Argentina, deba@ing.unlp.edu.ar

F. Garelli, CONICET y Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Bs. As., Argentina, fabricio@ing.unlp.edu.ar

J. Picó, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, jpico@upv.es

resultado no se generaliza a un número arbitrario de sustratos, los resultados son útiles en un amplio rango de bioprocesos en los cuales la cinética de crecimiento depende de dos nutrientes en concentraciones no saturadas. Los resultados tienen implicancia en el diseño de observadores para control y monitoreo de los procesos.

## II. DEFINICIONES DE OBSERVABILIDAD Y MODELO DEL PROCESO

### A. Definiciones

Dada una función a valores reales  $\phi: R^n \rightarrow R$ , el diferencial (gradiente) se define como  $d\phi = \left[ \frac{\partial \phi}{\partial x_1}, \dots, \frac{\partial \phi}{\partial x_n} \right]$ . La derivada Lie de una función  $h_i$  en la dirección del campo vectorial  $\mathbf{f}$  se define  $L_f h_i = \langle dh_i, \mathbf{f} \rangle$  donde  $\langle \cdot, \cdot \rangle$  representa el producto escalar y  $dh_i$  es el diferencial de  $h_i$ . Derivadas de orden superior se calculan con la expresión  $L_f^j h_i = \langle dL_f^{j-1} h_i, \mathbf{f} \rangle$  con  $L_f^0 h_i = h_i$ .

Considérese el sistema no lineal descrito por

$$\dot{\mathbf{z}} = \mathbf{f}(\mathbf{z}, \mathbf{u}), \quad (1)$$

$$\mathbf{y} = \mathbf{h}(\mathbf{z}), \quad (2)$$

donde  $\mathbf{z} \in M \subset R^n$  es el vector de estados de dimensión  $\dim(\mathbf{z}) = n$ ,  $\mathbf{f}$  un campo vectorial suave, y  $\mathbf{h}: R^n \rightarrow R^p$  un mapa de salida suave. Además las entradas del sistema se consideran en un subconjunto  $\mathbf{u}(t) \in U_e \subset R^m$ . Los siguientes conceptos se definen en el trabajo de Hermann y Krener [9].

**Definición II.1** (Estados indistinguibles). *Dos puntos  $\mathbf{z}_0$  y  $\mathbf{z}_1$  son indistinguibles (denotado  $\mathbf{z}_0 I \mathbf{z}_1$ ) si para cada entrada admisible, se tiene la igualdad  $y(t, \mathbf{z}_0, \mathbf{u}) = y(t, \mathbf{z}_1, \mathbf{u})$ . Los puntos se dicen U-indistinguibles (denotado  $\mathbf{z}_0 I_U \mathbf{z}_1$ ) si para cada entrada, cuyas trayectorias desde  $\mathbf{z}_0$  y  $\mathbf{z}_1$  ambas pertenecen a un entorno U no distinguen los puntos  $\mathbf{z}_0$  y  $\mathbf{z}_1$ .*

El conjunto de puntos indistinguibles y U-indistinguibles de  $\mathbf{z}_0$  se denotan  $I(\mathbf{z}_0) = \{\mathbf{z}' \in M \mid \mathbf{z}' I \mathbf{z}_0\}$  e  $I_U(\mathbf{z}_0) = \{\mathbf{z}' \in M \mid \mathbf{z}' I_U \mathbf{z}_0\}$ , respectivamente.

**Definición II.2** (Observabilidad). *El sistema se dice observable en  $\mathbf{z}_0$  si existe una entrada  $u(\cdot)$  tal que  $I(\mathbf{z}_0) = \{\mathbf{z}_0\}$ , y observable si  $I(\mathbf{z}) = \{\mathbf{z}\}$  para todo  $\mathbf{z} \in M$ .*

Notar que la definición no implica que toda entrada sea capaz de distinguir dos estados. Con el objetivo de distinguir un valor de estado de los de su entorno se considera la siguiente definición.

**Definición II.3** (Observabilidad local débil). *El sistema se dice localmente débilmente observable en  $\mathbf{z}_0$  si existe un entorno abierto U de  $\mathbf{z}_0$  tal que para todo entorno abierto V de  $\mathbf{z}_0$  contenido en U se tenga  $I_V(\mathbf{z}_0) = \{\mathbf{z}_0\}$ .*

Intuitivamente, si esta propiedad se cumple, entonces cada estado puede ser distinguido instantáneamente de sus vecinos. Una ventaja de este concepto sobre otras definiciones es que puede analizarse calculando derivadas Lie en la dirección de los campos del sistema. Para esto, sea H el menor subespacio

lineal de funciones suave que contiene a las salidas  $h_1, \dots, h_p$  y cerrado bajo derivadas Lie por los campos del sistema (1)

$$H = \text{span}\{L_{f_{u_k}} \dots L_{f_{u_1}} h_i \mid 1 \leq i \leq p, k \geq 0, u_1, \dots, u_k \in U_e\}, \quad (3)$$

donde  $f_{u_j} = \mathbf{f}(\cdot, u_j)$ . A H se lo llama *espacio de observación* e intuitivamente contiene a las salidas del sistema y la magnitud de las derivadas sobre todas las posibles trayectorias del sistema.

