

Observer design for a sulfate-reducing bioreactor

Fátima Del Rosario Esparza Ríos *, Luis Ricardo García-Aguado **,
M. Isabel Neria-González***, Vicente Peña-Caballero ****

* Programa de Biotecnología, Universidad de Guanajuato.

Mutualismo #303, Colonia La Suiza, 38060, Celaya, Guanajuato, México (e-mail:
fdr.esparzarios@ugto.mx)

** Programa de Biotecnología, Universidad de Guanajuato.

Mutualismo #303, Colonia La Suiza, 38060, Celaya, Guanajuato, México (e-mail:
lr.garciaaguado@ugto.mx)

***División de Ingeniería Química y Bioquímica. Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec.
Tecnológico Av., Ecatepec, Mexico, 53210 (e-mail: ibineria09@gmail.com)

**** Programa de Biotecnología, Universidad de Guanajuato.

Mutualismo #303, Colonia La Suiza, 38060, Celaya, Guanajuato, México (e-mail:
vicente.caballero@ugto.mx)

Abstract: This work presents a comparative analysis of three non-linear state observers applied to the sulfate-reducing process by *Desulfovibrio alaskensis* 6SR in the presence and absence of Cr (VI). The observers consist of a simple proportional (Obs.-1), proportional-integral (Obs.-2) and proportional-integral-exponential (Obs.-proposed) feedback structure, which are evaluated at different initial conditions. The observers are used to estimate the sulfate concentration and the hydrogen sulfide concentration from the biomass concentration in the bioreactor. The performance of the observers is evaluated in terms of the ITSE error indicator.

Keywords: Sulfate-reducing process, *Desulfovibrio alaskensis* 6SR, Modeling, Nonlinear observer, Simulation.

1. INTRODUCCIÓN

Las bacterias sulfato-reductoras (BSR) son un grupo de organismos de importancia económica, ambiental y biotecnológica (Rashamuse et al., 2007). Metabolizan la materia orgánica en un entorno anaeróbico riguroso utilizando sulfato como aceptor de electrones y generan acetato y sulfuro de hidrógeno (S^{2-} , HS^- , H_2S) (Verma et al., 2017, Mehta-Kolte et al., 2019), éste último interactúa directamente con muchos metales pesados tóxicos en medio líquido, precipitándolos como sulfuros insolubles (Smith et al., 2001). De esta manera, *Desulfovibrio* es el segundo género que engloba el mayor número de especies dentro de este grupo de bacterias, caracterizándose por bacterias Gram-negativas (Crispim et al., 2018). Por otro lado, muchas actividades antropogénicas depositan metales pesados al ambiente con un impacto negativo. Para abatir el problema de contaminación del agua con metales pesados, el método biológico usando BSR es prometedor para tratarlos los efluentes antes de ser descargados a los cuerpos receptores de agua (Hussain et al., 2016b). La resistencia de las BSR a ciertos metales varía según la especie y depende de la concentración del metal en solución, que puede ser

bacteriostática o bactericida. Por lo que, las BSR juegan un papel importante en el diseño de tecnologías de biorremediación (Ayansina et al., 2018). Por ejemplo, se ha demostrado que las BSR también se utilizan para tratar diversos contaminantes ambientales, tales como: metaloides, sulfatos, alcanos y alquenos, hidrocarburos alicíclicos (ciclohexano), hidrocarburos aromáticos (benceno), naftaleno, fenantreno, tolueno, xileno, etilbenceno, 2-metilnaftaleno, y compuestos nitroaromáticos (trinitrotolueno) (Hussain et al., 2016a). Por lo que, en el diseño de biorreactores reductores de sulfato se utiliza en biotecnología ambiental, como método de tratamiento de lixiviados de minas y aguas residuales industriales (Alvarez et al., 2006). Lo anterior en relación con procesos biotecnológicos, en general por sus ventajas económicas y simplicidad del cultivo (van den Brand et al., 2015). En particular, para el proceso sulfato reductor, sin embargo, debido a la naturaleza no lineal propia de las BSR y las incertidumbres típicas en el modelado del proceso, se hace necesario el diseño de observadores de estado, básicamente, para dos variables de interés: concentraciones de sustancias (biomasa, sustratos, productos, etc.) o velocidades de reacción (de formación o de consumo

de sustancias) para disponer información valiosa acerca de lo que está sucediendo en el volumen de reacción (medio de cultivo). Con este conocimiento, una aplicación importante es para propósitos de control de las variables del proceso. En este sentido, considerando la disponibilidad de un modelo del proceso a través de balances de materia, los observadores son algoritmos basados en el conocimiento de modelos que describen el comportamiento dinámico del proceso y utilizan las medidas disponibles del proceso para reconstruir las medidas faltantes (Corriou, 2018). Sirven para estimar valores en tiempo real de sistemas en los que las principales variables de estado son difíciles y costosas de medir o no existen tales medidas por la falta de un sensor o por su alto costo (V. Alcaraz-González et al., 2005). Finalmente, en un sistema de control complejo real en el que se dispone de un modelo del proceso, el diseño de observadores es importante para la optimización del proceso, mejorar la productividad y reproducibilidad del proceso. Además, para el control de calidad, seguimiento del proceso y para crear tecnologías robustas, flexibles y de amplia aplicación para la biotecnología industrial.

