



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ingeniería

TESIS:

Simulación Matemática de un Reactor Anaerobio/Aerobio

Que presenta

Jorge Newton Bustamante

Para obtener el título de Ingeniero Mecánico Electricista (área
Electrónica)

Director de tesis:

Dr. Alejandro Vargas Casillas

ÍNDICE

1. Introducción	3
1.1 Motivación	4
1.2 Objetivos	5
1.3 Metas	5
1.4 Aportaciones	
1.5 Organización	
2. Antecedentes	7
2.1 Procesos de tratamiento de agua residual	10
2.2 Tratamiento combinado	
3. Metodología	
3.1 Generalidades	15
3.2 Obtención de concentraciones	16
3.3 Modelo matemático	21
4. Resultados y discusión	
4.1 Resultados de la calibración	30
4.2 Cinéticas de degradación	31
4.3 Resultados de la parametrización	40
4.4 Comparación de resultados	41
5. Conclusiones	44
6. Bibliografía	45
Anexo I : Programas del software ConSpect	46
Anexo II : Programas para realizar la parametrización	51

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 2.1	Diagrama de un SBR con fases aerobia/anaerobia y sus etapas	12
Figura 2.2	Señal de ORP y concentraciones estimadas de PNP & PAP con el método NSD	13 15
Figura 2.3	Diagrama de Flujo para la operación del algoritmo BioFReC-dORP	20
Figura 3.1	Ejemplos de gráficas del programa KINDATA	21
Figura 3.2	Ejemplos de gráficas del programa KINETICS	22
Figura 3.3	Diagrama básico de un reactor de tanque agitado	25
Figura 3.4	Curva de Haldane	31
Figura 4.1	Espectros base de calibración	33
Figura 4.2	Espectros base del Ciclo 16	33
Figura 4.3	Concentraciones estimadas del Ciclo 16	34
Figura 4.4	Espectros base del Ciclo 87	34
Figura 4.5	Concentraciones estimadas del Ciclo 87	35
Figura 4.6	Espectros base del Ciclo 163	35
Figura 4.7	Concentraciones estimadas del Ciclo 163	36
Figura 4.8	Espectros base del Ciclo 167	36
Figura 4.9	Concentraciones estimadas del Ciclo 167	37
Figura 4.10	Espectros base del Ciclo 206	37
Figura 4.11	Concentraciones estimadas del Ciclo 206	39
Figura 4.12	Espectros base del Ciclo 16 fase aerobia	39
Figura 4.13	Concentraciones estimadas del Ciclo 16 fase aerobia	40
Figura 4.14	Espectros base del Ciclo 83	40
Figura 4.15	Concentraciones estimadas del Ciclo 83	42
Figura 4.16	Comparación del modelo matemático Ciclo 16	43
Figura 4.17	Comparación del modelo matemático Ciclo 87	43
Figura 4.18	Comparación del modelo matemático Ciclo 163	44
Figura 4.19	Comparación del modelo matemático Ciclo 167	44
Figura 4.20	Comparación del modelo matemático Ciclo 206	41
Tabla 4.1	Resultados de la optimización de la fase aerobia	41
Tabla 4.1	Resultados de la optimización de la fase anaerobia	

1 Introducción

1.1 Motivación

Hoy día los procesos de tratamiento de aguas residuales son no sólo buenos para el medio ambiente sino que están regulados por normas cada vez más estrictas. Contar con un sistema de tratamiento confiable y fácil de controlar permitiría reducir la contaminación ambiental considerablemente. Los procesos de tratamiento biológico resultan efectivos porque permiten la biodegradación de contaminantes del agua, y no sólo su remoción. Entre los métodos de tratamiento biológico se distinguen dos tipos, preponderantemente: los aerobios, donde las transformaciones bioquímicas se dan en presencia de oxígeno, y los anaerobios, donde éstas suceden sin necesidad de este elemento. La combinación de ambos ambientes alternados en un mismo sistema puede resultar ventajosa para la biodegradación de ciertos compuestos difíciles de degradar por sólo una vía, tales como algunos presentes en aguas residuales industriales.

Se han probado con éxito sistemas de tratamiento anaerobio-aerobios para la remoción de compuestos nitroaromáticos o incluso de colorantes textiles. Esto se ha hecho en reactores discontinuos secuenciales (SBR), que inician con una etapa anaerobia y continúan después con una aerobia. Un parámetro operacional importante es la duración de cada una de las fases de reacción, y para hallarlo es necesario medir los niveles o concentraciones de los contaminantes presentes, así como sus productos intermedios. Desgraciadamente esto no es fácil, pues se requieren tomar muestras puntuales que posteriormente deben ser analizadas mediante técnicas analíticas complejas, como la cromatografía. Esta técnica es destructiva, por lo que limita el número de muestras que pueden tomarse durante una etapa de reacción en un ciclo SBR.

Para saber cómo operar el biorreactor es conveniente también conocer la dinámica de biodegradación durante las etapas de reacción, para lo cual resulta imprescindible contar con mediciones confiables y suficientes de al menos algunos de los contaminantes que se desean remover. De aquí surge la necesidad de mejorar las técnicas de medición de algunos contaminantes para contar con más y mejores datos. Esta posibilidad la brindan las técnicas espectrofotométricas, que no son destructivas y que para cierto tipo de compuestos ofrecen buena exactitud y precisión. Contar con suficientes datos de los perfiles de degradación de algunos compuestos también permite proponer modelos matemáticos dinámicos que expliquen la dinámica de biodegradación, con lo cual será posible posteriormente diseñar mejores estrategias de operación y control del proceso.

En este trabajo se presenta la aplicación de una técnica espectrofotométrica de medición de contaminantes en aguas residuales de tipo industrial, así como el uso de los datos obtenidos para proponer un modelo matemático sencillo de la dinámica de biodegradación. Se reportan resultados experimentales obtenidos con un biorreactor piloto de laboratorio empleando p-nitrofenol como compuesto modelo y se explica con detalle el desarrollo del software para llevar a cabo la estimación de las concentraciones del p-nitrofenol y de su producto durante la etapa anaerobia, el p-aminofenol, a partir del espectro de absorción medido en el rango ultravioleta-visible (UV-Vis).

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Obtener un modelo matemático que explique la biodegradación de p-nitrofenol en un biorreactor discontinuo anaerobio/aerobio con base en datos experimentales

1.2.2 Objetivos particulares

1. Obtener cinéticas de degradación a partir de espectros de absorbancia durante la biodegradación.
2. Proponer un modelo matemático para explicar tanto la fase anaerobia, como la fase aerobia del proceso.
3. Obtener los parámetros del modelo para la fase anaerobia con base en los datos cinéticos obtenidos.
4. Obtener los parámetros del modelo para la fase aerobia con base en los datos cinéticos obtenidos.
5. Validar el modelo obtenido.

1.3 Metas

Para el desarrollo de esta tesis se plantearon las siguientes metas:

1.3.1. Desarrollar un software para determinar las concentraciones de contaminantes en aguas residuales a partir del espectro de absorbancia en el rango UV-Vis, empleando la técnica de deconvolución no lineal planteada por Vargas y Buitrón (2006).

1.3.2. Con base en los datos recabados de varios ciclos de un reactor discontinuo secuencial (SBR) piloto experimental, obtener cinéticas de biotransformación de p-nitrofenol a p-aminofenol durante la etapa anaerobia y su posterior biodegradación durante la etapa aerobia del proceso.

1.3.3. Con base en las cinéticas obtenidas, proponer un modelo matemático que explique la dinámica del proceso en lote.

1.4 Aportaciones

El trabajo de tesis tuvo las siguientes aportaciones:

1.4.1. Se desarrolló un paquete de software, llamado ConSpect, como un toolbox de Matlab, para llevar a cabo la estimación de concentraciones a partir de espectro de absorbancia UV-Vis, así como para calibrar el método.

1.4.2. Se propuso la estructura del modelo matemático de la dinámica de biotransformación y biodegradación para el proceso estudiado, y se obtuvieron sus parámetros.

1.5 Organización de la tesis

En el siguiente capítulo se explican los diferentes procesos para el tratamiento de aguas residuales así como sus ventajas y desventajas; se detalla el funcionamiento de un biorreactor discontinuo secuencial también conocido como SBR detallando las diferentes fases de la operación de este tipo de reactores. Se comentan también los pasos del proceso anaerobio/aerobio y el uso del potencial de Óxido-reducción para la automatización y control del proceso de tratamiento de aguas. Por último se explica el uso de la espectrofotometría para la medición de contaminantes en el agua.

En el tercer capítulo se presentan los métodos utilizados para la obtención de resultados, comenzando con una breve introducción de la ley de Lambert-Beer para la obtención de concentraciones mediante la espectrofotometría UV-Vis. Se incluyen algunas consideraciones teóricas para la descomposición del espectro UV-Vis de una muestra y el uso de la deconvolución no lineal para la determinación de concentraciones en la misma. Se detallan los programas desarrollados para Matlab que nos auxiliaron en la verificación de los datos de laboratorio contra el modelo teórico. Se detallan las bases teóricas del modelo matemático propuesto así como el desarrollo del mismo. Se dan antecedentes de optimización, el uso de la optimización no lineal y los detalles de calibración del biorreactor.

El capítulo cuatro se desglosan los espectros base utilizados para la determinación de concentraciones en las muestras tomadas al biorreactor. También se detallan los resultados de la optimización no lineal del modelo propuesto. Se muestran las gráficas de concentración de p-aminofenol y p-nitrofenol de las corridas seleccionadas para la confirmación del modelo propuesto, así como las gráficas de degradación de ambos compuestos. Los resultados de la evaluación de concentraciones y las cinéticas de degradación se muestran tanto para la etapa aerobia como la anaerobia del proceso de degradación en el biorreactor. Al final del capítulo detallamos los resultados de la optimización no lineal del modelo y la interpretación de los resultados. Para efectos de comprobación se muestra una comparación gráfica de degradación real contra los resultados del modelo.

En el capítulo 5 se presentan las conclusiones del trabajo. El capítulo 6 presenta la bibliografía y al final en los anexos se detallan los programas de Matlab desarrollados para la comprobación del modelo matemático.

2 Antecedentes

2.1 Procesos de tratamiento de agua residual

De manera general, se distinguen dos tipos de sistemas para el tratamiento de aguas residuales: los sistemas que emplean procesos físico-químicos y los que se basan en procesos biológicos. Los sistemas físico-químicos suelen tener baja eficiencia en la degradación de los contaminantes. Tienen elevados costos de instalación, operación y mantenimiento y en la mayoría de las veces es necesario realizar un tratamiento posterior para los desechos que generan. Los sistemas biológicos se utilizan cuando los principales componentes contaminantes son biodegradables, en cuyo caso la materia orgánica es utilizada como alimento de microorganismos que se encuentran en tanques o reactores (Henze et al., 2008).

Existen procesos anaerobios, aerobios o combinados anaerobios-aerobios. Los últimos son una alternativa viable para compuestos difíciles de biodegradar por procesos aerobios o anaerobios (Melgoza y Buitrón, 2001). Sin embargo, para estos procesos son necesarias estrategias de control adecuadas, además de procesos de tratamiento eficaces, eliminando con el control adecuado la necesidad de mediciones frecuentes en equipos costosos, aumentando con esto la eficiencia del proceso.

2.1.1 Procesos anaerobios

El tratamiento anaerobio en un proceso para la biodegradación de la materia orgánica presente en el agua residual se caracteriza porque se lleva a cabo en ausencia de oxígeno, así como por la producción de biogás y la producción de una pequeña cantidad de biomasa nueva por medio de un proceso complejo el cual involucra distintas poblaciones bacterianas (van Lier et al., 2008).

Este proceso tiene muchas ventajas. Las bacterias anaerobias son capaces de transformar en biogás a la mayoría de las sustancias orgánicas presentes; la formación de lodo residual es mínima y la demanda de nutrientes es muy baja. Además, la producción de biogás permite al proceso generar energía que puede ser utilizada para la combustión en calderas de vapor o como combustible de motores, entre otros. Lo anterior reduce en gran medida los costos de operación comparados con el gran consumo de energía de los procesos aerobios. Por otra parte los lodos generados pueden ser utilizados como fertilizantes de suelos sin un tratamiento posterior. Sin embargo, las aguas residuales tratadas por digestión anaerobia suelen conservar considerables concentraciones de materia orgánica; este problema puede ser resuelto si se le acopla un reactor aerobio para completar la biodegradación. En resumen, se pueden citar las siguientes ventajas y algunos inconvenientes que presenta la digestión anaerobia (van Lier et al., 2008):

Ventajas:

- Bajo consumo de energía (no necesita aeración)
- Costos de operación bajos debido al ahorro considerable en los procesos de manejo y evacuación del exceso de lodo y menor requisito de nutrientes.
- Requerimientos nutricionales bajos.

- La biomasa puede permanecer mucho tiempo en ausencia de sustrato sin perder su actividad metabólica.
- Es posible la recuperación de energía debido al metano generado.
- Baja producción de lodo.
- Alta capacidad de adaptación de microorganismos a diferentes tipos de agua residual.

Desventajas:

- Para obtener grados altos de tratamiento requiere de temperaturas altas.
- El medio es corrosivo.
- Tiene riesgos a la salud por el sulfuro de hidrógeno (H₂S) generado.
- Puede presentar olores desagradables por H₂S, ácidos grasos y amidas.
- El compuesto no es totalmente mineralizado.

A partir de los años 70, los sistemas anaerobios se han estudiado y comenzado a implementarse en la industria debido a las grandes ventajas que proporcionan. Además representan económicamente una solución viable para las aguas residuales con altas concentraciones de materia orgánica (van Lier et al., 2008).

2.1.2 Procesos aerobios

Los procesos biológicos aerobios se caracterizan por las reacciones de oxidación biológica en las cuales los organismos de la biomasa necesitan oxígeno par respirar y llevar a cabo todas sus funciones. La reacción es muy eficiente porque libera grandes cantidades de energía, la cual es utilizada preferentemente por la biomasa en la síntesis. Los residuos de dicho proceso son compuestos estables (Buitrón et al., 2006).

Los procesos biológicos aerobios presentan las siguientes ventajas y desventajas:

Ventajas:

- Tiempos de residencia bajos, y por lo tanto el costo de inversión en el volumen del reactor es menor.
- Alta remoción de contaminantes.
- Mineralización de compuestos tóxicos biodegradables.
- Ausencia de olores.

Desventajas:

- Generación de grandes cantidades de biomasa: entre cinco a diez veces mayor que en los anaerobios, lo que involucra problemas de disposición y tratamiento de los lodos de purga.
- No sirven para cargas orgánicas muy altas; es decir, no pueden tratar concentraciones altas de contaminantes.
- Altos requerimientos energéticos por el suministro de oxígeno y el mezclado.

2.1.3 Reactor discontinuo secuencial (SBR)

Los sistemas tradicionales de flujo continuo, tales como el proceso de lodos activados, tienen grandes dificultades para alcanzar los estándares estipulados en las normas actuales. El tratamiento biológico de compuestos químicos complejos es particularmente difícil debido a la inhibición y/o a la toxicidad de éstos. Un reactor discontinuo secuencial (SBR) es una solución ante este tipo de problemas gracias a su flexibilidad de operación, que deriva de la posibilidad de ajustar la duración de sus fases (Buitrón et al., 2006). Otras de las ventajas de los SBR's son las siguientes (Mace y Mata-Álvarez, 2002):

- Favorece un grupo de microorganismos estable y con alto rendimiento.
- Flexibilidad en su operación; es posible manipular el reactor en caso de error
- Bajos costos de inversión y mantenimiento comparados con los reactores de flujo continuo; el mismo tanque sirve de reactor y de sedimentador..
- Requerimientos mínimos de espacio
- Elimina la necesidad de bombas y tuberías para la recirculación de lodos activados.
- La concentración de lodos es fácilmente controlada.
- No es necesario el lavado de biomasa.