Sea  $\mathcal{H}$  la codistribución generada por diferenciales de elementos de H:

$$\mathcal{H} = \text{span}\{d\phi \mid \phi \in H\}. \quad (4)$$

Puede mostrarse que para un sistema afín en el control

$$\dot{\mathbf{z}} = \mathbf{f}(\mathbf{z}) + \sum_{i=1}^m \mathbf{g}_i(\mathbf{z}) u_i, \quad (5)$$

$\mathcal{H}$  resulta en

$$\mathcal{H} = \text{span}\{dL_{g_{j_k}} \dots L_{g_{j_1}} h_i \mid 1 \leq i \leq p, 0 \leq j_1 \leq m\}, \quad (6)$$

con  $\mathbf{g}_0 = \mathbf{f}$  [10].

**Definición II.4** (Condición de rango de observabilidad). *Se dice que un sistema satisface la condición de rango de observabilidad en  $\mathbf{z}_0$  si*

$$\dim \mathcal{H}(\mathbf{z}_0) = n. \quad (7)$$

**Teorema II.1** (Teo. 3.1 en [9]). *Si el sistema satisface la condición de rango de observabilidad en  $\mathbf{z}_0$ , entonces es localmente débilmente observable en  $\mathbf{z}_0$ .*

De acuerdo al teorema anterior, la propiedad de observabilidad del sistema (5) puede analizarse calculando la dimensión del subespacio definido en (6). Luego si el sistema satisface (7), un valor de estado puede ser distinguido de los estados de su entorno. Más aún, cuando no hay estados indistinguibles pueden diseñarse observadores con convergencia en tiempo finito [7]. En la sección siguiente se describe el modelo del proceso multi-sustrato. Este modelo será utilizado para determinar condiciones que satisfagan el Teorema (II.1).

### B. Modelo del proceso

El modelo del proceso corresponde a un cultivo semi continuo de microorganismos creciendo en dos sustratos en un tanque bien agitado. A partir del balance de masas se obtiene el siguiente modelo [11]

$$\begin{aligned} \dot{x} &= \mu x - \frac{x}{v} F_1 - \frac{x}{v} F_2 \\ \dot{s}_1 &= -\sigma_1 x + \frac{S_{1in} - s_1}{v} F_1 - \frac{s_1}{v} F_2, \\ \dot{s}_2 &= -\sigma_2 x - \frac{s_2}{v} F_1 + \frac{S_{2in} - s_2}{v} F_2, \\ \dot{v} &= F_1 + F_2, \end{aligned} \quad (8)$$

donde  $x$ ,  $s_1$  y  $s_2$  son las concentraciones de biomasa y sustratos.  $v$  es el volumen de cultivo y  $F_1, F_2$  son las entradas de alimentación.  $\mu$  es la tasa de crecimiento específica mientras que  $\sigma_i$  representa la tasa específica de consumo del sustrato  $i$ .

De acuerdo a como se consuman los sustratos pueden encontrarse diferentes comportamientos. Para el caso aditivo, las tasas cinéticas en el modelo (8) son

$$\mu(s_1, s_2) = \mu_1(s_1) + \mu_2(s_2), \quad (9a)$$

$$\sigma_i = \frac{\mu_i}{y_i}, \quad (9b)$$

con  $y_i > 0$  rendimientos. La tasa de crecimiento definida en la expresión anterior ha sido considerada para modelizar el comportamiento de microorganismos creciendo en diferentes sustratos [12]-[14], y los términos individuales  $\mu_i$  son usualmente aquellos utilizados para representar la dependencia en cultivo con un solo sustrato limitante.

Notar que el proceso (8) puede ordenarse en la forma afín (5) con  $\mathbf{z}^T = (x, s_1, s_2, v)$  y  $u_i = F_i$ . En este caso, los campos vectoriales resultan

$$\mathbf{f} = \begin{pmatrix} \mu x \\ -\sigma_1 x \\ -\sigma_2 x \\ 0 \end{pmatrix}, \quad (10)$$

$$\mathbf{g}_1 = \begin{pmatrix} -\frac{x}{v} \\ \frac{S_{1in} - s_1}{v} \\ -\frac{s_2}{v} \\ 1 \end{pmatrix} \quad (11), \quad \mathbf{g}_2 = \begin{pmatrix} -\frac{x}{v} \\ -\frac{s_1}{v} \\ \frac{S_{2in} - s_2}{v} \\ 1 \end{pmatrix} \quad (12)$$

En la siguiente sección se consideran los estados en el espacio  $M$  en el cual las variables de estado tienen sentido físico

$$M = \{\mathbf{z} | x > 0, 0 \leq s_i < S_{i(in)}, V_0 \leq v \leq V_f\}, \quad (13)$$

donde  $S_{1in}, S_{2in}$  son las concentraciones de sustrato en las entradas y  $V_0, V_f$  el volumen inicial y final, respectivamente. Además se asume que los caudales aplicados son positivos y acotados.