Por tanto, este trabajo presenta un análisis comparativo de tres observadores no lineales de estado aplicados al proceso sulfato reductor en discontinuo, es decir, batch, en presencia y ausencia de cromo hexavalente Cr(VI), utilizando la bacteria sulfato reductora *Desulfovibrio alaskensis* 6SR. Los observadores consisten en su estructura de una retroalimentación simple proporcional Obs.-1, proporcional-integral Obs.-2, y proporcional-integral-exponencial Obs.-propuesto, de la retroalimentación de la biomasa medida, los cuales son evaluados ante cambios en las condiciones iniciales de la concentración de biomasa en un $\pm 10\%$ para modelo del bioproceso sin presencia de Cr(VI) y con presencia de éste. Los observadores se utilizaron para estimar la concentración de sulfato y la concentración de sulfuro de hidrógeno a partir de la concentración de biomasa en el biorreactor, esta medición es de fácil medición e implementación en línea utilizando el sistema de PreSens^{MR} (Sensors Probes Transmitters Systems: Shake Flask Reader for pH, DO, OUR and BM). El desempeño de los observadores se evaluó en término del indicador del error ITSE.

2. METODOLOGÍA

En general, en la Figura 1 se resume la metodología utilizada en este trabajo. Para mayores detalles el lector puede consultar Peña-Caballero et al., 2013, Peña-Caballero et al., 2016. Brevemente se describe a continuación.

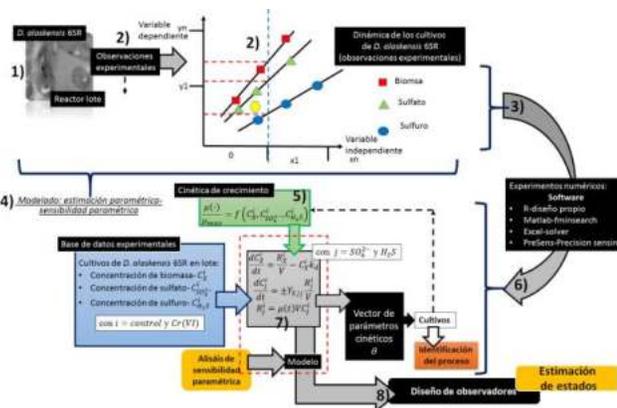


Fig. 1. Metodología simplificada de cultivos de *D. alaskensis* 6SR y estimación de estados: 1) cultivos en lote, 2) hallazgos experimentales, 3) dinámica experimental del bioproceso, 4) modelado, 5) cinéticas de crecimiento celular, 6) estimación de parámetros, 7) modelo fenomenológico y 8) diseño de observadores para estimar los estados del proceso. Las condiciones de operación del biorreactor son tales que el mezclado es perfecto (suposición).

2.1 Cultivos de *Desulfovibrio alaskensis* 6SR

La bacteria sulfato reductora *Desulfovibrio alaskensis* 6SR se cultivó en sistemas en lote con medio de cultivo Postgate C modificado utilizando el sistema SFR vario v2: Shake Flask Reader for pH, DO, OD, OUR and BM de PreSens-GmbH^{MR} (Germany) para medir en línea la concentración de biomasa, el sulfuro se midió de acuerdo con (Cord-Ruwisch, R. 1985). Los cultivos en presencia de Cr(VI) se suplementaron con 10 mg/L utilizando una solución de trabajo de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$ (Sigma)) para cinco repeticiones del proceso en lote.

2.2 Modelado del proceso sulfato reductor

Al aplicar un balance de materia sobre el biorreactor en lote (por simplicidad y facilidad de operación) se obtuvo el siguiente modelo en ecuaciones diferenciales:

Concentración de biomasa C_X^i con $i = control$ y Cr(VI):

$$\frac{dC_X^i}{dt} = \frac{R_X^i}{V} - C_X^i k_d \quad (1)$$

Concentración de sulfato (- reactivo) y sulfuro (+ producto) C_j^i con $j = SO_4^{2-}$ y H_2S , respectivamente. - y + significa, respectivamente, consumo y producción.

$$\frac{dC_j^i}{dt} = \pm Y_{X/j} \frac{R_j^i}{V} \quad (2)$$

Donde las $R_j^i = \mu(\cdot)VC_j^i$ son las velocidades de reacción volumétricas para el sustrato ($-SO_4^{2-}$) y para el producto ($+H_2S$).

El modelo con las Ecs. (1) y (2), para el balance de masa en la fase líquida, son equivalentes en estructura para el caso de ausencia y presencia de cromo hexavalente, es decir, son

diferentes únicamente en sus parámetros cinéticos ($Y_{X/j}$ y en $\mu(\cdot)$). Estos son modelos no estructurados y no segregados, con la biomasa representada con la concentración total, es decir, en los modelos, las reacciones dependen solamente de las condiciones macroscópicas en la fase líquida del volumen de reacción del biorreactor. Finalmente, se supone que los modelos empíricos propuestos representan una buena aproximación para el cultivo sulfato reductor para efecto de diseño de estrategias de estimación y control.

Para propósitos de análisis matemático en este trabajo se considera el modelo en expresiones (1) y (2) a su representación matricial como sigue,

$$\dot{x} = \frac{dx}{dt} = f(x).. (3)$$

donde:

$$x = [C_X^i \quad C_{SO_4^{2-}}^i \quad C_{H_2S}^i]^T, \quad \dot{x} = \frac{dx}{dt} = [\dot{C}_X^i \quad \dot{C}_{SO_4^{2-}}^i \quad \dot{C}_{H_2S}^i]^T \text{ y}$$

$$f(x) = \left[\frac{R_X^i}{V} - C_X^i k_d \quad -Y_{X/SO_4^{2-}} \frac{R_{SO_4^{2-}}^i}{V} \quad Y_{X/H_2S} \frac{R_{H_2S}^i}{V} \right]^T,$$

respectivamente, vector de estados, derivadas de los estados y cinéticas de reacción.