Un SBR opera generalmente en cinco fases bien definidas (Wilderer et al., 2001):

- a) **Llenado.** Adición del sustrato y nutrientes al reactor.
- b) **Reacción.** Los microorganismos en suspensión dentro del reactor (lodos activados) mineralizan los componentes tóxicos del agua residual.
- c) **Sedimentación.** Separación de la biomasa del licor tratado.
- d) **Vaciado.** Descarga del agua clarificada.
- e) **Tiempo Muerto.** Permite ajustar tiempos de reacción.

En la figura 2.1 (del proceso anaerobio/aerobio) se muestran en forma esquemática las etapas del SBR, las cuales conforman el llamado ciclo de operación. Se esquematizan estas fases para el caso particular del proceso SBR estudiado en este trabajo.

Determinar la duración óptima de cada fase en un reactor SBR es una tarea difícil. Generalmente cada etapa tiene una duración fija y basada en la experiencia del operador. Este tipo de operación es de uso limitado, debido a que sólo representa condiciones óptimas para un influente de composición específica. Cuando un SBR carece de estrategias de control pueden surgir los siguientes problemas (Moreno-Andrade y Buitrón, 2003):

1. **Inhibición.** Es necesaria la aclimatación para hacer la biomasa biodegradable, y se deben fijar tiempos de reacción muy largos para asegurar la mineralización del tóxico.
2. **Choque de concentración.** Si las concentraciones del tóxico son muy altas, la biomasa puede verse seriamente afectada en cantidad y salud e incluso puede llegar a morir. En presencia de variaciones inusuales de concentración se incrementa el tiempo de degradación y es posible que ésta no sea completa, debido a que el tiempo de reacción es fijo.
3. **Desaclimatación.** Disminución de la capacidad de biodegradación de los

microorganismos a causa de ayuno (ausencia de sustrato por largos periodos) debido a los tiempos de reacción muy largos.

4. **Ineficiencia y baja confiabilidad en la operación.** La combinación de los factores anteriores y la forma de operación usual conducen a una baja eficiencia del reactor en términos de la cantidad de agua tratada por unidad de tiempo y por unidad de volumen.

2.2 Tratamiento combinado anaerobio/aerobio

2.2.1 Proceso anaerobio - aerobio

Los procesos de tratamiento biológico anaerobio y aerobio convencionales pueden ser combinados, acoplando ambientes anaerobios-aerobios secuenciales en unidades separadas o integrados en un mismo reactor, para remover compuestos químicos orgánicos tóxicos del agua residual, ya que en muchos casos es la única forma de mineralizar estos compuestos para dar cumplimiento a las normas ambientales cada vez más estrictas (Melgoza y Buitrón, 2001).

Generalmente este tipo de tratamientos se aplica a aguas residuales con altas concentraciones de materia orgánica, las cuales no pueden ser tratadas únicamente por el proceso aerobio. La aplicación práctica del tratamiento anaerobio se ve imposibilitada por la presencia de algunas sustancias difíciles de biodegradar, tales como el o-cresol, fenoles, compuestos nitroaromáticos, entre otros (Martínez et al., 2006). Los efluentes tratados por vía anaerobia requieren de un tratamiento adicional (generalmente aerobio) ya que conservan materia orgánica.

El proceso anaerobio-aerobio puede ser llevado a cabo en unidades separadas, como una secuencia de fases anaerobio-aerobio, como un SBR, por intervalos estratificados en un medio aerobio sobre uno anaerobio como las lagunas facultativas; y por acoplamiento de medios aerobios y anaerobios. En la figura 2.1 se muestra un ejemplo usando un SBR.

Algunos estudios muestran que los sistemas acoplados anaerobio-aerobio pueden ser una alternativa viable para la biodegradación de compuestos xenobióticos difíciles de tratar en las aguas residuales industriales. Algunas de las ventajas que presenta el sistema combinado comparado con los procesos convencionales son las siguientes:

- Alta remoción de contaminantes;
- Eliminación de tratamientos posteriores;
- Generación de metano, el cual puede ser aprovechable como combustible;
- Costos de operación y mantenimiento menores que un proceso aerobio o anaerobio;
- Mayor degradación de xenobióticos debido a que se obtiene una etapa reductiva en la fase anaerobia y una oxidativa subsiguiente, lo que permite la mineralización del compuesto.

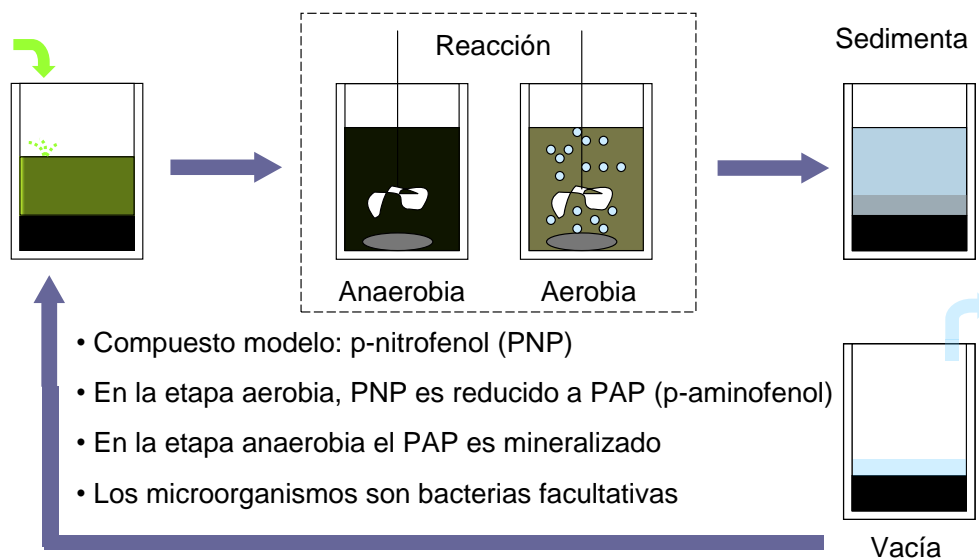


Fig.2.1: Diagrama de SBR con fases aerobia/anaerobia y sus etapas

2.2.2 Uso del potencial de óxido-reducción para automatización

Para poder realizar el control de un biorreactor, recientemente se ha realizado un gran esfuerzo por encontrar parámetros fácilmente medibles, que sean confiables, y sobre todo que representen el estado real del sistema; es decir, que tengan la capacidad de detectar cambios bruscos en el sistema sin afectarlo (Olsson, 2008).

Por lo tanto el foco del control de los bioprocesos es la habilidad para monitorear las variables importantes del proceso, tales como pH, temperatura, oxígeno disuelto (OD), rapidez de consumo de oxígeno y la rapidez de evolución del dióxido de carbono. Sin embargo el potencial de óxido reducción y el oxígeno disuelto han ganado campo de aplicación para monitorear el comportamiento de los procesos biológicos en línea, ya que éstos tienen una relación muy estrecha con la actividad de los microorganismos así como por la flexibilidad que nos brindan para estimar otras variables de estado.

La escasa información que proporcionan otros parámetros en un proceso biológico en condiciones anóxicas, y obviamente en procesos anaerobios, ha creado un nuevo interés en la medición del potencial de óxido reducción para el control del proceso (Plisson-Saune et al., 1996). La medición del ORP es más significativa en los procesos de nitrificación y desnitrificación que la medición de oxígeno disuelto, debido a que tanto en el catabolismo como en el anabolismo los microorganismos realizan reacciones de óxido-reducción, por lo que el ORP puede ser un indicador de la actividad de los mismos.

La interpretación de la medición del ORP está basada en la detección de un punto de quiebre o “codo” en la curva de ORP. El “codo” indica la aparición o desaparición de especies en un sistema de óxido-reducción (Vanrolleghem y Lee, 2003). Un ejemplo de esto se muestra en la figura 2.2, donde se aprecia cómo, al agotarse el compuesto PNP (p-nitrofenol) se produce un quiebre o codo en la señal del ORP, y al agotarse el compuesto PAP (p-aminofenol) se aprecia una subida repentina de la misma variable.

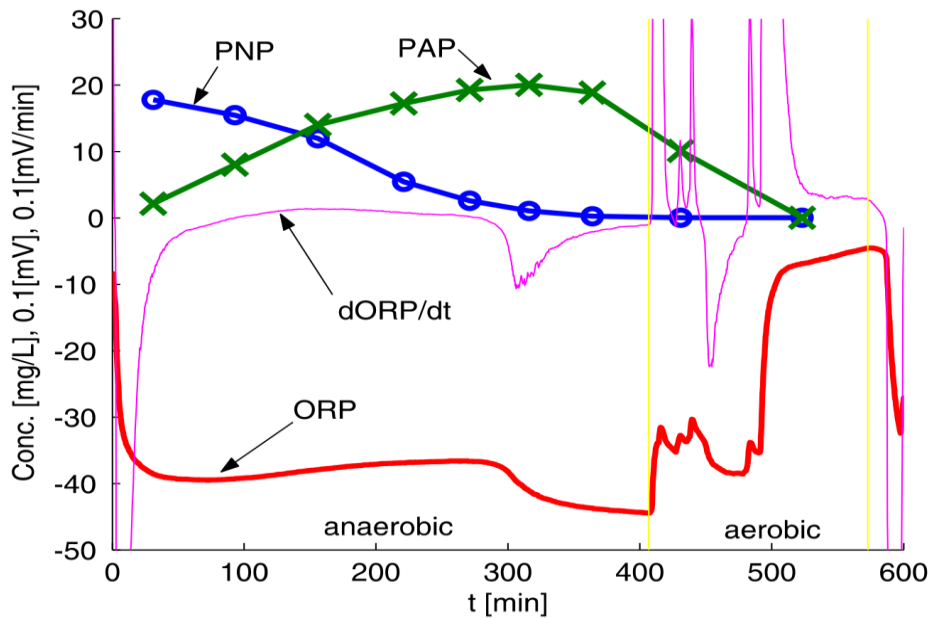


Fig 2.2 Señal de ORP y concentraciones estimadas de PNP & PAP con el método NSD

El monitoreo y control en línea del ORP puede ser una herramienta práctica para el control de procesos de lodos activados, digestión de lodos, remoción de carbón, nitrógeno y contaminantes de fósforo de aguas residuales en un reactor de flujo continuo, procesos químicos de oxidación-reducción, remoción de color usando procesos químicos de oxidación, y la degradación de compuestos nitro-aromáticos en un SBR. También puede ser utilizado como parámetro de control para un proceso en donde bacterias inmovilizadas son utilizadas en la remoción de nutrientes, así como en los procesos de nitrificación-desnitrificación par estimar la eficiencia del proceso (Plisson et al., 1996; Yu et al., 1997; Zipper et al., 1998; Holman y Wareham, 2003).

Buitrón et al. (2006) demostraron y discutieron que el ORP puede ser empleado como la variable que permite encontrar el fin de la etapa anaerobia de un proceso anaerobio-aerobio de degradación de compuestos nitro-aromáticos (ej. p-nitrofenol), si se utiliza con un algoritmo adecuado y suficientemente sensible para encontrar cuándo sucede la máxima degradación del compuesto y dar por terminada la etapa anaerobia.

Posteriormente, Buitrón et al. (2006) demostraron que el algoritmo propuesto, llamado dORP-BioFReC, es confiable y robusto, ya que no se ve influenciado ni por las variaciones de la concentración de biomasa y cosustrato, ni por la presencia de sulfatos. Este algoritmo posteriormente fue modificado para usar el ORP también para determinar el fin de la reacción aerobia (Vargas et al, 2006; Martínez et al., 2006). El software fue reescrito y elaborado como el modo de operación en el software programado en LabView para operar reactores discontinuos secuenciales y denominado BioReC. En la figura 2 se muestra una cinética típica durante la degradación del p-nitrofenol cuando se usa este software. Los diagramas de flujo de los algoritmos para las fases anaerobia y aerobia se muestran en las figuras 3 y 4, respectivamente.

Aunque la automatización de un reactor discontinuo secuencial anaerobio-aerobio ha sido exitosa mediante la aplicación de los algoritmos anteriores, no se han estudiado a

fondo los mecanismos que hacen que funcione, debido principalmente a la ausencia de un modelo matemático que explique esta dinámica del ORP. En este trabajo se busca justamente hallar una primera aproximación a este modelo de manera empírica; es decir, con base en los datos experimentales hallado anteriormente. Para ello se propone también una novedosa técnica de estimación de las concentraciones de los compuestos involucrados (p-nitrofenol y p-aminofenol) empleando espectrogramas UV/Vis.

2.2.3 Medición de contaminantes mediante espectroscopia.

De acuerdo a la ley de Lambert-Beer, la concentración de una sustancia en un medio transparente (como el agua), es proporcional a la absorbancia a cierta longitud de onda en el espectro ultravioleta o visible (UV/VIs). Este principio básico es el que se usa ampliamente en colorimetría, en cromatografía y en espectrofotometría. Si bien la técnica es menos tardada que una determinación, por ejemplo, por cromatografía, también puede ser tardada, pues antes hay que centrifugar y filtrar la muestra para eliminar la materia orgánica suspendida (microorganismos), además de montarla en el espectrómetro y tomar la lectura. Si el espectro de la muestra es unimodal, indicativo de que se trata de un solo compuesto predominante, la determinación de la concentración procede de acuerdo a una calibración previa a la longitud de onda donde se presenta el pico de absorbancia; pero si coexisten más de dos compuestos y sus espectros presentan picos muy cercanos, entonces hay que usar otras técnicas para determinar sus concentraciones a partir del espectro obtenido, tales como los mínimos cuadrados parciales (PLS) o la deconvolución no lineal (Vargas y Buitrón, 2006).

ANAEROBIC PHASE

Measured variables:

ORP: oxidation-reduction potential
 dORP: numerical time derivative of ORP
 ($dORP = dORP / dt$)

Control parameters:

F_S : factor to wait for stabilization of numerical differentiators ($F_S \sim 0.3$)
 F_{dORP} : factor to detect the end of knee
 C_{dORP} : lower bound to detect start of knee
 $T_{min,An}$: minimal anaerobic phase duration
 $T_{max,An}$: maximal anaerobic phase duration
 $T_{E,An}$: extra time before finishing anaerobic phase

Internal variables:

T_S : elapsed time of a subphase (=0 at subphase start)
 T_R : extra time after the end of knee
 $dORP_{min}$: local minimum of dORP
 $dORP_{max}$: local maximum of dORP

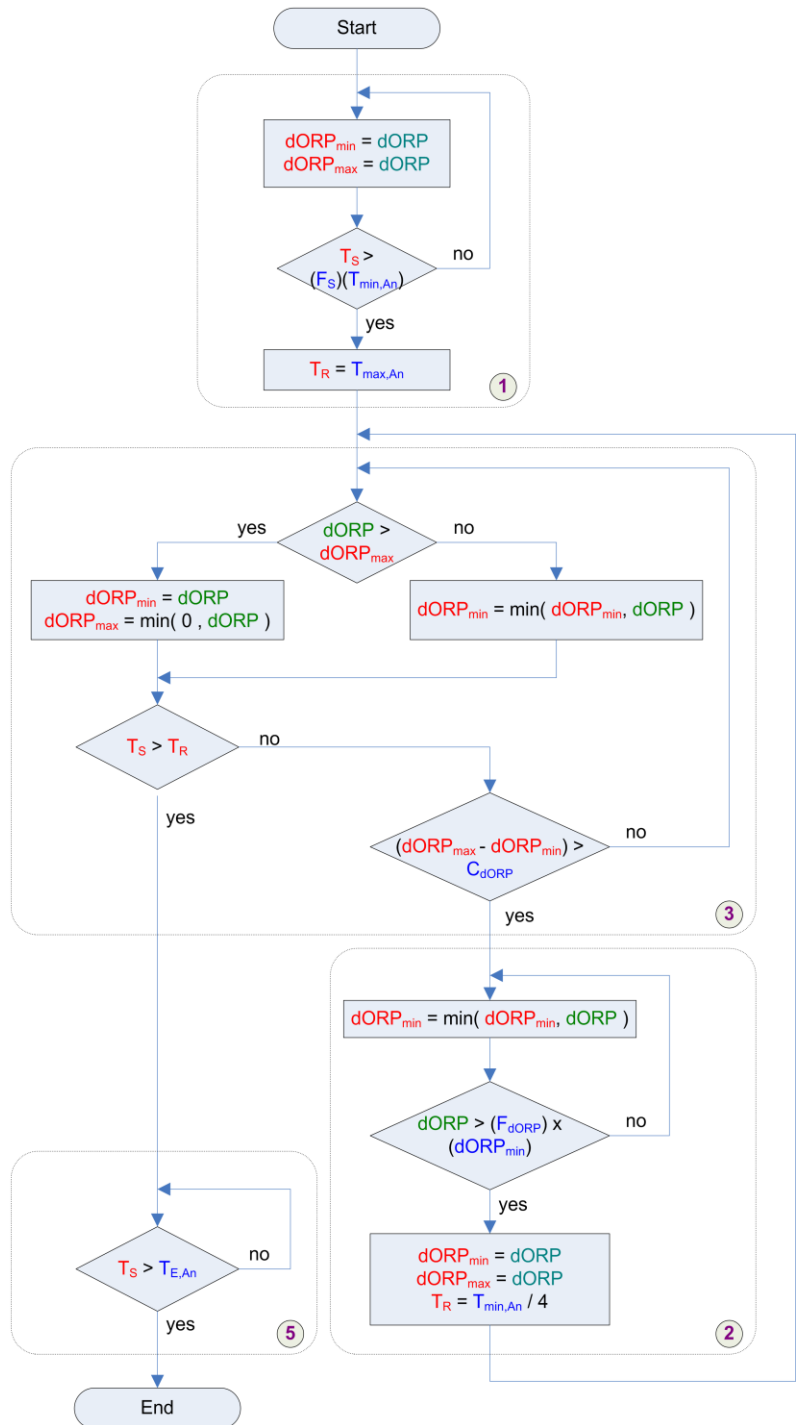


Fig 2.3. Diagrama de flujo para la operación del algoritmo BioFReC-dORP

3. Metodología.

3.1 Generalidades

El desarrollo del trabajo sucedió por etapas. Los datos de las mediciones espectrofotométricas, así como el montaje, aclimatación y operación del biorreactor experimental no fueron parte de este trabajo, sino de uno anterior. Se contaba entonces con una base de datos de los espectros de absorbancia, clasificados de acuerdo a su fecha de toma de muestra y con respecto.