### III. CONDICIONES DE OBSERVABILIDAD

El objetivo de este trabajo es obtener condiciones suficientes para la observabilidad de los estados no medidos a partir de las salidas disponibles. Con el objetivo de incluir casos de interés práctico, se definen los siguientes conjuntos de salidas:

$$\text{C.1 Medición de biomasa, volumen y un sustrato} \\ (h_1 \ h_2 \ h_3) = (x \ s_1 \ v) \quad (14)$$

$$\text{C.2 Medición de biomasa y volumen} \\ (h_1 \ h_2) = (x \ v) \quad (15)$$

$$\text{C.3 Medición de un sustrato y volumen} \\ (h_1 \ h_2) = (s_1 \ v) \quad (16)$$

De acuerdo al teorema II.1, una condición suficiente para observabilidad local débil es que la codistribución (6) tenga rango completo. Para cada vector de salida, se analizó un subconjunto de los diferenciales que generan (6) y se obtuvieron condiciones suficientes de observabilidad. Los resultados obtenidos para cada caso se presentan en las siguientes secciones.

#### A. Medición de biomasa, un sustrato y volumen

**Resultado III.1** Dado el proceso (8)-(9) con medición de biomasa, un sustrato y volumen, una condición suficiente de observabilidad local del sustrato no medido es

$$\frac{\partial \mu_2}{\partial s_2} \neq 0, \quad (17)$$

o si la expresión (17) no se cumple,

$$\frac{\partial^2 \mu_2}{\partial s_2^2} (S_{2in} - s_2) \neq 0. \quad (18)$$

Dem: Para el proceso (8)-(9) con las salidas descritas en (14) se puede construir la siguiente matriz

$$O(\mathbf{z}) = \text{span} \begin{pmatrix} dx \\ ds_1 \\ dv \\ dL_f x \end{pmatrix} = \text{span} \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ \mu & \frac{\partial \mu_1}{\partial s_1} x & \frac{\partial \mu_2}{\partial s_2} x & 0 \end{pmatrix} \quad (19)$$

Notar que las filas de esta matriz son elementos de la codistribución (6). Además, puede verse fácilmente que (19) tiene rango completo cuando

$$\frac{\partial \mu_2}{\partial s_2} x \neq 0. \quad (20)$$

Luego, si para un dado valor del estado la matriz  $O(\mathbf{z}_0)$  tiene rango completo, entonces  $\dim \mathcal{H}(\mathbf{z}_0) = 4$ . Por lo tanto, de acuerdo al teorema II.1, el proceso resulta localmente débilmente observable si la ec. (20) se cumple. Dado que se asume  $x > 0$  (ver ec. (13)), la ec. (20) implica el resultado (17).

La demostración del resultado (18) sigue el mismo argumento con  $dL_{g_2} L_f x$  como última fila de (19). La expresión de este diferencial puede encontrarse en el apéndice.

Los términos individuales  $\mu_i$  suelen ser representados con las expresiones cinéticas utilizadas en cultivos con un sustrato limitante. En particular, cuando  $\mu_2$  es un término Monod

$$\mu_2 = \mu_{max} \frac{s_2}{s_2 + k_{s2}}, \quad (21)$$

la interpretación física de la expresión (17) es que  $s_2$  es localmente observable si su concentración no se encuentra en exceso. La Fig. 1 presenta el modelo de Monod, donde se observa como  $\partial \mu_2 / \partial s_2$  decrece al aumentar la concentración de sustrato.

El resultado descrito en (17) es una condición suficiente. Para el caso en que la derivada parcial de la tasa de crecimiento con respecto al sustrato no medido es cero, puede considerarse la ec. (18). Por ejemplo, la inhibición debido al sustrato suele representarse con el modelo de Haldane