2.3 Diseño de los observadores

Para el diseño de los observadores considere la estructura básica del observador en la Ec. (4) con una copia del modelo del proceso sulfato reductor en la forma de la Ec. (3)

$$\hat{\hat{x}} = f(\hat{x}) + \Psi(\xi, G).. (4)$$

Donde $f(\hat{x})$ es el término relacionado con la copia del modelo, $\Psi(\xi, G)$ es el término relacionado con el error $\xi = \text{variable real} - \text{variable estimada}$, y G es la matriz de ganancias del observador. Ahora, inspirado en el trabajo (Grijalva-Hernández et al., 2018), el sistema en la Ec. (5) es un observador de estado para el sistema en la Ec. (3)

$$\hat{\hat{x}} = f(\hat{x}) + \gamma_1 [\xi + \Phi(\xi, G) + \gamma_2].. (5)$$

con las ganancias $\gamma_1 > 0$ y $\gamma_2 > 0$

En este trabajo se propone el término $\Phi(\xi, G)$ de la siguiente forma $k_1 \exp(-k_2 \xi) + \int_0^t \xi dt$ para el diseño de un observador con estructura proporcional-integral-exponencial de la retroalimentación de la biomasa medida. Además, para propósitos de comparación $\Phi(\xi, G) = \int_0^t \xi dt$ estructura de una retroalimentación proporcional-integral y también un observador únicamente con el término proporcional del error (observador clásico de Luenberger).

Prueba de convergencia de la dinámica del error ξ

Para probar la convergencia de la dinámica del error, ξ , de los observadores, considere el procedimiento en el apéndice A. Después de aplicar el procedimiento del apéndice A para cada observador, se llega a las ecuaciones para la dinámica del error y su solución para $\xi(s)$ (Tabla I). Las pruebas de convergencia muestran que para los tres observadores el

$\lim_{s \rightarrow 0} \|x_s\| \|\hat{x}_s\|^{-1} \leq 1$ o para el dominio del tiempo, t , $\lim_{t \rightarrow \infty} \|x_t\| \|\hat{x}_t\|^{-1} \leq 1$. La convergencia del error a cero se puede lograr mediante la selección a prueba y error las ganancias.

Tabla 1. Observadores

Observadores	Ec. para la dinámica del error
Obs.-1 (Luenberger)	$a \ \xi\ \leq -\gamma_1 \ \xi\ $
Obs.-2 (Grijalva-Hernández et al., 2018)	$b \ \xi\ \leq -\gamma_1 \left\{ \ \xi\ + \int_0^t \ \xi\ dt \right\}$
Obs.-propuesto (En este trabajo)	$c \ \xi\ \leq -\gamma_1 \left\{ \ \xi\ - k_1 \exp(-k_2 \xi) + \int_0^t \ \xi\ dt \right\}$

Soluciones para a, b y c:

$$a \lim_{s \rightarrow 0} \|x(s)\| \|\hat{x}(s)\|^{-1} \leq \lim_{s \rightarrow 0} [s + \gamma_1] [s + \gamma_1]^{-1} \leq 1 \Rightarrow$$

$$\lim_{s \rightarrow 0} \|x(s)\| \|\hat{x}(s)\|^{-1} \leq 1 \text{ o para } t \lim_{t \rightarrow \infty} \|\hat{x}(t)\| \|\hat{x}(t)\|^{-1} \leq 1$$

$$b \lim_{s \rightarrow 0} \|x(s)\| \|\hat{x}(s)\|^{-1} \leq \lim_{s \rightarrow 0} [s^2 + \gamma_1 s + s] [s^2 + \gamma_1 s + s]^{-1} \leq 1 \Rightarrow$$

$$\lim_{s \rightarrow 0} \|x(s)\| \|\hat{x}(s)\|^{-1} \leq 1 \text{ o para } t \lim_{t \rightarrow \infty} \|\hat{x}(t)\| \|\hat{x}(t)\|^{-1} \leq 1$$

$$c \lim_{s \rightarrow 0} \|x(s)\| \|\hat{x}(s)\|^{-1} \leq \lim_{s \rightarrow 0} \left[s^2 + \gamma_1 s + \gamma_1 - \frac{sk_1}{s+k_2} \right] [s^2 +$$

$$\gamma_1 s + \gamma_1 - \frac{sk_1}{s+k_2}]^{-1} \leq 1 \Rightarrow \lim_{s \rightarrow 0} \|x_s\| \|\hat{x}_s\|^{-1} \leq 1 \text{ o para } t$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \|\hat{x}(t)\| \|\hat{x}(t)\|^{-1} \leq 1$$