Una primera tarea consistió en ordenar los espectros y escoger sólo aquellos ciclos para los cuales se tuvieran suficientes datos. Posteriormente se desarrolló el software para determinar las concentraciones a partir de éstos y con ello se pudieron generar las cinéticas de biotransformación y biodegradación. Finalmente estos perfiles se emplearon para proponer la estructura y parámetros de un modelo matemático de la cinética correspondiente al proceso.

En los siguientes apartados se detallan la técnica de deconvolución no lineal para la estimación de concentraciones a partir del espectro de absorbancia medido, el desarrollo del modelo matemático de la dinámica de biotransformación y biodegradación, y finalmente, se describe el sistema piloto experimental y cómo se obtuvieron los datos.

3.2 Obtención de concentraciones mediante espectrofotometría UV/Visible

3.2.1 Principios de espectrofotometría: ley de Lambert-Beer

En óptica, la ley de Lambert-Beer, también conocida como ley de Beer o ley de Lambert-Beer-Bouguer es una relación empírica que relaciona la absorción de luz con las propiedades del material atravesado.

Esto se puede expresar de distintas formas:

$$s = \varepsilon l A$$

$$\frac{I_1}{I_0} = e^{-\varepsilon l c}$$

$$A = -\log \frac{I_1}{I_0}$$

$$\varepsilon = \frac{4\pi k}{\lambda}$$

Donde:

- A es la absorbancia (o absorbencia)
- I_0 es la intensidad de la luz incidente
- I_1 es la intensidad de la luz una vez que ha atravesado la muestra
- l es la distancia que la luz atraviesa por la muestra
- s es la concentración de sustancia absorbente en la muestra
- ε es el coeficiente de absorción o la absorbancia molar de la sustancia
- λ es la longitud de onda del haz de luz
- k TIE

La ley Lambert-Beer en esencia especifica que existe una dependencia logarítmica entre la transmisión de luz a través de una sustancia y la concentración de la misma, así como también entre la transmisión y la longitud del cuerpo que la luz atraviesa. Si conocemos la longitud y el coeficiente de absorción, la concentración de la sustancia puede ser deducida a partir de la cantidad de luz transmitida.

3.2.2 Descomposición del espectro UV/Vis de una muestra

La descomposición del espectro UV/Visible se utiliza de manera frecuente para determinación cuantitativa de soluciones de iones de metales de transición y en compuestos orgánicos conjugados.

Los compuestos orgánicos, especialmente aquellos que tienen un grado elevado de conjugación, absorben luz en las regiones de luz visible o UV del espectro electromagnético. Para realizar esta determinación se utiliza el agua como solvente para

compuestos solubles en agua o etanol para compuestos solubles orgánicos. El etanol es muy útil para espectrografía en UV pues su absorbancia es muy baja en la mayoría de las frecuencias de onda.

La ley Lambert-Beer expresa que la absorbancia de una solución es debida a su concentración. Por esto, la espectroscopia de UV/Visible puede ser utilizada para determinar la concentración de una solución. Es necesario para esto saber qué tan rápido cambia la absorbancia con la concentración. Esto se puede hacer por referencias (tablas de coeficientes de extinción molar), o de manera más precisa, determinado por una curva de calibración.

Un espectrofotómetro de UV/Visible mide la intensidad de luz al pasar a través de una muestra (I) y la compara con la intensidad de la luz antes de pasar por la muestra (I_0). La relación I/I_0 se llama transmitancia, y se expresa regularmente como un porcentaje %T. La absorbancia A , está basada en la transmitancia: $A = -\log(\%T)$.

Un espectrofotómetro está conformado por una fuente de luz (frecuentemente un bulbo incandescente para luz visible o una lámpara de arco de deuterio para UV), un soporte para la muestra, una rejilla de difracción o monocromador para separar las diferentes longitudes de onda, y un detector. Este detector es típicamente un fotodiodo o un CCD (dispositivo de carga acoplada). Los fotodiodos usualmente se utilizan con monocromadores, que filtran la luz dejando una sola frecuencia de onda, los CCD se utilizan con rejillas de difracción, pues éstos concentran diferentes longitudes de onda en diferentes pixeles.

Un espectro UV/Visible es una gráfica de absorbancia de luz contra longitud de onda en el rango de las regiones visible o UV. La frecuencia de onda se representa por λ . Para una sustancia dada se puede generar una gráfica de coeficiente de extinción ϵ vs. longitudes de onda λ . Esta gráfica estándar sería independiente de la concentración. La frecuencia de onda a la que ocurre la máxima absorción en el espectro se denota λ_{MAX} .

3.2.3 Medición de concentraciones mediante deconvolución no lineal

Los datos utilizados en espectrofotometría son conceptualmente una curva de longitudes de onda vs. la absorbancia de una muestra. Un rayo monocromático se pasa a través de una solución de muestra y del otro lado se compara con el de una muestra de referencia. La longitud de onda de la luz se barre de un máximo λ_{max} a un mínimo λ_{min} y se almacena la curva de absorbancia $s(\lambda)$. Para la espectrofotometría UV/visible este rango va usualmente de 190 a 900 nm. En la práctica, sin embargo, la absorbancia se mide solo en longitudes de onda discretas y los datos se entregan como dos vectores N -dimensionales λ y \mathbf{s} , o sea como un conjunto de N pares ordenados (λ_i, s_i) para $i=1, \dots, N$, donde $\mathbf{s} = [s_1, \dots, s_N]^T$.

Dada una solución con un cierto compuesto y asumiendo que la referencia no contiene este compuesto, la ley Lambert-Beer enuncia que la absorbancia medida en *cualquier* longitud de onda es directamente proporcional a su concentración si la longitud de ℓ (la distancia que la luz viaja a través de la muestra) permanece constante. Esto es: $s = \epsilon \ell x$, donde x es la concentración y ϵ es una constante llamada *absorbancia molar*. Si tanto la

concentración x y la longitud ℓ no cambian durante la medición del espectro de absorbancia $s(\lambda)$, quiere decir que la única variable que depende de la longitud de onda es $\varepsilon(\lambda)$, y entonces es posible definir $\alpha(\lambda) = \ell\varepsilon(\lambda)$ como un *espectro base* en el cual:

$$s(\lambda) = x \cdot \alpha(\lambda) \quad (3.1)$$

En el caso de una solución estable de n compuestos, asumiendo que la ley de Lambert-Beer es aplicable, es posible expresar que el espectro medido será la suma de los espectros hipotéticos individuales de cada uno de los n componentes de la muestra. En este caso, es posible proponer que el espectro medido es una combinación lineal de los espectros base de los compuestos, *i.e.*

$$s(\lambda) = \sum_{i=1}^n \beta_i \cdot \alpha_i(\lambda) \quad (3.2)$$

Expresado en notación vectorial se transforma en:

$$\mathbf{s} = \sum_{i=1}^n \alpha_i \beta_i = [\alpha_1 \cdots \alpha_n] \begin{bmatrix} \beta_1 \\ \vdots \\ \beta_n \end{bmatrix} = \mathbf{A} \cdot \boldsymbol{\beta} \quad (3.3)$$

Idealmente, si la calibración fue realizada correctamente, el vector de coeficientes $\boldsymbol{\beta}$ será igual al vector de concentraciones. Se ha propuesto, sin embargo, añadir cierto nivel de flexibilidad para tomar en cuenta desviaciones de la Ley Lambert-Beer y considerar una relación cuadrática no-linear definida por la matriz \mathbf{M} :

$$\boldsymbol{\beta} = \varphi(\mathbf{x}) = \mathbf{x} + \mathbf{M} \boldsymbol{\xi}(\mathbf{x}) \quad (3.4)$$

$$\boldsymbol{\xi}(\mathbf{x}) = [x_1 x_2 \quad \cdots \quad x_1 x_n \quad x_2 x_3 \quad \cdots \quad x_{n-1} x_n]^\top.$$

Como una extensión del método Deconvolución Espectral, esta es denominada *deconvolución espectral no lineal* (NSD por sus siglas en inglés) (Vargas y Buitrón, 2006)

3.2.4 Desarrollo de software para determinar cinéticas de degradación

Se ha desarrollado en lenguaje de Matlab un sistema que permite obtener los espectros de concentraciones estimadas para cada una de las mediciones en el laboratorio. El sistema está programado de tal forma que permite analizar los datos experimentales de las muestras tomadas al biorreactor. Estos programas se desglosan en los anexos de este trabajo.

Para el correcto funcionamiento del programa es necesario organizar los datos de laboratorio en carpetas diferenciadas por cada una de las corridas del biorreactor. Asimismo es necesario tener todos los archivos generados por el espectrofotómetro en

la misma carpeta.

El sistema comienza con un programa llamado *Kindata*. Para utilizar este programa el sistema debe localizarse en la carpeta correspondiente al ciclo a estudiar. En esta carpeta el programa busca un archivo de Excel en el cual están los tiempos de cada medición y el nombre de los archivos RLS correspondientes a cada una. Los archivos RLS son los que se generan por el espectrofotómetro al analizar cada muestra. El formato para llamar a la función *Kindata* es:

```
>> [S, T] = kindata('cicloXX', L);
```

donde 'ciclo XX' es el archivo de Excel con los tiempos y los datos de cada muestra y L es un vector que contiene las longitudes de onda a las cuales se realiza la espectroscopía.

Kindata analiza cada muestra y genera una gráfica de concentraciones estimadas. Asimismo el sistema nos permite analizar las gráficas resultantes y decidir si los datos son válidos o no. Cuando el usuario ha terminado de seleccionar las gráficas el sistema entrega los valores de concentraciones para cada tiempo de muestreo. Los datos se entregan en dos matrices una matriz T que contiene los tiempos y otra matriz S de espectros medidos. Una ventana del proceso se muestra en la figura 3.1.

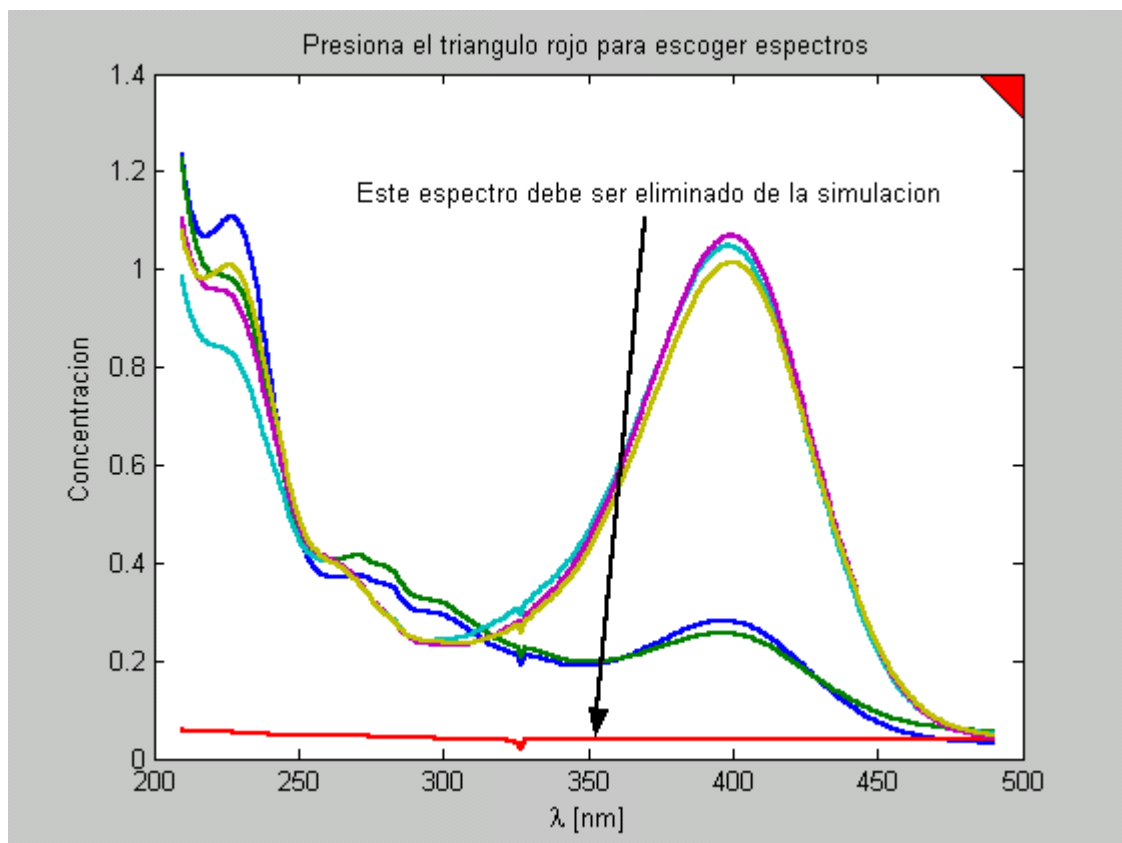


Fig 3.1. Gráfica resultante del programa *kindata*

Al teminar de analizar los datos se obtienen las graficas de concentracion y las matrices S y T que serán utilizadas por el programa *Kinetics*. Este programa realiza la estimación de la concentraciones para cada grupo de datos usando S, T y una matriz A

de espectros base. *Kinetics* nos va mostrando una a una las estimaciones y al final entrega X_{hat} , una matriz que contiene las concentraciones de p-nitrofenol y p-nitrofenol en cada uno de los tiempos de muestreo.

El uso del programa dentro de Matlab es:

```
>> Xhat=kinetics(T,S,L,A,f,sig2)
```

Donde X_{hat} es una matriz de concentraciones para cada uno de los tiempos de muestreo especificados. Este tipo de análisis se realiza de manera lineal, aunque este programa nos permite realizar la estimación de concentraciones de manera no lineal. Una vez terminada la estimación de concentraciones *kinetics* gráfica esta matriz X_{hat} contra T . La gráfica resultante se muestra en la figura 3.2.