$$\mu_2 = \frac{\mu_0 s_2}{s_2^2 / k_{I2} + s_2 + k_{s2}}. \quad (22)$$

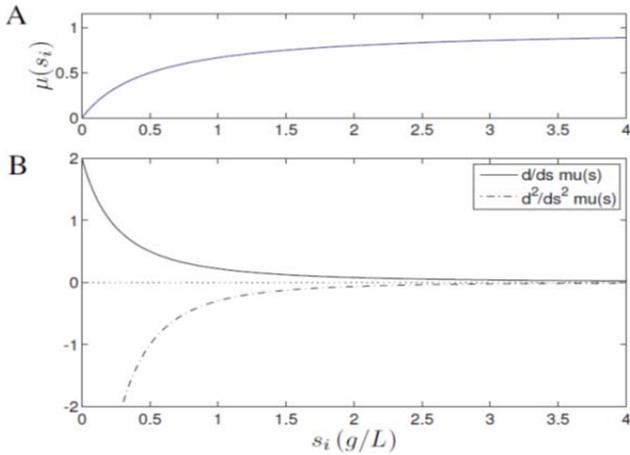


Figura 1. A) Modelo de Monod (ec. (21)). B) primera y segunda derivada de la expresión (21) con respecto a  $s$ .

En este modelo, la tasa máxima ocurre a  $s_2^* = \sqrt{k_{s2}k_{I2}}$ . Si bien es claro que la ec. (17) se anula en este punto, la expresión (18) se cumple porque  $\frac{\partial^2 \mu_2(s_2^*)}{\partial s_2^2} < 0$ . De este modo, se satisface la condición de observabilidad en este importante valor de sustrato.

#### B. Medición de biomasa y volumen

**Resultado III.2** Dado el bioproceso (8)-(9) con medición de biomasa y volumen, una condición suficiente para observabilidad local de los sustratos es que

$$\frac{\partial \mu_2}{\partial s_2} \frac{\partial^2 \mu_1}{\partial s_1^2} (S_{1in} - s_1) + \frac{\partial \mu_1}{\partial s_1} \frac{\partial^2 \mu_2}{\partial s_2^2} s_2 \neq 0, \quad (23)$$

o si las derivadas parciales  $\partial \mu_i / \partial s_i$  se anulan,

$$\frac{\partial^2 \mu_1}{\partial s_1^2} \frac{\partial^2 \mu_2}{\partial s_2^2} s_1 s_2 \neq 0. \quad (24)$$

Dem: En este caso solo se miden dos estados y entonces se consideran dos derivadas Lie del espacio  $H$

$$\begin{aligned} O(\mathbf{z}) &= \text{span} \begin{pmatrix} dx \\ dv \\ dL_f x \\ dL_{g1} L_f x \end{pmatrix} \\ &= \text{span} \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ \mu & \frac{\partial \mu_1}{\partial s_1} x & \frac{\partial \mu_2}{\partial s_2} x & 0 \\ a_{41} & a_{42} & a_{43} & a_{44} \end{pmatrix}, \end{aligned} \quad (25)$$

donde  $a_{4i}$  es la  $i$ -ésima componente de  $dL_{g1} L_f x$ . La matriz (25) tiene rango completo cuando la submatriz

$$\begin{pmatrix} \frac{\partial \mu_1}{\partial s_1} x & \frac{\partial \mu_2}{\partial s_2} x \\ a_{42} & a_{43} \end{pmatrix} \quad (26)$$

es no singular. Si la matriz  $O(\mathbf{z}_0)$  tiene rango completo, entonces  $\dim \mathcal{H}(\mathbf{z}_0) = 4$ . De (26) la condición a analizar resulta  $\frac{\partial \mu_1}{\partial s_1} a_{43} - \frac{\partial \mu_2}{\partial s_2} a_{42} \neq 0$ . La expresión (23) se

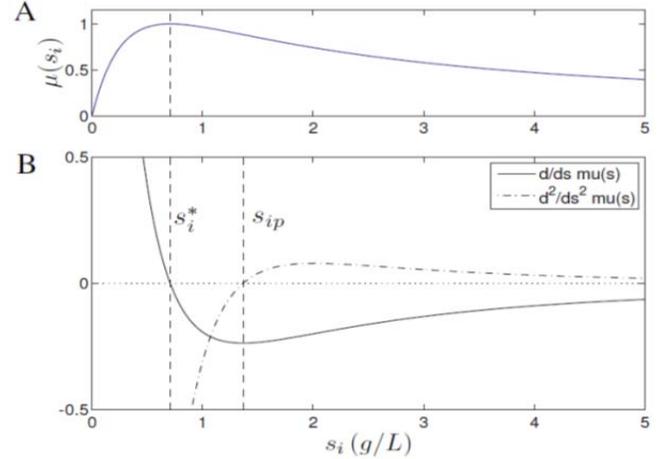


Figura 2. A) Modelo Haldane (ec. (22)). B) primera y segunda derivada de la expresión (22) con respecto a  $s$ .

obtiene de evaluar esta condición. El resultado (24) se determina con el mismo procedimiento pero utilizando  $dL_{g1} L_f x$  y  $dL_{g2} L_f x$  como las dos últimas filas de (25). La expresión de estos diferenciales se muestra en el apéndice.