3. RESULTADOS

3.1 Modelado del proceso sulfato reductor

Para probar el desempeño de los observadores Obs.-1, Obs.-2 y Obs.-propuesto (Tabla 1), se modeló un proceso sulfato reductor en ausencia y presencia del cromo hexavalente Cr(VI) por la importancia de las bacterias sulfato reductoras para el diseño de tecnologías alternativas para reducir Cr(VI) a Cr(III) con sulfuro de hidrógeno y por su uso en la remoción de otros metales pesados. La Figura 2 muestra las concentraciones experimentales de biomasa, sulfato y sulfuro de hidrógeno en ausencia y presencia del metal. Para el cultivo control, es decir, sin presencia de Cr(VI) se observa un consumo de sulfato del 75% con respecto a la concentración inicial, en contraste con un consumo del 60% del cultivo con presencia del metal (Figura 2b). En el proceso de bioconversión la oxidación de lactato a acetato se verifica paralelamente con la reducción del sulfato a sulfuro de hidrógeno. Se observó una concentración de 520 mg/L y 450 mg/L de sulfuro de hidrógeno en la fase acuosa para los cultivos control y suplementados con el metal, respectivamente 2(Figura c). El diagrama simplificado del proceso se resume en la Figura 2d. Las concentraciones altas de sulfuro de hidrógeno en los cultivos inhiben el crecimiento celular (>400 mg/L). En ambos cultivos se observó la formación de una biopelícula. Ésta es utilizada por las células para embeberse y protegerse del ácido (ver Figura 3).

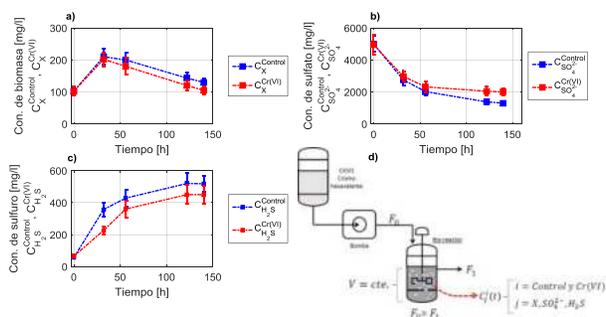


Fig. 2. Hallazgos experimentales de concentración de: biomasa (a), sulfato (b), sulfuro (c) y diagrama simplificado del proceso (d) para un proceso sulfato reductor sin y con presencia de cromo hexavalente Cr(VI), respectivamente, color azul y color rojo.

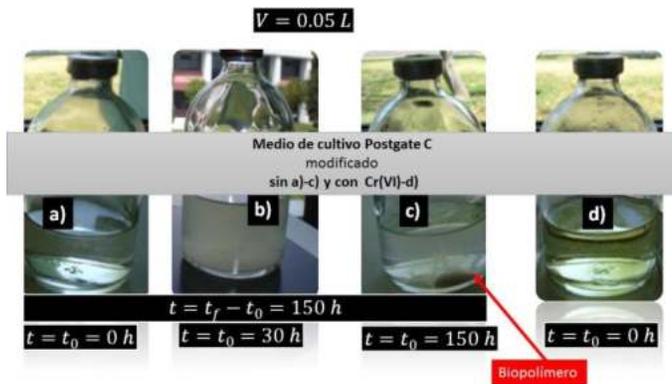


Fig. 3. Proceso sulfato reductor para *D. alaskensis* 6SR: inoculación del medio Postgate C a), cultivo con 30 h de edad b), formación del biopolímero en medio agotado c) y cultivo con presencia de Cr(VI) con 10 mg/L en $t=0$ h.

Para modelar el proceso sobre la base de las observaciones experimentales (Figura 2a-c), la cinética de crecimiento celular se identificó con cuatro modelos empíricos no estructurados en función de las concentraciones de biomasa, sulfato y sulfuro (ver Tabla 2). En la Figura 4 se muestran los resultados del modelado del proceso sulfato reductor control y con presencia del metal para las cinéticas propuestas en función de sulfato y sulfuro, es decir, $\mu(C_{SO_4^{2-}}^{Control}, C_{SH_2S}^{Control})$ y $\mu(C_{SO_4^{2-}}^{Cr(VI)}, C_{SH_2S}^{Cr(VI)})$, respectivamente. Los parámetros de los modelos se reportan en las Tablas 3. Para el caso de las cinéticas $\mu(C_X^i, C_{H_2S}^i)$ y $\mu(C_{H_2S}^i)$ con $i = control$ y $Cr(VI)$, datos no mostrados para los valores de los parámetros. Finalmente, el diagrama de fase muestra el estado inicial (semejante) y final (diferentes) para los cultivos control y con Cr(VI) contrasta el efecto del Cr(VI) sobre el crecimiento de la bacteria (Figura 5).

Tabla 2. Expresiones empíricas para modelado de la cinética de crecimiento celular de *D. alaskensis* 6SR.

Cinética	Relación	Parámetros
$\frac{R_X^i}{VC_X^i} = \mu(\cdot)$	$\mu(\cdot)/\mu_{max} =$ $a f(C_{SO_4^{2-}}^{Control}) f(C_{H_2S}^{Control})$ $f(C_{SO_4^{2-}}^{Cr(VI)}) f(C_{H_2S}^{Cr(VI)})$	Tabla No. y/o Fig. No.