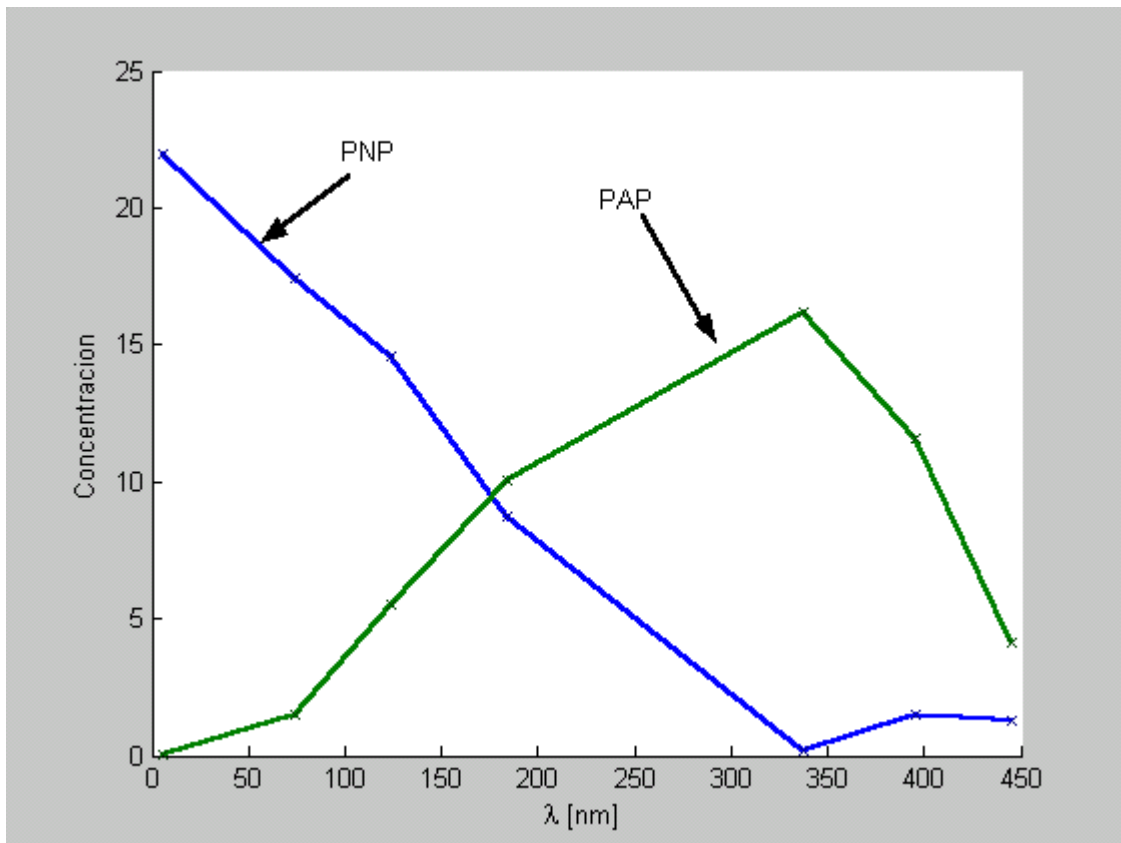


Fig 3.2. Gráfica resultante del programa *kinetics*

3.3 Modelo matemático y su parametrización

3.3.1 Modelos de reactores biológicos

Básicamente un biorreactor es un tanque en el que ocurren simultáneamente varias reacciones biológicas en un medio líquido. Un diagrama esquemático de un biorreactor de tanque completamente mezclado continuamente agitado se muestra en la figura 6. Las reacciones biológicas involucradas en el proceso pueden clasificarse en dos categorías: reacciones de crecimiento microbiano (usualmente llamadas reacciones microbiológicas) y reacciones catalizadas por enzimas (también conocidas como reacciones bioquímicas o biotransformaciones).

El crecimiento de los microorganismos (bacterias, levaduras, etc.) se lleva a cabo por el consumo de nutrientes apropiados o sustrato (incluyendo carbono, nitrógeno, oxígeno, etc.) siempre y cuando las condiciones ambientales (temperatura, pH, etc.) sean favorables. La masa de microorganismos vivos o células vivas se llama biomasa.

Asociada al crecimiento de células, pero a menudo moviéndose a un ritmo diferente, están las reacciones catalizadas por enzimas en las que algún reactante se transforma en productos (a veces llamados metabolitos) a través de la acción catalítica de enzimas intra- o extracelulares.

En los biorreactores de tanque el proceso se asume estar en una condición completamente mezclada: esto implica que la composición del medio es homogénea dentro del reactor. El comportamiento dinámico del crecimiento de una población de microorganismos en un sustrato simple en un reactor de tanque agitado (Fig. 3.3) se expresa frecuentemente por la ecuación (3.5), la cual se obtiene de balanceo de masas directo:

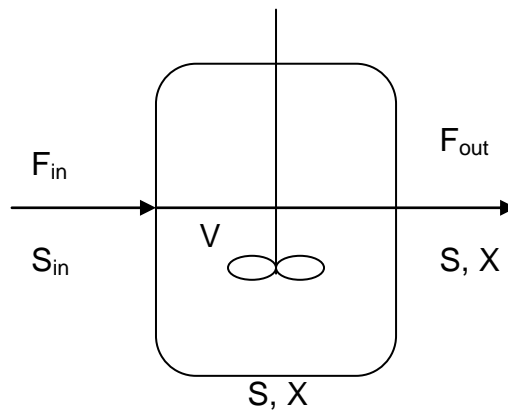


Fig 3.3. Diagrama básico de un reactor de tanque agitado

La acumulación neta de biomasa en el reactor se calcula mediante la ecuación diferencial

$$\frac{d(VX)}{dt} = \mu VX - F_{OUT} X \quad (3.5.a)$$

La acumulación neta del sustrato en el reactor se calcula resolviendo

$$\frac{d(VS)}{dt} = -k_1\mu VX + F_{IN}S_{IN} - F_{OUT}S \quad (3.5.b)$$

La variación del volumen está dada por la ecuación diferencial

$$\frac{dV}{dt} = F_{IN} - F_{OUT} \quad (3.5.c)$$

En estas ecuaciones, X es la concentración de población de microorganismos (la biomasa) en el reactor y en el efluente, S es la concentración de sustrato en el reactor y en el efluente, F_{in} la tasa de flujo del influente, F_{out} la tasa de flujo del efluente, μ la tasa específica de crecimiento microbiano, k_1 el coeficiente de rendimiento de consumo del sustrato por la biomasa, y V el volumen del medio de cultivo.

En estas ecuaciones la única suposición de modelado es que el término de crecimiento de la biomasa (μX) y el término de consumo del sustrato ($k_1\mu X$) son proporcionales a la concentración de biomasa X . Esta suposición ha sido validada en muchas ocasiones y es comúnmente aceptada desde Monod la introdujo en 1942.

Por otra parte, definiendo la tasa de dilución como:

$$D = \frac{F_{IN}}{V} \quad (3.6)$$

se obtiene una formulación alterna muy útil de las ecuaciones (3.5.a-c):

$$\frac{dX}{dt} = (\mu - D)X \quad (3.6.a)$$

$$\frac{dS}{dt} = -k_1\mu X + D(S_{IN} - S) \quad (3.6.b)$$

$$\frac{dV}{dt} = DV - F_{OUT} \quad (3.6.c)$$

En un reactor batch o discontinuo no hay flujo de entrada ni de salida:

$$F_{IN} = F_{OUT} = 0 \quad (3.7)$$

El tanque se llena inicialmente con una gran cantidad de sustrato sin introducir biomasa nueva. No se introduce sustrato durante la fermentación, y ésta se detiene cuando suficiente sustrato ha sido consumido. La cantidad total de biomasa producida (y posiblemente la cantidad de subproductos) se recolecta. El volumen de cultivo es constante y el modelo dinámico está dado por (3.6.a-b) con $D = 0$.

Se puede ver de las ecuaciones (3.6.a-b) que la tasa específica de crecimiento μ es un parámetro esencial para la descripción del crecimiento de la biomasa, consumo del sustrato y la formación de producto. Experimentos bioquímicos realizados por más de medio siglo en cultivos puros así como en cultivos abiertos (con sustratos no estériles) han indicado claramente que el parámetro μ varía con el tiempo y está influenciado por muchos factores físico-químicos, biológicos y ambientales. Entre los más importantes están: concentración del sustrato, la concentración de la biomasa, la concentración del producto, el pH, la temperatura, la concentración de oxígeno disuelto, la intensidad de luz y varios inhibidores del crecimiento microbiano.

El modelo analítico más usado de la tasa de crecimiento específico es la “Ley de Michelis-Menten”, también llamada “Ley de Monod” que expresa la dependencia de μ de la concentración del sustrato S como sigue:

$$\mu(S) = \frac{\mu^* S}{K_M + S} \quad (3.8)$$

donde μ^* es la tasa máxima de crecimiento y K_M es la constante “Michaelis-Menten”. El valor de concentración al cual la tasa de crecimiento es igual a la mitad de su valor máximo es justamente el valor de K_M .

Una insuficiencia de esta ley es que no permite tomar en cuenta los posibles efectos inhibitorios del sustrato a altas concentraciones (sobrecarga o saturación).

Andrews sugirió que la inhibición del sustrato fuera tratada con la “Ley de Haldane”, que fue derivada originalmente por Haldane para describir la inhibición en reacciones de sustrato-enzima:

$$\mu(S) = \frac{\mu_{MAX} S}{K_M + S + S^2/K_I} \quad (3.9)$$

donde K_I es el parámetro de inhibición y μ_{max} es la máxima tasa específica de degradación si no existiera inhibición.

Los parámetros de la ley de Haldane (3.9) son: la constante de afinidad K_M , la constante de inhibición K_I , la tasa máxima de crecimiento sin inhibición μ_{MAX} . La tasa de crecimiento es cero si no hay sustrato presente y existe una tasa máxima de crecimiento μ^* para una cierta concentración de sustrato S^* . Para valores de S mayores que S^* , la tasa de crecimiento se inhibe. La relación entre estos valores y los parámetros está dada por:

$$\mu^* = \frac{\mu_{MAX}}{1 + 2\sqrt{K_M/K_I}} \quad (3.10)$$

$$S^* = \sqrt{K_M K_I} \quad (3.11)$$

La ecuación (4.5) puede ser reescrita como:

$$\mu(S) = \frac{\mu^* S^* S}{S^* S + \alpha (S - S^*)^2} \quad (3.12)$$

$$\alpha = \frac{1}{2 + \sqrt{\frac{K_I}{K_M}}}$$

Donde $\alpha > 0$ es un parámetro que determina la pendiente de la curva, es decir conforme $\alpha \rightarrow \infty$ la curva se hace más plana y conforme $\alpha \rightarrow 0$ la curva se convierte en un pico cuando $S = S^*$. En la figura 3.4 se muestra una curva de Haldane. En la figura están marcados los puntos donde ocurren S^* y μ^*

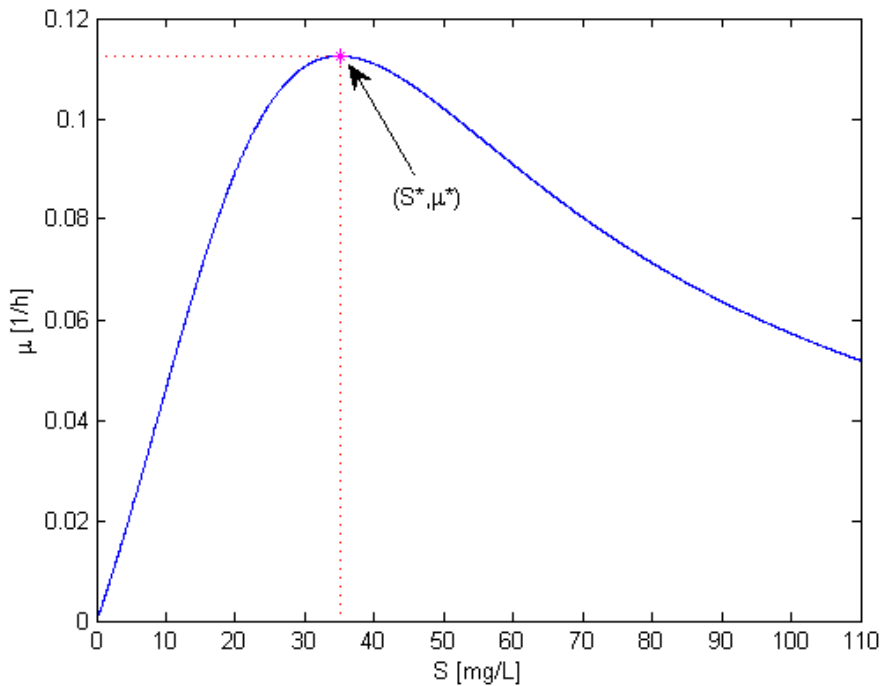


Fig. 3.4. Curva de Haldane

3.3.2 Modelo matemático propuesto

En el modelo matemático propuesto entonces se consideran 4 variables de estado: la concentración de biomasa X , la concentración de sustrato S , la concentración de oxígeno disuelto O y el volumen actual de agua en el reactor V . Sin embargo, en términos prácticos la biomasa o lodo activado (no su concentración) se mantiene casi constante, pues aunque conforme los microorganismos degradan el sustrato y crecen más de lo que mueren, una biomasa constante es forzada frecuentemente por el operador al remover exceso de lodos. Para la fase anaerobia de la degradación el oxígeno disuelto no está presente y se propone el siguiente modelo, donde x_1 (p-nitrofenol) corresponde al sustrato y x_2 al producto (p-aminofenol):

$$\frac{dx_1}{dt} = -\mu(x_1); x_1(0) = x_{10} \quad (3.13)$$

$$\frac{dx_2}{dt} = k\mu(x_1); x_2(0) = 0 \quad (3.14)$$

Para la fase aerobia se propone el siguiente modelo, donde se ha simplificado suponiendo que sólo se degrada el p-aminofenol y que el oxígeno disuelto no es limitante en ningún momento.

$$\frac{dx_2}{dt} = -\mu(x_2); x_2(0) = 0 \quad (3.15)$$

Este modelo matemático queda entonces descrito por dos ecuaciones diferenciales para la fase anaerobia y una sola ecuación diferencial para la fase aerobia. Ambos tienen una estructura definida muy clara y tienen 4 y 3 parámetros respectivamente. Para el primer modelo, los parámetros son los de la ley de Haldane: (μ^*, S^*, α) y la constante de proporcionalidad k . Para el segundo sus tres parámetros son sólo los de la ley de Haldane correspondiente, que no son los mismos que se usan en la ecuación (3.14).

Para obtener los parámetros a partir de datos experimentales es necesario hacer uso de técnicas de optimización no lineal, ya que hay que resolver la ecuación diferencial en cada caso e ir ajustando los parámetros hasta minimizar una función objetivo. En la siguiente sección se detalla el procedimiento para hacer esta optimización.

3.3.3 Generalidades sobre el proceso de optimización

La optimización se refiere al estudio de problemas en los que se busca minimizar o maximizar una función real seleccionando valores de variables reales o enteras de un conjunto permitido. Este problema puede ser representado como:

Dada una función $f: A \rightarrow \mathbf{R}$; se busca un elemento x_0 en A tal que $f(x_0) \leq f(x)$ para todas las x en A (“minimización”) o tal que $f(x_0) \geq f(x)$ para toda x en A (“maximización”).

Tal formulación se llama problema de optimización o problema de programación matemática (término no relacionado directamente con programación de computadoras, pero que sigue en uso por ejemplo para programación lineal). Muchos problemas teóricos y de la vida real pueden ser modelados con este procedimiento general.

La programación no lineal es el proceso de resolver un sistema de igualdades y desigualdades, llamadas restricciones, sobre un conjunto de variables reales desconocidas, donde algunas de las restricciones son no lineales. Existen diversos métodos para resolver este tipo de problemas:

- Método Nelder-Mead
- Simplex
- Método de Newton
- Algoritmo de Levenberg-Marquardt

El método Nelder-Mead busca encontrar un mínimo local de una función de muchas variables y no requiere ecuaciones diferenciales ni integrales. Nelder-Mead evalúa los valores de la función en los vértices de un triángulo, el peor vértice, donde $F(x,y)$ es más grande se descarta y se reemplaza con otro vértice con lo que se forma un nuevo triángulo y la búsqueda continúa. Este proceso va generando una serie de triángulos o *simplex*, para los cuales los valores de la función se van haciendo más pequeños cada vez. Con los *simplex* reducidos se encuentran las coordenadas del mínimo local. Este método es efectivo y compacto.