La observabilidad de los sustratos fue analizada para combinaciones de modelos Monod y Haldane haciendo uso del resultado III.2. Notar que los dos términos de (23) consisten en productos de la primer y segunda derivada de  $\mu_i$ . En la Fig. 1 se aprecia que para el modelo de Monod  $\frac{\partial \mu_i}{\partial s_i} > 0$  y  $\frac{\partial^2 \mu_i}{\partial s_i^2} < 0$ . Por lo tanto, si se considera términos Monod para  $\mu_1$  y  $\mu_2$ , la expresión (23) es negativa para todo  $(s_1, s_2) \in M$ . Luego los sustratos son localmente observables. Si un término corresponde al modelo de Haldane, el argumento previo es válido en los intervalos  $(0, s_i^*)$  y  $[s_{ip}, S_{(i)in})$ , donde  $s_{ip}$  es el valor de sustrato para el cual la segunda derivada cambia de valores negativos a positivos. El modelo de Haldane y las derivadas involucradas en el análisis se presentan en la Fig. 2. Notar que en el intervalo  $(s_i^*, s_{ip})$ , la primera y segunda derivada de la expresión de Haldane son negativas. Luego, analizando el signo de cada término que compone (23) se ve que la condición puede anularse para ciertos valores del estado. Por lo tanto, la condición (23) debe evaluarse numéricamente en esta región. Si  $\mu_1$  y  $\mu_2$  son términos Haldane, el análisis previo puede extenderse. La Fig. 3 presenta las diferentes regiones consideradas en el análisis del caso Haldane-Haldane. Si se analiza los signos de (23), se encuentra que la condición se satisface para todo  $(s_1, s_2) \in M$  excepto en las regiones denominadas  $R_1, R_2$  y en  $s^* = (s_1^*, s_2^*)$ . Dentro de las regiones  $R_1, R_2$  la ec. (23) puede anularse y debería ser evaluada numéricamente. En  $s^*$  la tasa de crecimiento es máxima y la expresión (23) no se cumple. Sin embargo para este punto particular, la expresión (24) es positiva garantizando que se satisface la condición de observabilidad en ese punto de operación.

**Observación III.1** Una condición suficiente de observabilidad del sustrato en cultivos con un solo sustrato

limitante puede obtenerse como caso particular del Resultado III.2. De hecho, la tercer columna de (25) puede ser removida y la condición, en términos de la primer derivada parcial de  $\mu$ , resulta

$$\frac{\partial \mu}{\partial s} \neq 0 \quad (27)$$

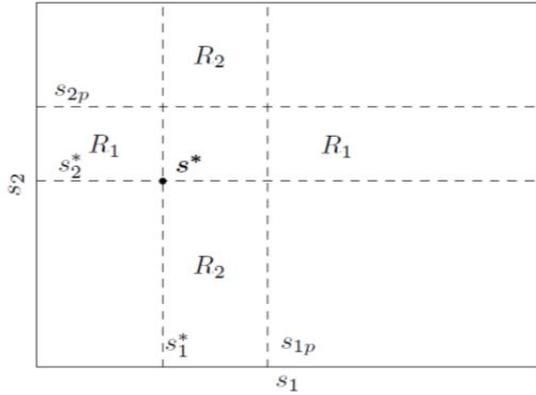


Figura 3. Regiones definidas en el plano  $(s_1, s_2)$  para analizar el Resultado III.2 en caso de que  $\mu_1$  y  $\mu_2$  son términos Haldane.

### C. Medición de un sustrato y volumen

**Resultado III.3** Dado el bioproceso (8)-(9) con medición de un sustrato y volumen, una condición suficiente para observabilidad local de las concentraciones no medidas es

$$\frac{\mu_1 x}{y_1} \frac{\partial \mu_2}{\partial s_2} \neq 0, \quad (28)$$

o si  $\partial \mu_2 / \partial s_2$  se anula,

$$\frac{\mu_1 x}{y_1} \frac{\mu_2}{y_2} \frac{\partial^2 \mu_2}{\partial s_2^2} \neq 0. \quad (29)$$

Dem: se considera el modelo (8)-(9) con el vector de salida (16). Utilizando diferenciales de las salidas y dos derivadas Lie en la dirección de  $f$  se obtiene la siguiente matriz

$$O(\mathbf{z}) = \text{span} \begin{pmatrix} ds_1 \\ dv \\ dL_f s_1 \\ dL_f^2 s_1 \end{pmatrix} = \text{span} \begin{pmatrix} 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ -\frac{\mu_1}{y_1} & -\frac{x}{y_1} \frac{\partial \mu_1}{\partial s_1} & 0 & 0 \\ a_{41} & a_{42} & -\frac{\mu_1 x}{y_1} \frac{\partial \mu_2}{\partial s_2} & 0 \end{pmatrix}. \quad (30)$$

En la tercer columna de (30) se ve fácilmente que la matriz tiene rango completo cuando se cumple la ec. (28). Luego, en esos puntos, la condición de observabilidad (7) se cumple y por el Teo. 2.1 las variables no medidas son localmente observables. La ec. (29) se obtiene con el mismo análisis pero empleando  $dL_f^3 s_1$  como última fila de (30).