$\frac{\mu(C_{SO_4^{2-}}^{Control}, C_{H_2S}^{Control})}{\mu_{max}}$	$\frac{C_{SO_4^{2-}}^{Control}}{K_{SO_4^{2-}}^{Control} + C_{SO_4^{2-}}^{Control}} \left[1 - \frac{C_{SH_2S}^{Control}}{C_{SH_2S}^{Control}} \right]^n$	Tabla 3 Figuras 6 y 7
$\frac{\mu(C_{SO_4^{2-}}^{Cr(VI)}, C_{H_2S}^{Cr(VI)})}{\mu_{max}}$	$\frac{C_{SO_4^{2-}}^{Cr(VI)}}{K_{SO_4^{2-}}^{Cr(VI)} + C_{SO_4^{2-}}^{Cr(VI)}} \left[1 - \frac{C_{SH_2S}^{Cr(VI)}}{C_{SH_2S}^{Cr(VI)}} \right]^n$	Tabla 3 Figuras 8 y 9
$\frac{\mu(C_X^i, C_{H_2S}^i)}{\mu_{max}}$	$\frac{C_X^i}{K_X + C_X^i} \left[1 - \frac{C_{SH_2S}^i}{C_{H_2S}^i} \right]^n$	- -
$\frac{\mu(C_{H_2S}^i)}{\mu_{max}}$	$\left[1 - \frac{C_{SH_2S}^i}{C_{H_2S}^i} \right]^n$	- -

^a donde cada una de las funciones $f_i(\cdot) \in [0,1]$ modelan el efecto de cada nutriente o/y producto sobre $\mu(\cdot) = \mu_{max} f_i(\cdot)$.

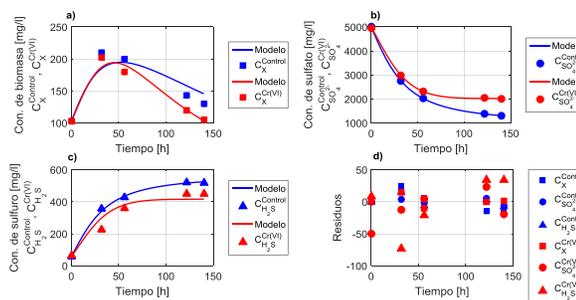


Fig. 4. Hallazgos experimentales (marcadores) frente a modelado del proceso (líneas) de las concentraciones de biomasa ($C_X^{Modelo}, C_X^{Cr(VI)}$), sulfato ($C_{SO_4^{2-}}^{Modelo}, C_{SO_4^{2-}}^{Cr(VI)}$) y sulfuro de hidrógeno ($C_{H_2S}^{Modelo}, C_{H_2S}^{Cr(VI)}$) en ausencia (color azul) y presencia (color rojo) de cromo hexavalente (Cr(VI), respectivamente, a), b) y c), y d) residuos.

Tabla 3. Parámetros de los modelos

Parámetro	Valor Control ¹	Valor con Cr(VI) ²	Unidades
k_d	0.0058	0.0092	mg/L
$K_{SO_4^{2-}}$	1.6479e+03	2.4354e+03	mg/L
$Y_{X/SO_4^{2-}}$	20.2596	14.6389	gX/gSO ₄ ²⁻
Y_{X/H_2S}	2.5690	1.7536	gX/gH ₂ S
μ_{max}	0.0658	0.0758	1/h
$C_{H_2S}^*$	584.0273	416.9185	mg/L
n	1.4262	0.7905	-

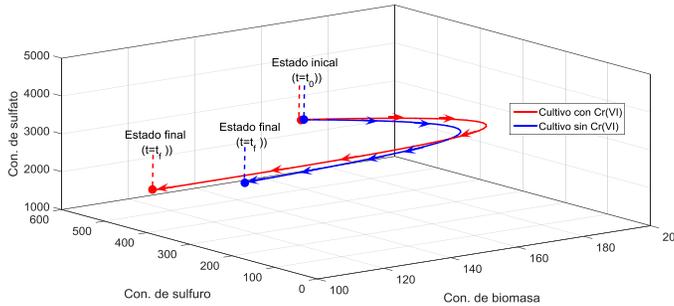


Fig. 5. Diagrama de fase del proceso sulfato reductor en ausencia y presencia de cromo hexavalente.

3.2. Observadores

En la Tabla 4 se muestra la estructura de los observadores con retroalimentación simple proporcional Obs.-1, proporcional-integral Obs.-2, y proporcional-integral-exponencial Obs.-propuesto, de la retroalimentación de la biomasa medida con un rango en de la matriz de observabilidad puntual de tres para los puntos de equilibrio, x_e^i , $x_e^i = [C_X^i \ C_{SO_4^{2-}}^i \ C_{H_2S}^i]^T$: x_e^i , $x_e^{Cr(VI)} = [10.3.7 \ 2021 \ 415]^T$ y $x_e^{Control} = [143.8 \ 1323 \ 524.8]^T$ en mg/L. La Figura 6 muestra la concentración del sulfato y la concentración de sulfuro de hidrógeno estimadas por los observadores y la concentración de biomasa medida considerando las mismas condiciones iniciales para el modelo y los observadores. El índice de desempeño o funcionamiento de la integral del tiempo multiplicada por el error al cuadrado ITAE, (en inglés ITSE) (Figura 6d) indica que el Obs.-1 es un buen (mejor) estimador de los estados a partir de la concentración de biomasa, en contraste con los observadores Obs.-2 y Obs.-3 (ver Figura 6d). Pero, para el caso con condiciones iniciales diferentes en un 10% del valor de la concentración nominal de biomasa del modelo para los observadores, el Obs.-propuesto es el mejor estimador (Figura 7). Un análisis numérico semejante de los observadores para el caso de los cultivos con presencia de Cr(VI) con las mismas condiciones iniciales para el modelo y los observadores y una variación del 10% de la concentración de la biomasa en los observadores (Figuras 8 y 9, respectivamente). Nuevamente el mejor estimador de estados es el Obs.-1 (Figura 8d) y finalmente, para condiciones iniciales diferentes, el Obs.-3 el mejor estimador (Figura 9d).