El método Simplex es similar al método Nelder-Mead. Este método toma un vértice arbitrario de solución de la función y selecciona la variable que producirá el mayor cambio hacia el mínimo de la función. Esta variable reemplaza a aquella que impide más con lo que se genera un nuevo vértice. Este método permite además saber si no hay una solución al problema. Este algoritmo selecciona la mejor opción en cada iteración sin necesitar información de iteraciones anteriores o futuras.

El método Newton-Raphson es un método iterativo para converger en una raíz de una función diferenciable. Este método pasa de un punto x_n a otro x_{n+1} utilizando la tangente a x_n y extendiéndola hasta que cruce el eje de las x . esto quiere decir que $x_{n+1} = x_n - f(x_n)/f'(x_n)$. Este método tiene problemas cuando $f'(x_n) \rightarrow 0$, pero bajo condiciones favorables, el método converge cuando x_n se acerca lo suficiente a la raíz.

El algoritmo Levenberg-Marquardt da una solución numérica al problema matemático de minimizar una función, generalmente no lineal, sobre un espacio de parámetros de la función. Este tipo de problemas de minimización aparecen principalmente en ajuste de curvas por mínimos cuadrados. Este algoritmo es el promedio ponderado del algoritmo de Newton-Gauss y el método de descenso de gradiente. El algoritmo de Levenberg es más robusto que el de Newton, lo que significa que en muchos casos encuentra una solución aún cuando inicie muy lejos del mínimo final. Sin embargo, para funciones nobles con parámetros de inicio razonables tiende a ser un poco más lento.

3.3.4 Uso de optimización no lineal para la obtención de los parámetros

Los algoritmos de optimización no lineal que se bosquejaron en la sección anterior ya están programados en el software Matlab. Por esta razón se emplearon tal cual en la búsqueda de los parámetros de los modelos matemáticos del proceso estudiado. A continuación se explica cómo se hizo esta optimización, detallando el uso de las funciones de Matlab empleadas.

`lsqnonlin` es una función implícita de Matlab que resuelve problemas no lineales de mínimos cuadrados, incluyendo problemas de ajuste de datos no lineales., de la forma:

$$\min_x (f(x)) = f_1(x)^2 + f_2(x)^2 + \dots + f_n(x)^2$$

Más que calcular el valor $f(x)$ (la “ suma de cuadrados”) `lsqnonlin` requiere una función definida por el usuario para calcular la función de valores vectoriales:

$$F(x) = \begin{bmatrix} f_1(x) \\ f_2(x) \\ \vdots \\ f_n(x) \end{bmatrix}$$

En términos vectoriales, este problema de optimización puede expresarse como:

$$\min_x F(x) = \frac{1}{2} \|F(x)\|_2^2 = \frac{1}{2} \sum_i f_i(x)^2$$

donde x es un vector y $F(x)$ es una función que regresa un valor vectorial.

Al pedir a Matlab que calcule:

```
>> X= lsqnonlin(fun, x0)
```

Matlab empieza en el valor inicial x_0 y encuentra un mínimo para la suma de los cuadrados de la función descrita en `fun`. Esta función `fun` deberá devolver un vector de valores y no la suma de los cuadrados de los valores (`fun(x)` se suma y se eleva al cuadrado implícitamente en el algoritmo)

La sintaxis en Matlab de `lsqnonlin` es:

```
x = lsqnonlin(fun, x0)
```

```

x = lsqnonlin(fun,x0,lb,ub)
x = lsqnonlin(fun,x0,lb,ub,options)
x = lsqnonlin(fun,x0,options,P1,P2, ... )

```

Argumentos de entrada `lsqnonlin`

`fun`. Esta es la función que será minimizada. *fun* recibe un vector x y entrega un vector F de las funciones objetivo valuadas en x . *fun* puede ser una cadena de caracteres que contenga el nombre de una función (un archivo M o una función de Matlab) Si `fun='MiFun'` entonces el archivo M con la función `MiFun.m` necesario deberá tener la forma:

```

function F=MyFun(x)
F=...

```

`Options`. Este parámetro sirve para especificar las opciones de optimización.

Para el caso estudiado, la idea es que dada una función :

$$y = f(x, \theta) \quad (3.16)$$

y conociendo los vectores \underline{x} , y se propone una función de costo

$$\min_{\theta} J = \sum_{i=1}^n (y_i - f(x_i, \theta))^2 \quad (3.17)$$

donde x son las condiciones iniciales y y son las concentraciones

Aquí se considera

$$\theta = [x_1^*, \mu^*, \alpha, k] \quad (3.18)$$

y lo que se busca al usar `lsqnonlin` es obtener los parámetros en θ que minimicen la función de costo. Esta función de optimización se empleó justamente para obtener los parámetros del modelo matemático del biorreactor estudiado, con base en los datos experimentales. En el capítulo de **Resultados** se detalla cómo se usó esta función.

3.3.5 Calibración y montaje experimental del biorreactor

Para la calibración del método, previamente ya se contaba con los datos necesarios (Vargas et al, 2006). En el laboratorio se trabajó con un biorreactor de 7 litros con un volumen de intercambio de 4 litros operando como un SBR. Se utilizó para tratar aguas residuales sintéticas que contenían *p*-nitrofenol (PNP) como sustrato modelo y ácido propiónico con relación molar de 1:20. Se agregaron nutrientes conforme a AFNOR (1985). La fase anaerobia se utilizó para reducir PNP a *p*-aminofenol (PAP), mientras que la fase aerobia se utilizó para mineralizar el PAP resultante. La fase aerobia se llevó a cabo en el mismo tanque inmediatamente después de la fase anaerobia. El reactor fue inoculado con lodos activados de una planta de tratamiento municipal, los cuales se aclimataron con el procedimiento desarrollado por Melgoza y Buitrón (2001). Dos bombas peristálticas (MasterFlex, Cole-Parmer) se usaron para alimentar y retirar elementos del reactor. También se utilizó un agitador (de 65 a 85 rpm) para homogeneizar el reactor durante la fase de reacción. Una válvula solenoide fue usada para controlar el paso de aire a través de un difusor en la parte baja del reactor con 2.5 L/min aproximadamente durante la aereación. La temperatura estaba controlada alrededor de 27°C empleando un calentador y una bomba que circula agua en la chaqueta del reactor. La estrategia de operación fue controlada a través de un temporizador programable (Chronrol XT), permitiendo tiempos variables para la reacción anaerobia y aerobia, dependiendo del perfil observado de concentraciones, 45 minutos para sedimentación y 5 minutos de tiempo muerto. La concentración de PNP al principio de la fase de reacción fue fijada a propósito entre 15 y 40 mg/L. Esto se hizo para probar el proceso de estimación para diferentes condiciones iniciales.

Para obtener los datos espectrofotométricos, se usó un espectrofotómetro de UV/Visible con su software apropiado (Lambda 25 y WinLab 2.85, Perkin-Elmer). Se tomaron muestras de 10 mL a diferentes tiempos durante las fases anaerobia y aerobia de la reacción. Las muestras fueron centrifugadas a 3000 rpm (Sol-Bat J600) por 3 minutos y filtradas a través de un filtro de microfibras de 1.6µm (Millex). Las muestras filtradas fueron medidas llenando manualmente la celda de cuarzo del espectrofotómetro; agua destilada fue empleada como muestra de referencia. Para cada ciclo del SBR el espectrofotómetro fue calibrado una sola vez.

Los datos para calibración fueron preparados como sigue. Como la concentración de PNP en el agua residual sintética alimentada era conocida, ésta fue diluida con licor mezclado tomado del reactor durante la fase de tiempo muerto anterior (las concentraciones de PNP y PAP se asumieron como mínimas). Adicionalmente una solución base con concentraciones conocidas de PNP se preparó y se combinó con esta dilución para preparar muestras “falsas” con concentraciones de PNP y PAP conocidas. Se siguió el procedimiento de medición establecido y los espectros de referencia fueron obtenidos centrifugando y filtrando como se explicó anteriormente. Esto se hizo individualmente y tan rápido como fue posible para evitar una reacción en estos minirreactores que constituían cada preparación en la celda. Las concentraciones de PNP y PAP se estimaron empleando cromatografía de líquidos de alta pureza (HPLC) para corroborar las concentraciones calculadas de las muestras de calibración (Melgoza y Buitrón, 2001).

4. Resultados y discusión

4.1 Resultados de la calibración: espectros base obtenidos

A continuación en la figura 4.1 se muestran los 3 tipos de espectros obtenidos de la calibración.

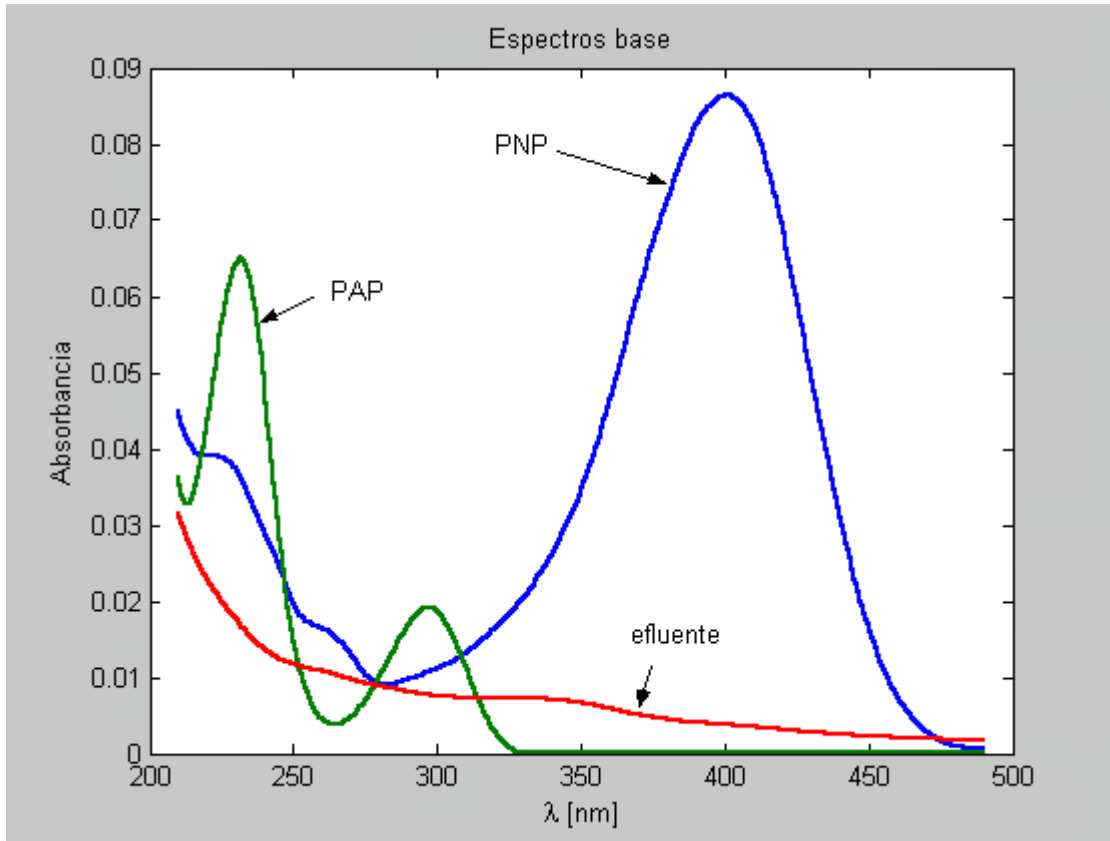


Fig 4.1. Espectros Base obtenidos de calibración

De los espectros base obtenidos de la calibración es posible observar 3 diferentes espectros para cada uno de los compuestos y el efluente. Para el caso del p-nitrofenol (PNP) se observa que este tiene un gran pico a 400 nm con el que se valora la absorbancia de este compuesto de la muestra. Para el p-aminofenol (PAP) el espectro base muestra dos picos: uno a 230 nm y el segundo a 300 nm. El efluente muestra una absorbancia a bajas frecuencias que va disminuyendo conforme aumenta la longitud de onda. Si la concentración de PNP se midiera sólo con la absorbancia a 400 nm, no habría problema, pero para el PAP el método usual de cálculo de concentración a partir del pico de absorbancia, podría ser enmascarado con la contribución del espectro del PNP. De ahí la importancia de considerar el espectro medido como la suma ponderada de dos o más espectros base.

4.2 Cinéticas de degradación

Una vez obtenidos los resultados y con éstos archivados y ordenados se puede proceder al análisis de cada ciclo de degradación de contaminantes. Utilizando Matlab con los programas `kindata` y `kinetics` creados para este fin se pudieron encontrar los espectros para cada ciclo de degradación, así como las concentraciones de p-aminofenol y p-nitrofenol a lo largo del tiempo de operación del reactor en cada ciclo.

A continuación en las figuras 4.2.1 a 4.2.14 se reportan los espectros de cada muestra del ciclo y las concentraciones estimadas para el mismo. No se incluyen todos los ciclos del experimento; dado que algunos experimentos quedaron incompletos o los datos no fueron confiables, se incluyen únicamente aquellos ciclos que contienen suficientes datos para considerarlos representativos. Las figuras 4.2.1 a 4.2.10 contienen las gráficas correspondientes a la fase anaerobia del proceso.

Ciclo 16 (figuras 4.2 y 4.3)

Este ciclo se analizó con 5 muestras válidas, llegando hasta los 350 segundos de corrida de biorreactor. Al estimar las concentraciones encontramos que el ciclo terminó en la etapa anaerobia con la eliminación de p-nitrofenol y el p-aminofenol llegando a un máximo antes de empezar la etapa aerobia para la reducción de este contaminante.

Ciclo 87 (figuras 4.4 y 4.5)

Este ciclo también se analizó con 5 muestras válidas, llegando hasta los 420 segundos de corrida de biorreactor. Al estimar las concentraciones encontramos que este ciclo también terminó en la etapa anaerobia con la eliminación total de p-nitrofenol y el p-aminofenol llegando a un máximo antes de empezar la etapa aerobia para la reducción de este contaminante.

Ciclo 163 (figuras 4.6 y 4.7)

El ciclo 163 se analizó con 6 muestras, llegando hasta los 1700 segundos de corrida de biorreactor. Al estimar las concentraciones encontramos que este ciclo terminó igual que el anterior en la etapa anaerobia con la casi completa eliminación de p-nitrofenol y el p-aminofenol llegando a un máximo antes de empezar la etapa aerobia para la reducción de este contaminante.

Ciclo 167 (figuras 4.8 y 4.9)

Este ciclo se analizó con 6 muestras, llegando hasta los 630 segundos de corrida de biorreactor. Al estimar las concentraciones encontramos que este ciclo terminó igual que el anterior en la etapa anaerobia con la reducción importante del p-nitrofenol y el p-aminofenol aumentando antes de empezar la etapa aerobia para la reducción de este contaminante

Ciclo 206 (figuras 4.10 y 4.11)

El ciclo 206 se analizó con 7 muestras, llegando hasta los 600 segundos de corrida de biorreactor. Al estimar las concentraciones encontramos que este ciclo terminó en la etapa anaerobia con la reducción casi completa del p-nitrofenol y el p-aminofenol aumentando antes de empezar la etapa aerobia para la reducción de este contaminante.