El resultado (28) se traduce en consumo del sustrato medido (es decir  $\frac{\mu_1 x}{y_1} > 0$ ) y, al igual que en la ec. (17)), se requiere sensibilidad de  $\mu$  con respecto al sustrato no medido. De

acuerdo al modelo (8), si el sustrato medido es consumido la biomasa aparece en la derivada de  $s_1$ . Más aún, si se alcanza una estimación de la concentración de microorganismo, se tiene información acerca de  $s_2$  en la dinámica de biomasa (ver primera expresión en (8)).

En cuanto al modelo de  $\mu_2$ , si se trata de un término Monod la condición de observabilidad puede analizarse con ec. (28) de donde se concluye nuevamente que  $s_2$  no debe estar en exceso para que se cumpla la condición. Si  $\mu_2$  es un término Haldane, la condición de observabilidad para todo  $s_2 \neq s_2^*$  se verifica con la ec. (28) mientras que para el valor de sustrato al cual la tasa de crecimiento es máxima,  $s_2 = s_2^*$ , se satisface la condición (29).

**Observación III.2** En un cultivo con un solo sustrato limitante, la concentración de biomasa es localmente observable si  $\mu > 0$ . Este resultado se obtiene de remover la tercer columna de (30) y notando que  $\mu > 0$  es condición suficiente para satisfacer (7).

TABLA I. RESUMEN DE LAS CONDICIONES DE OBSERVABILIDAD PARA EL CASO ADITIVO.

Salidas	Modelo $\mu_i$	Cond.	Región
$(x, s_1, v)$	$\mu_2$ : Monod	(17)	$\{(s_1, s_2) \in M\}$
	$\mu_2$ : Haldane	(17)	$\{(s_1, s_2) \in M, s_2 \neq s_2^*\}$
		(18)	$s_2 = s_2^*$
$(x, v)$	Monod-Monod	(23)	$\{(s_1, s_2) \in M\}$
	Monod-Haldane	(23)	$\{(s_1, s_2) \in M, s_2 \notin (s_2^*, s_{2p})\}$
		(*)	$\{s_2 \in (s_2^*, s_{2p})\}$
		(23)	$\{(s_1, s_2) \in M \setminus (R_1 \cup R_2 \cup (s_1^*, s_2^*))\}$
	Haldane-Haldane	(*)	$R_1$
		(*)	$R_2$
(24)		$s^* = (s_1^*, s_2^*)$	
$\mu_2$ : Monod		(28)	$\{(s_1, s_2) \in M\}$
$(s_1, v)$	$\mu_2$ : Haldane	(28)	$\{(s_1, s_2) \in M, s_2 \neq s_2^*\}$
		(29)	$s_2 = s_2^*$
		(*)	Evaluación numérica de (23).

$R_1 = \{s_1 \notin (s_1^*, s_{1p}), s_2^* < s_2 < s_{2p}\}$

$R_2 = \{s_2 \notin (s_2^*, s_{2p}), s_1^* < s_1 < s_{1p}\}$

## IV. DISCUSIÓN

En la sección anterior se encontraron condiciones suficientes para satisfacer la condición de observabilidad local débil. Para esto, se consideraron matrices formadas con diferenciales de elementos del espacio de observación y se encontraron un conjunto de expresiones algebraicas imponiendo la condición de rango completo. Una desventaja del procedimiento aplicado es que las derivadas Lie requeridas involucran derivadas parciales de la tasa de crecimiento debido a la regla de la cadena y del producto. A pesar de esta dificultad, las expresiones descritas en los resultados III.1, III.2 y III.3 fueron evaluadas fácilmente para dos modelos cinéticos muy comunes (Monod y Haldane). En particular, la ec. (23) fue analizada revisando el signo de las derivadas parciales de  $\mu_i$ . En el caso de tener dos términos Haldane, esta condición se cumple en un subespacio de  $M$  pero por otro lado existe una región en la cual se requiere evaluación numérica. Dado que a máxima tasa de crecimiento  $\frac{\partial \mu_i}{\partial s_i} = 0$ , también se encontraron condiciones suficientes para esos puntos. La

Tabla I resume las condiciones encontradas para tres conjuntos de salidas y combinaciones de los modelos cinéticos.

Si bien el análisis se restringió a tasas específicas que dependen solo de un sustrato (ec. (9a)), el problema de analizar la observabilidad incluyendo efecto de inhibición de un sustrato en el camino metabólico del otro y coeficientes de mantenimiento puede realizarse aplicando la misma metodología.