Resultados semejantes de los observadores se observan para el modelado del proceso con las cinéticas $\mu(C_X^i, C_{SH_2S}^i)$ y $\mu(C_{SH_2S}^i)$ con $i = control$ y $Cr(VI)$ (resultado no mostrados en este trabajo).

Tabla 4. Observadores

Observadores	$\hat{x}(t) = f(\hat{x}) + \Phi(\xi, p)$	Ganancias de $\Phi(\xi, p)$
Obs.-1	$\Phi(\xi, p) = \gamma_1[\xi(t) + \gamma_2]$	$\gamma_1 = 1 \ 1/h$ $\gamma_2 = 1 \ mg/L$
Obs.-2	$\Phi(\xi, p) = \gamma_1 \left[\xi + \int_0^t \xi dt + \gamma_2 \right]$	$\gamma_1 = 1.5 \ 1/h$ $\gamma_2 = 1.9 \ mg/L$
Obs.-propuesto	$\Phi(\xi, p) = \gamma_1 \left[\xi - k_1 \exp(-k_1 \xi) + \int_0^t \xi dt + \gamma_2 \right]$	$\gamma_1 = 1.5 \ 1/h$ $\gamma_2 = 1 \ mg/L$ $k_1 = 2 \ L/mg$ $k_2 = 1 \ mg/Lh$

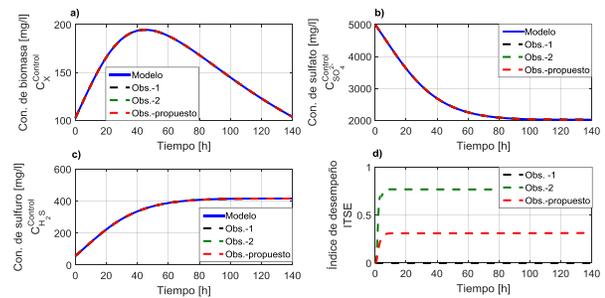


Fig. 6. Valores de concentración de: biomasa (a), sulfato (b), sulfuro (c) e ITSE (d) para el cultivo control con

$$x_0 = [C_X(0), C_{SO_4^{2-}}(0), C_{H_2S}(0)]^T = [\hat{C}_X(0), \hat{C}_{SO_4^{2-}}(0), \hat{C}_{H_2S}(0)]^T = [102mg/L, 5000 \ mg/L, 57 \ mg/L]^T.$$

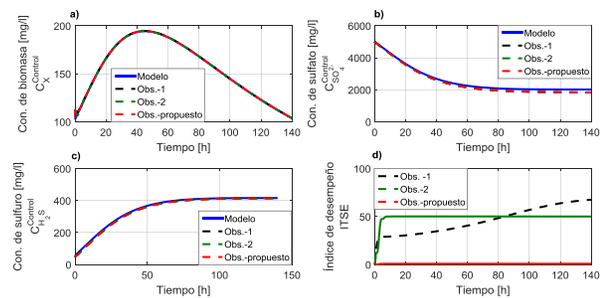


Fig. 7. Valores de concentración de: biomasa (a), sulfato (b), sulfuro (c) e ITSE (d) para el cultivo control con

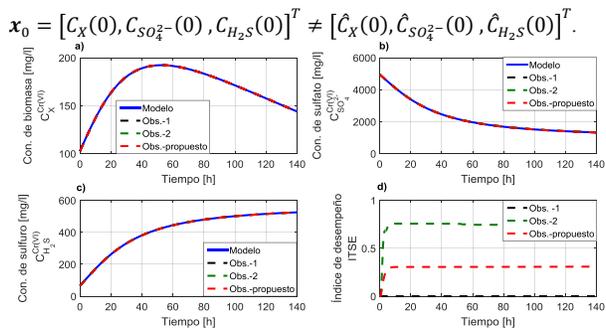


Fig. 8. Valores de concentración de: biomasa (a), sulfato (b), sulfuro (c) e ITSE (d) para el cultivo con Cr(VI) con $x_0 = [C_X^{Cr(VI)}(0), C_{SO_4^{2-}}^{Cr(VI)}(0), C_{SH_2S}^{Cr(VI)}(0)]^T = [\hat{C}_X^{Cr(VI)}(0), \hat{C}_{SO_4^{2-}}^{Cr(VI)}(0), \hat{C}_{SH_2S}^{Cr(VI)}(0)]^T = [102 \text{ mg/L}, 4950 \text{ mg/L}, 65 \text{ mg/L}]^T$.

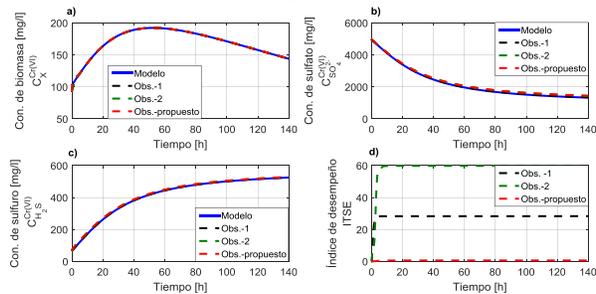


Fig. 9. Valores de concentración de: biomasa (a), sulfato (b), sulfuro (c) e ITSE (d) para el cultivo con Cr(VI) con $x_0 = [C_X^{Cr(VI)}(0), C_{SO_4^{2-}}^{Cr(VI)}(0), C_{SH_2S}^{Cr(VI)}(0)]^T = [\hat{C}_X^{Cr(VI)}(0), \hat{C}_{SO_4^{2-}}^{Cr(VI)}(0), \hat{C}_{SH_2S}^{Cr(VI)}(0)]^T$.