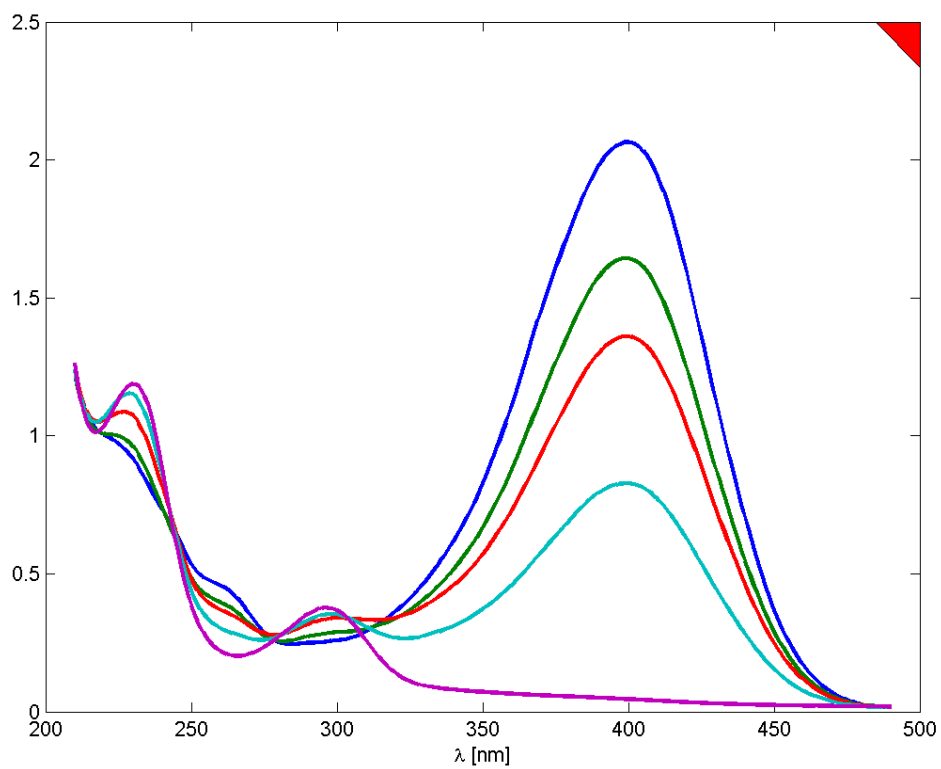


Fig 4.2. Espectros Ciclo 16

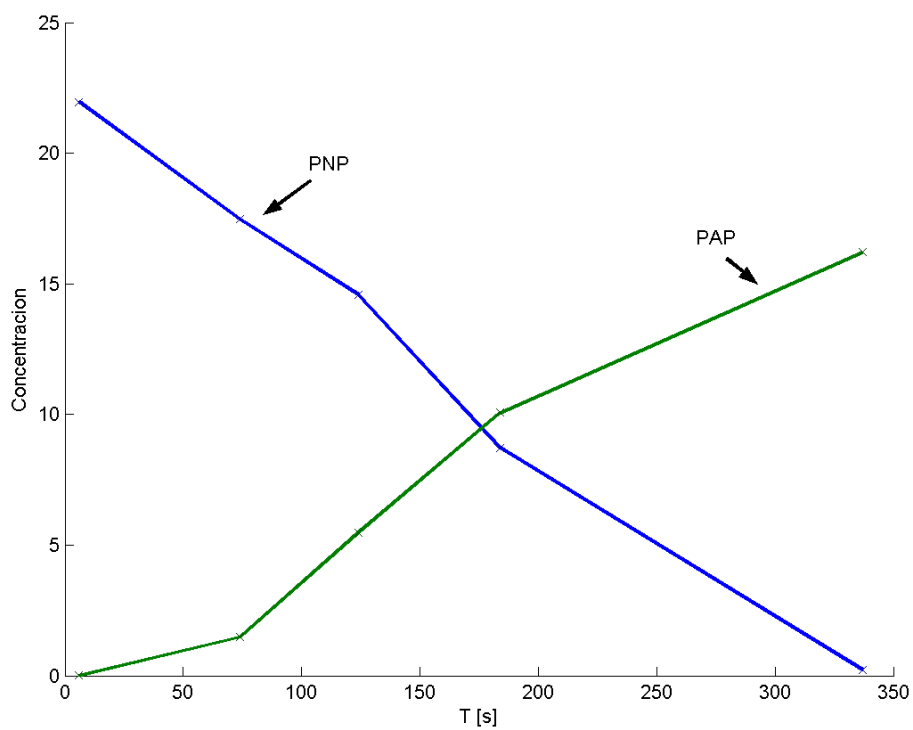


Fig 4.3 Concentraciones estimadas Ciclo 16

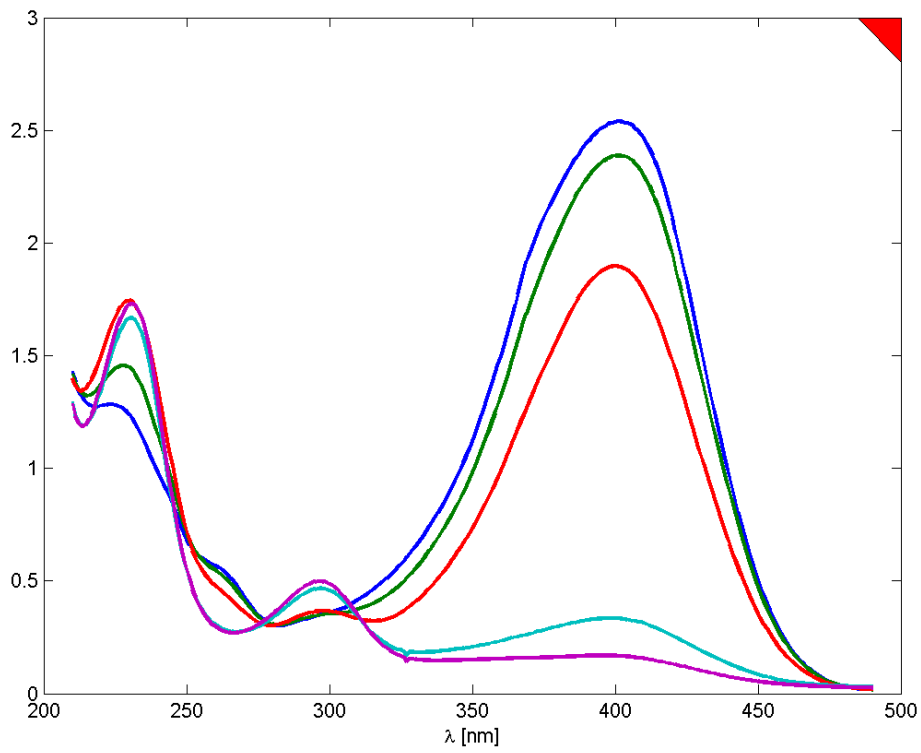


Fig 4.4. Espectros Ciclo 87

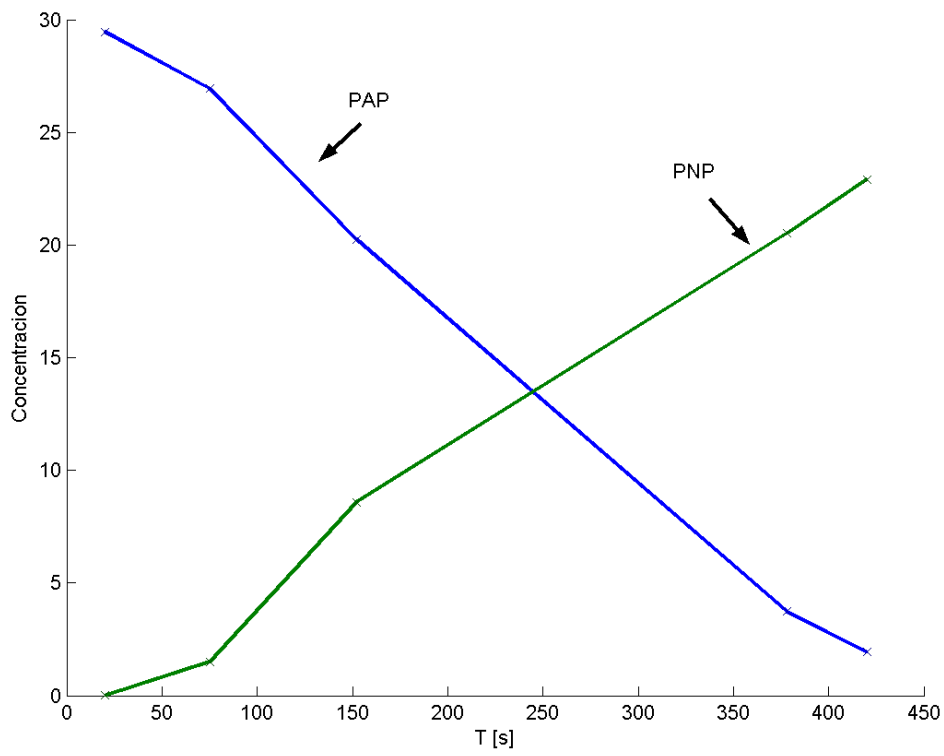


Fig 4.5. Concentraciones estimadas Ciclo 87

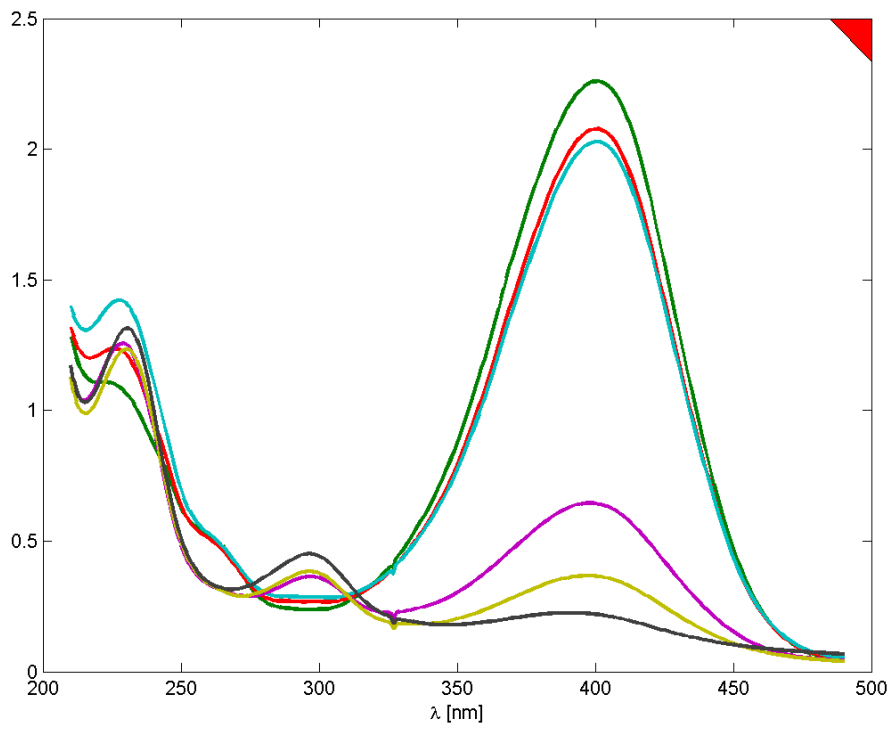


Fig 4.6. Espectros Ciclo 163

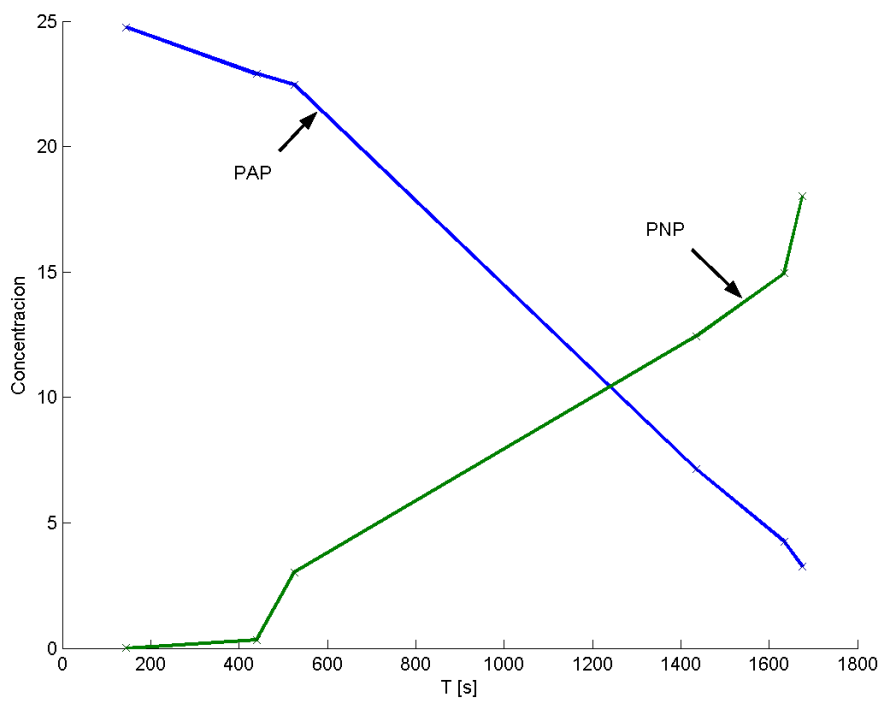


Fig 4.7. Concentraciones estimadas Ciclo 163

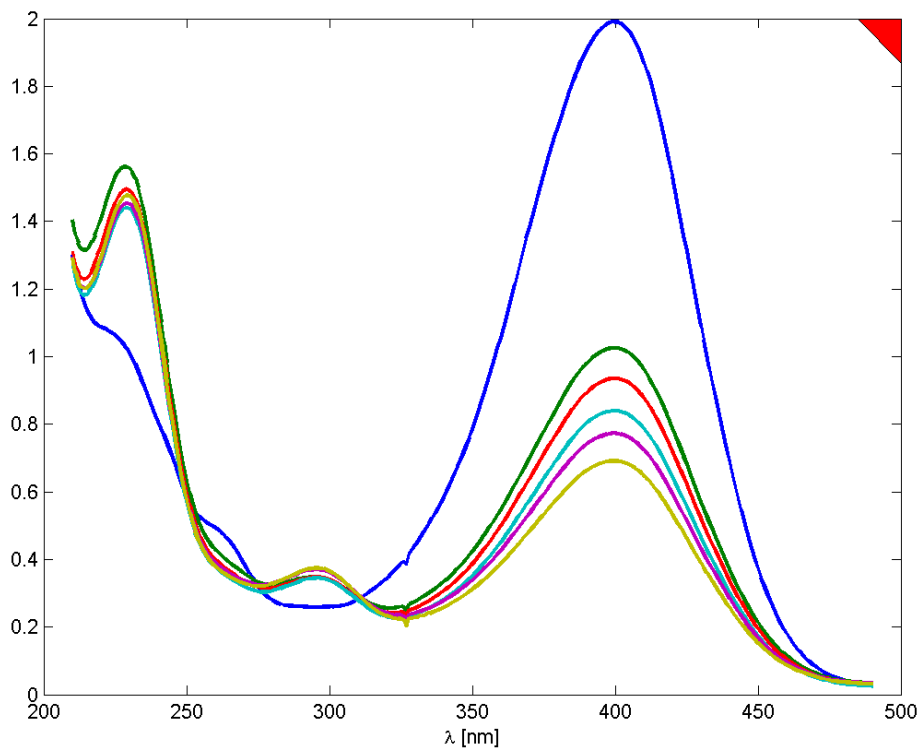


Fig 4.8. Espectros Ciclo 167

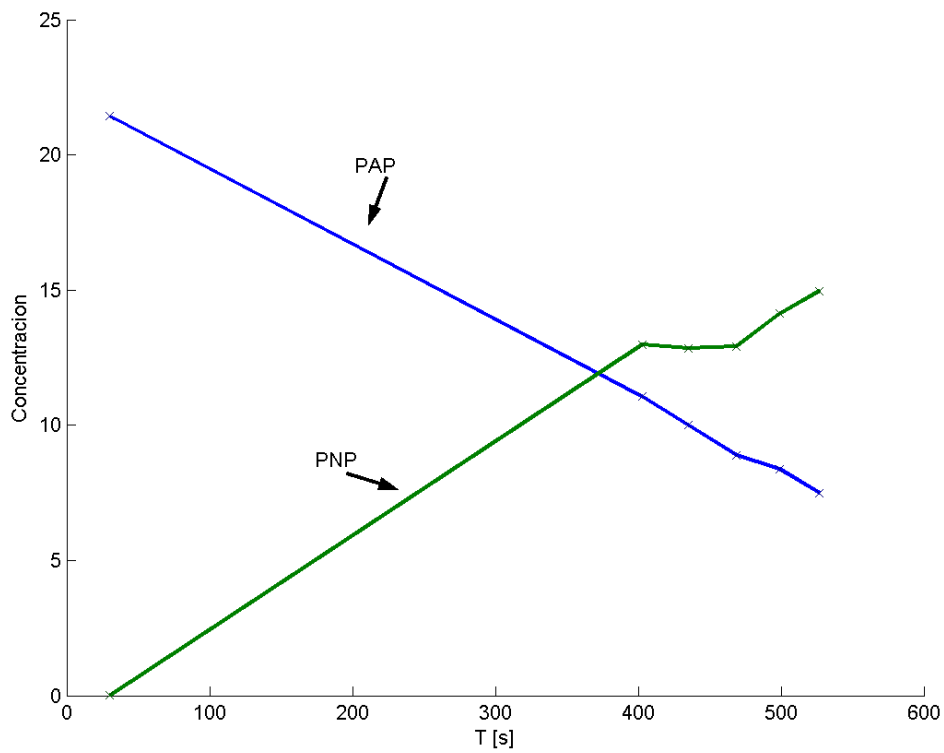


Fig 4.9. Concentraciones estimadas Ciclo 167

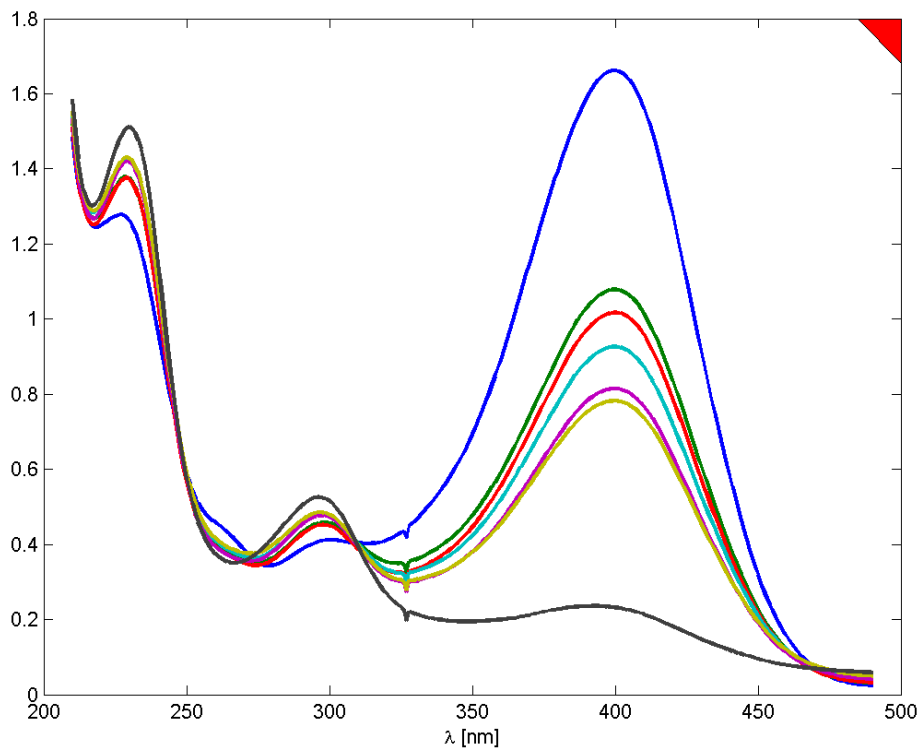


Fig 4.10. Espectros Ciclo 206

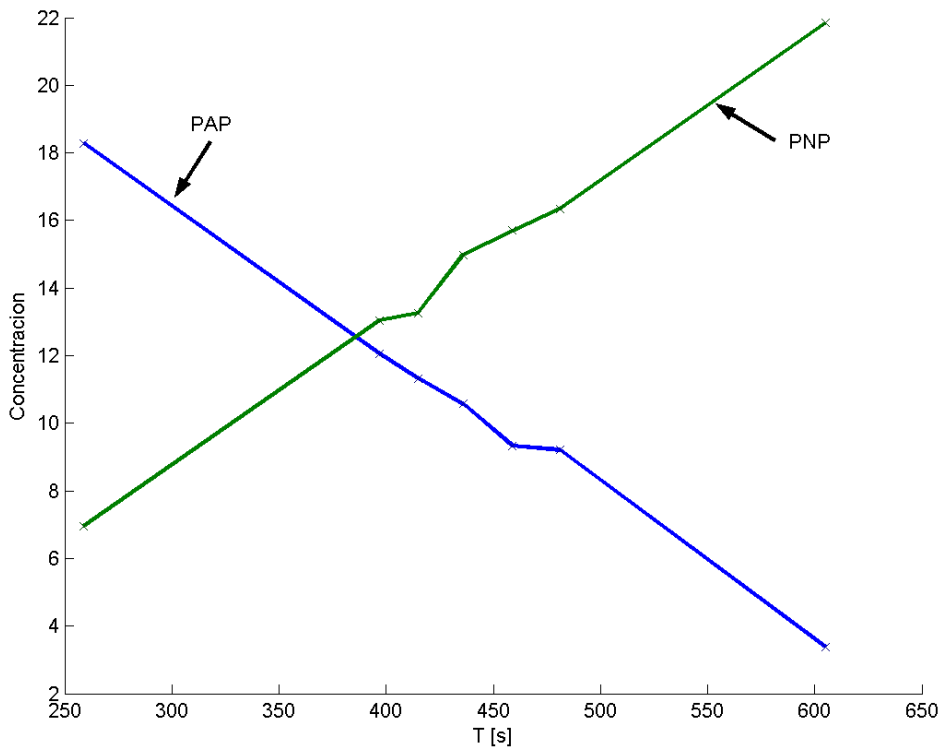


Fig 4.11. Concentraciones estimadas Ciclo 206

De las muestras tomadas durante la fase experimental utilizamos los ciclos 16 y 83 para

analizar el sistema de ecuaciones para la fase aerobia. Ambos ciclos son los únicos que nos entregaron datos confiables para analizar dicha etapa. El ciclo 16 presenta suficientes datos para poder analizar ambas fases del proceso. El ciclo 83 contiene datos de la fase aerobia únicamente. Las figuras 4.2.11 a 4.2.14 muestran los resultados de la estimación de la fase aerobia de degradación:

Ciclo 16 (figuras 4.12 y 4.13):