### V. CONCLUSIÓN

En este trabajo se presentaron condiciones suficientes para observabilidad local de concentraciones no medidas en un cultivo semi-continuo multi-sustrato. Las condiciones encontradas son aplicables para el modelo aditivo y fueron evaluadas para modelos clásicos. Para procesos con cinética Monod, los sustratos no medidos son observables si su concentración no se encuentra en exceso. Cabe destacar que esta región es de especial interés ya que cuando los dos sustratos se encuentran en concentraciones limitantes, la tasa de crecimiento puede ser controlada manipulando los flujos de alimentación. Además, se obtuvieron condiciones para modelos Haldane. Por debajo de la concentración de sustrato a la que el crecimiento es máximo, valen los mismos resultados que para el caso Monod. También se determinó la observabilidad local para el valor de sustrato óptimo.

Como trabajo futuro se considera el análisis de observabilidad en otros tipos de modelos cinéticos (caso multiplicativo y caso combinado) y el diseño de observadores para procesos multi-sustrato extendiendo resultados previos en [15-16].

### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por CONICET (PIP 0361), MINCyT (PICT 2011-0888, PICT 2012-0037) y la Universidad Nacional de La Plata (Proyecto I164) de Argentina.

### APÉNDICE: DERIVADAS LIE Y DIFERENCIALES DE LAS SALIDAS

Salida: biomasa

$$L_f x = \mu x \quad (31)$$

$$dL_f x = \left( \mu \frac{\partial \mu_1}{\partial s_1} x \quad \frac{\partial \mu_2}{\partial s_2} x \quad 0 \right) \quad (32)$$

$$L_{g_i} L_f x = -\frac{\mu x}{v} + \frac{x \partial \mu_i}{v \partial s_i} (S_{(i)in} - s_i) - \frac{x \partial \mu_j}{v \partial s_j} s_j \quad (33)$$

para  $i, j \in \{1,2\} i \neq j$ .

$$dL_{g_1} L_f x = \begin{pmatrix} -\frac{\mu}{v} + \frac{\partial \mu_1 (S_{1in} - s_1)}{\partial s_1 v} - \frac{s_2 \partial \mu_2}{v \partial s_2} \\ -2 \frac{x \partial \mu_1}{v \partial s_1} + \frac{x \partial^2 \mu_1}{v \partial s_1^2} (S_{1in} - s_1) \\ -2 \frac{x \partial \mu_2}{v \partial s_2} - \frac{x \partial^2 \mu_2}{v \partial s_2^2} s_2 \\ \frac{\mu x}{v^2} - \frac{x \partial \mu_1}{v^2 \partial s_1} (S_{1in} - s_1) + \frac{x \partial \mu_2}{v^2 \partial s_2} s_2 \end{pmatrix}^T \quad (34)$$

$$dL_{g_2} L_f x = \begin{pmatrix} -\frac{\mu}{v} + \frac{\partial \mu_2 (S_{2in} - s_2)}{\partial s_2 v} - \frac{s_1 \partial \mu_1}{v \partial s_1} \\ -2 \frac{x \partial \mu_1}{v \partial s_1} - \frac{x \partial^2 \mu_1}{v \partial s_1^2} s_1 \\ -2 \frac{x \partial \mu_2}{v \partial s_2} + \frac{x \partial^2 \mu_2}{v \partial s_2^2} (S_{2in} - s_2) \\ \frac{\mu x}{v^2} - \frac{x \partial \mu_2}{v^2 \partial s_2} (S_{2in} - s_2) + \frac{x \partial \mu_1}{v^2 \partial s_1} s_1 \end{pmatrix}^T \quad (35)$$

Salida: sustrato 1

$$L_f s_1 = -\frac{\mu_1}{y_1} x \quad (36)$$

$$dL_f s_1 = \begin{pmatrix} -\frac{\mu_1}{y_1} & -\frac{x \partial \mu_1}{y_1 \partial s_1} & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (37)$$

$$dL_f^2 s_1 = \begin{pmatrix} \frac{\partial}{\partial x} (L_f^2 s_1) & \frac{\partial}{\partial s_1} (L_f^2 s_1) & -\frac{\mu_1 x \partial \mu_2}{y_1 \partial s_2} & 0 \end{pmatrix} \quad (38)$$