4. CONCLUSIONES

En este trabajo se presentó un análisis comparativo de tres observadores no lineales de estado: con retroalimentación simple proporcional, proporcional-integral, y proporcional-integral-exponencial, aplicados al modelo proceso de remoción de sulfato y producción de sulfuro de hidrógeno por *D. alaskensis* 6SR en ausencia (control) y presencia de Cr(VI). Los observadores utilizados tuvieron una buena estimación de los estados del proceso de remoción de sulfato ante condiciones iniciales iguales. No obstante, la estimación de los estados se afecta para una variación de $\pm 10\%$ en la condición inicial para la concentración de biomasa. Finalmente, la estimación de sulfuro de hidrógeno en procesos sulfato reductores es importante para fines de control de sistemas de biorremediación de efluentes con presencia de Cr(VI) utilizando sulfuro de hidrógeno para reducir Cr(VI) a Cr(III) u otros metales pesados.

AGRADECIMIENTOS

Luis Ricardo García-Aguado y Fátima Del Rosario Esparza Ríos agradecen al CCS-UG por el apoyo para el desarrollo de esta investigación a través del proyecto “Diseño de estimadores no lineales con aplicación a sistemas biológicos” No. de registro: CIDSC-3291201.

APÉNDICE A

Prueba de convergencia del error de observador. Considere el sistema compacto (A1) que representa al sistema en la Ec. (3) para el proceso sulfato reductor y el sistema en (A2) que define al observador para el proceso en (A1)

$$\dot{x} = f(x) \dots (A1)$$

$$\hat{\dot{x}}(t) = f(\hat{x}) + \gamma_1[\xi + \Phi(\xi, G) + \gamma_2] \dots (A2)$$

Ahora considere la dinámica del error, $\xi = C_X^i - \hat{C}_X^i \equiv x - \hat{x}$, como sigue:

$$\frac{d\xi}{dt} = \dot{x} - \hat{\dot{x}} \dots (A3)$$

Al sustituir las Ecs. (A1 y A2 en (A3)

$$\frac{d\xi}{dt} = f(x) - f(\hat{x}) - \gamma_1\xi - \gamma_1\Phi(\xi, G) - \gamma_1\gamma_2 \dots (A4)$$

Y considerando la desigualdad de Cauchy-Schwarz:

$$\left\| \frac{d\xi}{dt} \right\| \leq \|f(x) - f(\hat{x})\| - \gamma_1\|\xi\| - \gamma_1\|\Phi(\xi, G)\| - \gamma_1\gamma_2 \dots (A5)$$

Si además, se consideran las suposiciones: S1) $\|f(x) - f(\hat{x}(t))\| \leq F$ y S2) $\gamma_1\gamma_2 \approx F < \infty$, Entonces la Ec. (A5 es,

$$\left\| \frac{d\xi}{dt} \right\| \leq -\gamma_1\|\xi\| - \gamma_1\|\Phi(\xi, G)\| \dots (A6)$$

Aplicando la transformada de Laplace a la desigualdad diferencial en (A6)

$$\mathcal{L}\left\{\left\|\frac{d\xi}{dt}\right\|\right\} \leq -\gamma_1\mathcal{L}\left\{\|\xi\|\right\} + \|\Phi(\xi, G)\| \dots (A7)$$

Al desarrollar (A7), se tiene que,

$$s\|\xi(s)\| - \|\xi(0)\| \leq -\gamma_1\|\xi(s)\| - \gamma_1\|\Phi(\xi(s), G)\| \dots (A8)$$

$$\begin{aligned} & s\|X(s)\| - s\|\hat{X}(s)\| - \|X(0)\| + \|\hat{X}(0)\| \\ & \leq -\gamma_1[\|X(s)\| + \|\hat{X}(s)\|] \\ & - \gamma_1\|\Phi(\|X(s)\| - \|\hat{X}(s)\|, G)\| \dots (A9) \end{aligned}$$

Y sin la pérdida de generalidad con la condición inicial nula $\|X(0)\| = \|\hat{X}(0)\| = 0$ y Considerando que el término $\Phi(\|X(s)\| - \|\hat{X}(s)\|, G)$ al desarrollar para la variable medible y la estimada se tendrá que $\Phi(\|X(s)\| - \|\hat{X}(s)\|, G) = \Phi(\|X(s)\|, G) - \Phi(\|\hat{X}(s)\|, G)$, entonces:

$$\begin{aligned} & s\|X(s)\| - s\|\hat{X}(s)\| \\ & \leq -\gamma_1[\|X(s)\| - \|\hat{X}(s)\|] - \gamma_1\Phi(\|X(s)\|, G) \\ & + \gamma_1\Phi(\|\hat{X}(s)\|, G) \dots (A10) \end{aligned}$$

Y manipulando algebraicamente,

$$\begin{aligned} & \|X(s)\| \|\hat{X}(s)\|^{-1} \\ & \leq \left[s + \gamma_1 \right. \\ & \left. + \gamma_1 \frac{\Phi(\|\hat{X}(s)\|, G)}{\|\hat{X}(s)\|} \right] \left[s + \gamma_1 + \gamma_1 \frac{\Phi(\|X(s)\|, G)}{\|X(s)\|} \right]^{-1} \dots (A11) \end{aligned}$$