Aún cuando este ciclo contiene muestras de ambas fases del proceso para análisis del modelo aerobio tomamos únicamente los datos correspondientes a dicha fase. Este ciclo tiene 3 muestras viables que nos permiten observar, una vez terminada la estimación de concentraciones que el biorreactor estaba en fase aerobia con la concentración de p-aminofenol disminuyendo dramáticamente y la concentración de p-nitrofenol siendo despreciable. El ciclo corrió de 335 a 420 segundos.

Ciclo 83 (figuras 4.14 y 4.15):

Este ciclo contiene 9 muestras viables, con las que podemos visualizar, una vez terminada la estimación de concentraciones, que el biorreactor estaba en fase aerobia con la concentración de p-aminofenol disminuyendo dramáticamente y la concentración de p-nitrofenol siendo despreciable. El ciclo corrió de 400 a 510 segundos.

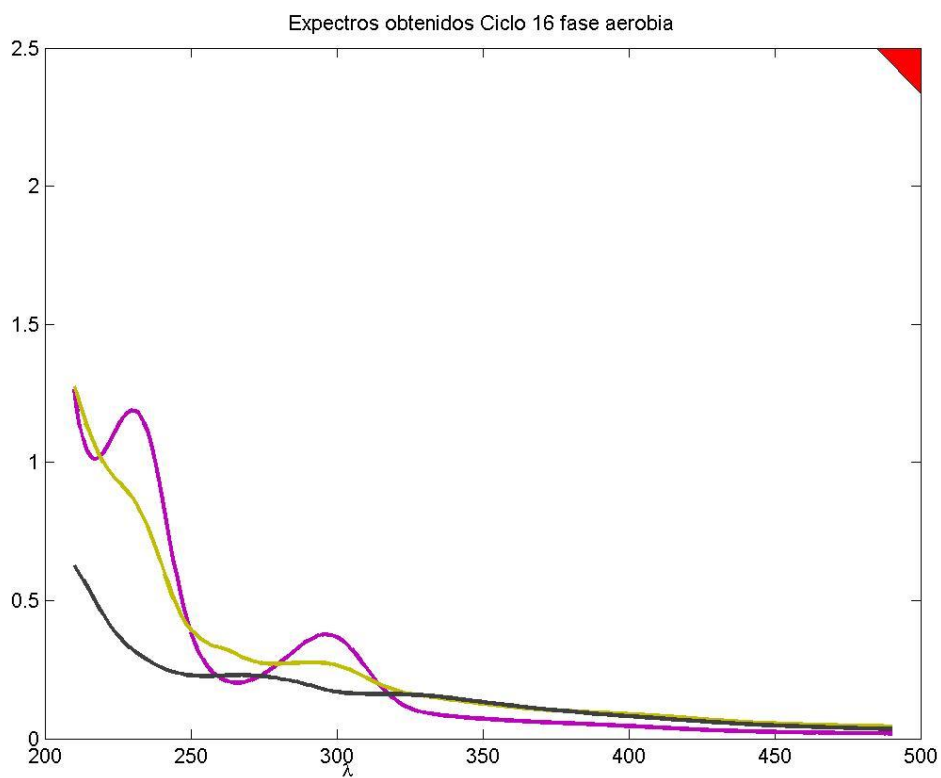


Fig 4.12. Espectros Ciclo 16 fase aerobia

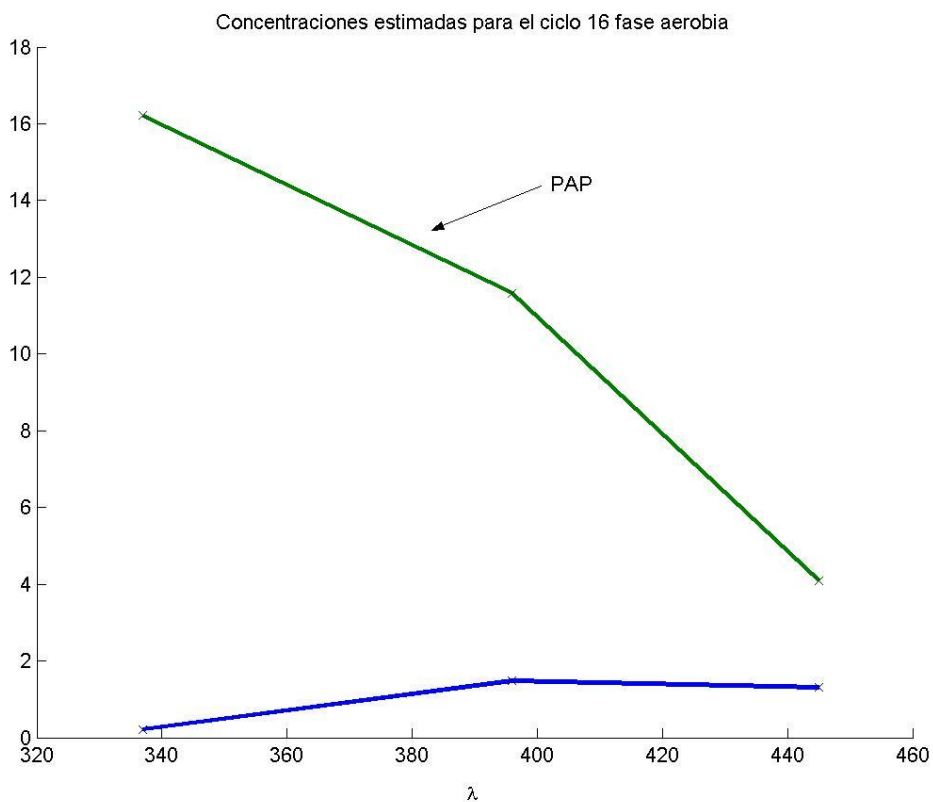


Fig 4.13. Concentraciones estimadas Ciclo 16

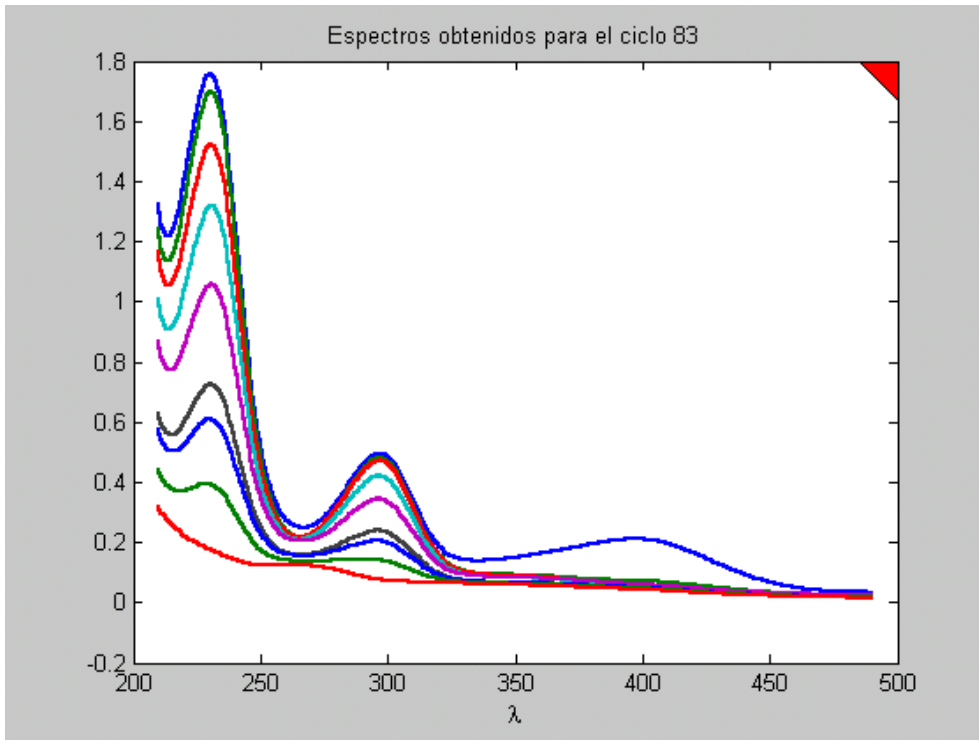


Fig 4.14. Espectros Ciclo 83

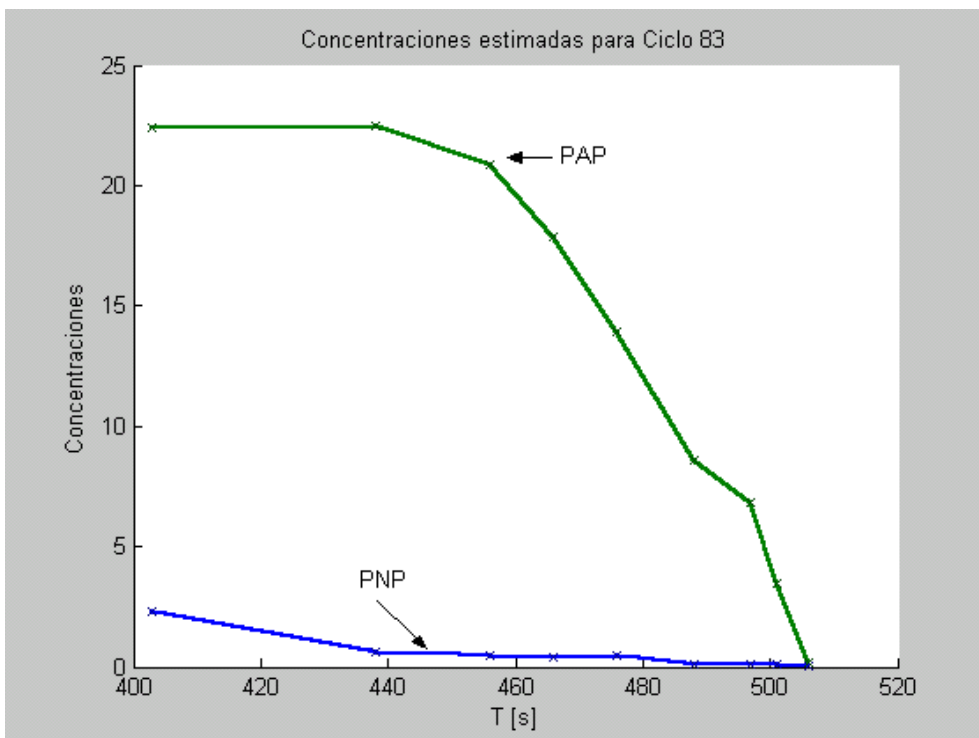


Fig 4.15. Concentraciones estimadas Ciclo 83

4.3 Resultados de la parametrización del modelo matemático

Con cada uno de los resultados de la estimación de concentraciones es posible entonces proceder a la optimización del modelo matemático. Utilizando la función `lsqnonlin` de Matlab se encontraron los valores que minimizan la función de costo. Los resultados de la optimización para la fase aerobia se presentan en la tabla 4.1.