### REFERENCIAS

- [1] D. Dochain, "State and parameter estimation in chemical and biochemical processes: a tutorial," *Journal of Process Control*, vol. 13, no. 8, pp. 801–818, 2003.
- [2] D. Williamson, "Observation of bilinear systems with application to biological control," *Automatica*, vol. 13, pp. 243–254, 1977.
- [3] G. J. Alvarez and G. J. Alvarez, "Analysis and control of fermentation processes by optimal and geometric methods," in *Proceedings of American Control Conference*, 1988, pp. 1112–1117.
- [4] J.-P. Gauthier, H. Hammouri, and S. Othman, "A simple observer for nonlinear systems applications to bioreactors," *Automatic Control, IEEE Transactions on*, vol. 37, no. 6, pp. 875–880, 1992.
- [5] D. Dochain and L. Chen, "Local observability and controllability of stirred tank reactors," *Journal of Process Control*, vol. 2, no. 3, pp. 139–144, 1992.
- [6] J. A. Moreno and D. Dochain, "Global observability and detectability analysis of uncertain reaction systems and observer design," *International Journal of Control*, vol. 81, no. 7, pp. 1062–1070, 2008.
- [7] J. A. Moreno, E. Rocha-Cózatl, and A. Vande Wouwer, "A dynamical interpretation of strong observability and detectability concepts for nonlinear systems with unknown inputs: application to biochemical processes," *Bioprocess Biosyst. Eng.*, vol. 37, no. 1, pp. 37–49, 2014.
- [8] M. Zinn, B. Witholt, and T. Egli, "Dual nutrient limited growth: models, experimental observations, and applications," *Journal of Biotechnology*, vol. 113, no. 13, pp. 263–279, 2004.
- [9] R. Hermann and A. J. Krener, "Nonlinear controllability and observability," *Automatic Control, IEEE Transactions on*, vol. 22, no. 5, pp. 728–740, 1977.
- [10] E. D. Sontag, *Mathematical Control Theory: Deterministic Finite Dimensional Systems (Second Edition)*, ser. Textbooks in Applied Mathematics. Springer, 1998, no. 6.
- [11] G. Bastin and D. Dochain, *On-line Estimation and Adaptive Control of Bioreactors*. Elsevier, 1990.

- [12] M. C. d'Anjou and A. J. Daugulis, "Mixed-feed exponential feeding for fed-batch culture of recombinant methylotrophic yeast," *Biotechnology Letters*, vol. 22, no. 5, pp. 341–346, 2000.
- [13] H. Moon, S. Kim, J. Lee, S. Rhee, E. Choi, H. Kang, I. Kim, and S. Hong, "Independent exponential feeding of glycerol and methanol for fed-batch culture of recombinant *Hansenula polymorpha* DL-1," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 111, no. 2, pp. 65–79, 2003.
- [14] D. Das, A. Basu, A. Nigam, P. S. Phale, and P. P. Wangikar, "Dynamics of rate limiting enzymes involved in the sequential substrate uptake by *Pseudomonas putida* CSV86: Modeling and experimental validation," *Process Biochemistry*, vol. 46, no. 3, pp. 701–708, 2011.
- [15] H. De Battista, J. Picó, F. Garelli, and J. L. Navarro, "Reaction rate reconstruction from biomass concentration measurement in bioreactors using modified second-order sliding mode algorithms," *Bioprocess and Biosystems Engineering*, vol. 35, pp. 1615–1625, 2012.
- [16] S. Nuñez, H. De Battista, F. Garelli, A. Vignoni, and J. Picó, "Second order sliding mode observer for multiple kinetic rates estimation in bioprocesses," *Control Engineering Practice*, vol. 21, no. 9, pp. 1259–1265, 2013.



**Sebastián Nuñez** received the Engineering degree in electronic engineering from the National University of La Plata, La Plata, Argentina, in 2009, and is a Ph.D. student at the same university. He is a member of the National Research Council of Argentina (CONICET). His main research interest is nonlinear control with applications in bioprocesses and biological systems.



**Hernán De Battista** received the M.S. and Ph.D. degrees in electronic engineering from the National University of La Plata (UNLP), La Plata, Argentina, in 1994 and 2000, respectively. He is a research member of CONICET and a Full Professor at the Electrical Engineering Department, Faculty of Engineering of UNLP. His main research interests include nonlinear and switched control with applications to renewable energy and biological systems. He co-authored several books, as well as more than 40 journal papers.



**Fabricio Garelli** received the Eng. degree in electronic engineering and the Ph.D. degree in engineering, both from the National University of La Plata (UNLP), La Plata, Argentina, in 2002 and 2007, respectively. He is currently Associate Professor at UNLP and Official Member of CONICET. He is the author of an awarded Ph.D. Thesis, and IET book and 60 journal or conference papers. His research interests include multivariable systems and constrained control.



**Jesús Picó** received the M.S. Eng. degree in engineering science and the Ph.D. degree in control engineering, both from the Technical University of Valencia, Spain, in 1989 and 1996, respectively. Currently he is Full Professor at the Department of Systems Engineering and Control of the Technical University of Valencia. His main research interests are in nonlinear systems, sliding mode observers and control, modeling and control of biologic and biotechnological processes, and systems and synthetic biology. Hiking, classical music, and science related issues are among his other interests.