Por lo que en el limite de $\|X(s)\|/\|\hat{X}(s)\|$ cuando de $s \rightarrow 0$,

$$\begin{aligned} & \lim_{s \rightarrow 0} \|X(s)\| \|\hat{X}(s)\|^{-1} \\ & \leq \lim_{s \rightarrow 0} \left[s + \gamma_1 \right. \\ & \left. + \gamma_1 \frac{\Phi(\|\hat{X}(s)\|, G)}{\|\hat{X}(s)\|} \right] \left[s + \gamma_1 + \gamma_1 \frac{\Phi(\|X(s)\|, G)}{\|X(s)\|} \right]^{-1} \leq 1.. \end{aligned} \quad (A12)$$

Consecuentemente,

$$\begin{aligned} & \lim_{s \rightarrow 0} \left[s + \gamma_1 + \gamma_1 \frac{\Phi(\|\hat{X}(s)\|, G)}{\|\hat{X}(s)\|} \right] \left[s + \gamma_1 + \gamma_1 \frac{\Phi(\|X(s)\|, G)}{\|X(s)\|} \right]^{-1} \\ & = 1.. \end{aligned} \quad (A13)$$

$$\lim_{s \rightarrow 0} \|X(s)\| \|\hat{X}(s)\|^{-1} \leq 1.. \quad (A14)$$

o en el dominio del tiempo,

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \|X(t)\| \|\hat{X}(t)\|^{-1} \leq 1.. \quad (A15)$$

5. REFERENCIAS

Alvarez, M.T., Pozzo, T. & Mattiasson, B. Enhancement of Sulphide Production in Anaerobic Packed Bed Bench-scale Biofilm Reactors by Sulphate Reducing Bacteria. *Biotechnol Lett* **28**, 175–181 (2006). <https://doi.org/10.1007/s10529-005-5332-7>

Ayansina, S. A., Oluwaseyi, S. O., & Olubukola, O. B. (2018). Sulfate-Reducing Bacteria as an Effective Tool for Sustainable Acid Mine Bioremediation. *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01986>

Corriou JP. (2018) State Observers. In: Process Control. *Springer, Cham*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61143-3_18

Cord-Ruwisch, R. (1985). A quick method for determination of dissolved and precipitated sulfides in cultures of sulfate-reducing bacteria. *Journal of Microbiological Methods* **4**, 33-36.

Crispim JS, Dias RS, Vidigal PMP, de Sousa MP, da Silva CC, Santana MF, de Paula SO. Screening and characterization of prophages in *Desulfovibrio* genomes. *Sci Rep*. 2018 Jun 18;8(1):9273. doi: 10.1038/s41598-018-27423-z. PMID: 29915307; PMCID: PMC6006170.

Fernando Grijalva-Hernández, V. Peña Caballero, Pablo A. López-Pérez & Ricardo Aguilar-López. Estimation of plasmid concentration in batch culture of *Escherichia coli* DH5a via simple state observer. *Chemical Papers* volume 72, 2589–2598 (2018). <https://doi.org/10.1007/s11696-018-0478-7>

Hussain, A., Hasan, A., Javid, A. *et al.* Exploited application of sulfate-reducing bacteria for concomitant treatment of metallic and non-metallic wastes: a mini review. *Biotech* **6**, 119 (2016). <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0437-3>

Hussain, A., Qazi, J.I. Metals-induced functional stress in sulphate-reducing thermophiles. *Biotech* **6**, 17 (2016). <https://doi.org/10.1007/s13205-015-0342-1>

Mehta-Kolte, M.G., Stoeva, M.K., Mehra, A., Redford, S.A., Youngblut, M.D., Zane, G., Grégoire, P., Carlson, H.K., Wall, J. and Coates, J.D. (2019), Adaptation of *Desulfovibrio alaskensis* G20 to perchlorate, a specific inhibitor of sulfate reduction. *Environ Microbiol*, **21**: 1395–1406. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14570>

Rashamuse, K.J., Whiteley, C.G. Bioreduction of Pt (IV) from aqueous solution using sulphate-reducing bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol* **75**, 1429–1435 (2007). <https://doi.org/10.1007/s00253-007-0963-3>

Smith, WL. Hexavalent Chromium Reduction and Precipitation by Sulphate-reducing Bacterial Biofilms. *Environmental Geochemistry and Health* **23**, 297–300 (2001). <https://doi.org/10.1023/A:1012296812935>

van den Brand, T.P.H., Roest, K., Chen, G.H. *et al.* Occurrence and activity of sulphate reducing bacteria in aerobic activated sludge systems. *World J Microbiol Biotechnol* **31**, 507–516 (2015). <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1807-4>

Verma, A., Bishnoi, N.R. & Gupta, A. Optimization study for Pb(II) and COD sequestration by consortium of sulphate-reducing bacteria. *Appl Water Sci* **7**, 2309–2320 (2017). <https://doi.org/10.1007/s13201-016-0402-7>

V. Alcaraz-González, Rodolfo Salazar-Peña, Víctor González-Álvarez, Jean-Luc Gouzéb, & Jean-Philippe Steycer. (2005). A tunable multivariable nonlinear robust observer for biological systems. *Comptes Rendus Biologies*. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2004.11.008>

V. Peña Caballero, “Analysis of the operation of hybrid processes for the removal of Cr(VI)”, Ph D Thesis, *CINVESTAV-IPN*, México, 2013, (in Spanish).

Vicente Peña-Caballero, Ricardo Aguilar-López, Pablo A López-Pérez, M Isabel Neria-González (2016). Reduction of Cr (VI) utilizing biogenic sulfide: an experimental and mathematical modeling approach. *Desalination and Water Treatment*. **57**(28).13056-13065 <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1055811>