	x_1^*	μ^*	α	K
Ciclo 16	6.4959	0.1397	1.056	0.739
Ciclo 87	12.306	0.0804	0.308	0.799
Ciclo 163	6.7752	0.0372	2.14	0.734
Ciclo 167	13.902	0.0356	2.406	0.969
Ciclo 206	14.138	0.0645	0.2	1
Promedio	10.723	0.0715	1.222	0.848
Desv. Est.	3.7989	0.0426	1.019	0.128

Tabla 4.1. Resultados de la optimización en la etapa anaerobia

Para la estimación de concentraciones de la fase aerobia la optimización mediante `lsqnonlin` de Matlab entrega los siguientes valores para los parámetros que se muestran en la tabla 4.2:

	x_1^*	μ^*	α
Ciclo 16	5.8707	0.1965	1.8985
Ciclo 83	5.8570	0.6428	2.9998
Promedio	5.8639	0.4197	2.449
Desv. Est.	0.0097	0.3156	0.779

Tabla 4.2. Resultados de la optimización en la etapa aerobia

A partir de las simulaciones realizadas es posible entonces concluir que el modelo matemático es adecuado para la degradación de p-nitrofenol en su fase anaerobia. Los resultados para x_1^* se encuentran en 10.72 en promedio con una desviación estándar de 3.79. Era de esperarse que este parámetro no cambie significativamente entre ciclos. Por otro lado, sí existe una variación significativa en el valor de la máxima tasa de degradación. μ^* , puesto que de alguna manera, por la simplificación del modelo incluye también la concentración de biomasa, la cual sí puede ser variable de un ciclo a otro. El valor de α representa la curvatura de cada curva y se encuentra en 1.22 promedio y 1.019 desviación estándar. Las curvas de Haldane, sin embargo, son similares. El parámetro k que representa la proporcionalidad de la curva de PAP con la curva de PNP está en 0.85 promedio con 0.13 de desviación estándar, con variaciones que no son significativamente diferentes entre ciclos.

Se puede también realizar la simulación para limitar los parámetros de tal forma que se permita que la simulación varíe únicamente los valores de μ^* . Con esta simulación restringida los resultados son similares, por lo que también se puede concluir que el modelo es válido y dependiente principalmente del parámetro μ^* el cual a su vez es dependiente de la concentración de biomasa con el que se inicia el ciclo de degradación.

4.4 Comparación con resultados de simulación

Para confirmar la validez del modelo, se realizaron las simulaciones con los parámetros obtenidos. Utilizando los datos obtenidos en cada una de las simulaciones, en Matlab simulamos el modelo ideal contra los datos reales y graficando unos contra otros. En las figuras 4.16 a 4.20 se muestra una comparación gráfica de los datos contra el modelo matemático propuesto. En todos los casos se puede observar que la parametrización obtenida permite simular el proceso con relativa precisión.

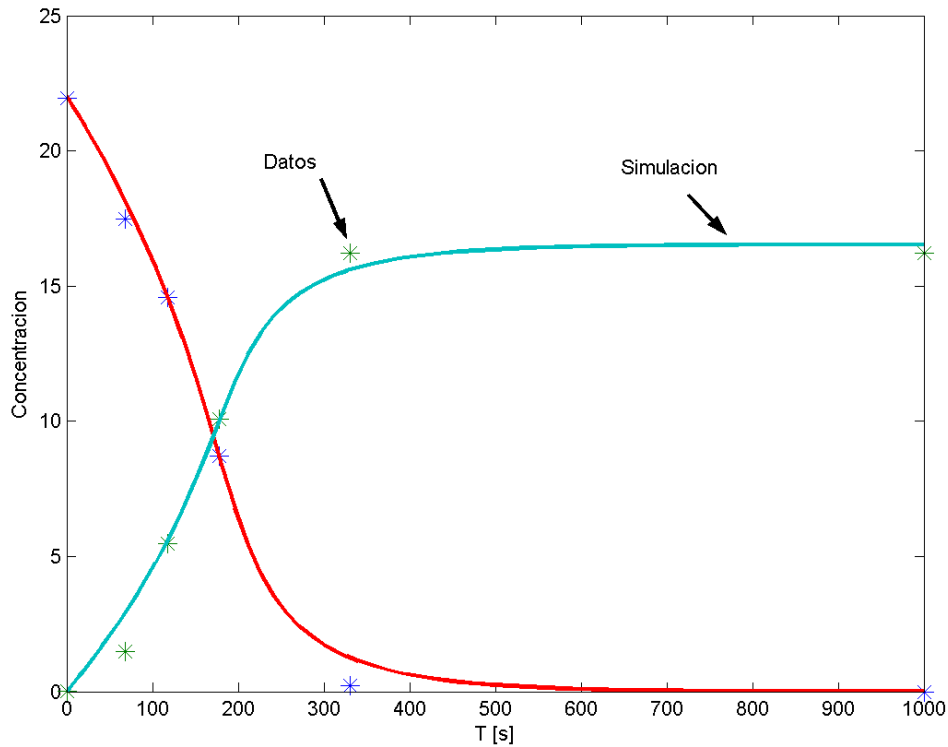


Fig 4.16. Comparación del modelo matemático para el Ciclo 16

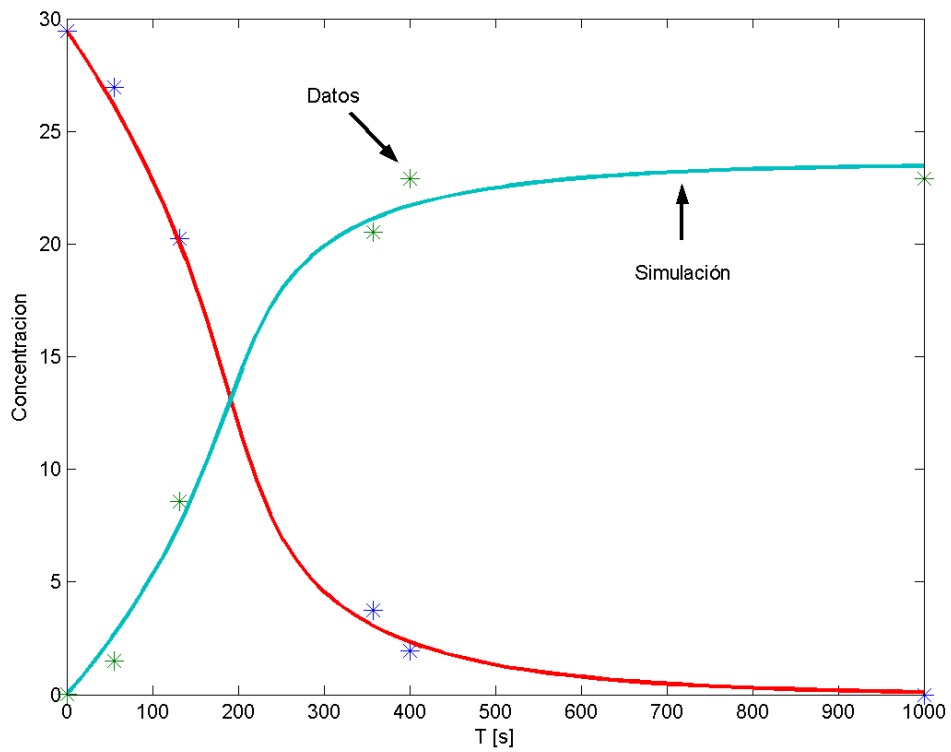


Fig 4.17. Comparación del modelo matemático para el Ciclo 87

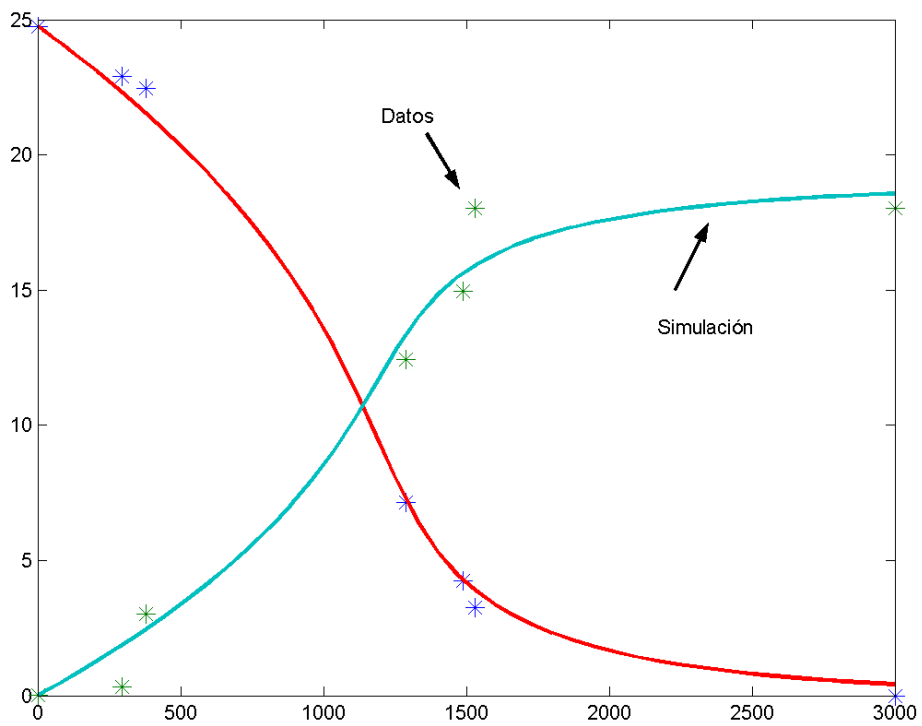


Fig 4.18. Comparación del modelo matemático para el Ciclo 163

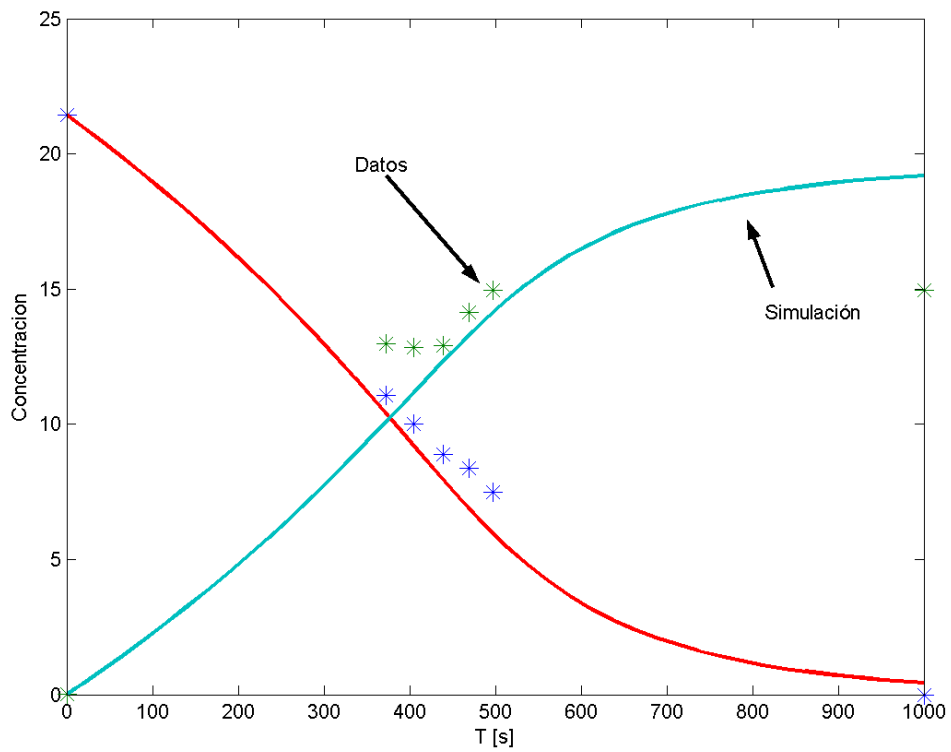


Fig 4.19. Comparación del modelo matemático para el Ciclo 167

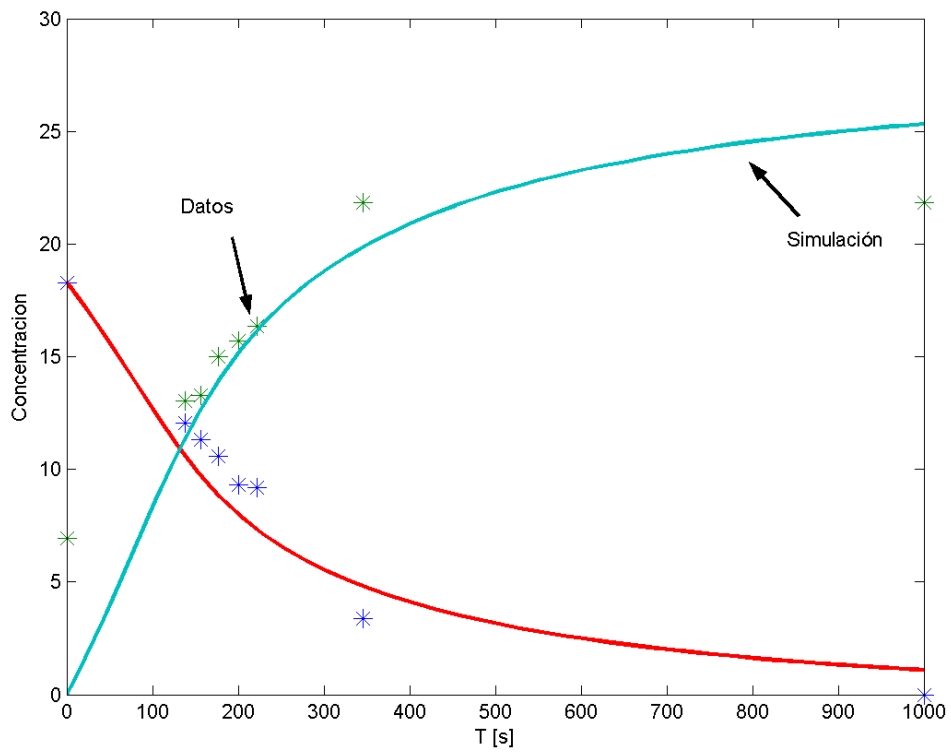


Fig 4.20. Comparación del modelo matemático para el Ciclo 206

5. Conclusiones

Este trabajo presenta los resultados de la aplicación de una técnica novedosa para medir concentraciones de compuestos involucrados en reacciones bioquímicas durante el tratamiento combinado de aguas residuales y de esta manera obtener los parámetros de un modelo matemático estándar que describe la dinámica de biodegradación. En particular, se trata de un proceso combinado anaerobio/aerobio en un reactor discontinuo secuencial.

La técnica de medición probada se basa en la espectrofotometría UV/Vis y en la descomposición no lineal de los componentes del espectro medido, de tal manera que a partir de los datos de dicho espectro es posible cuantificar los componentes de una mezcla de sustancias disueltas en el agua. En el caso particular estudiado, los dos componentes a determinar fueron las concentraciones de p-nitrofenol y de p-aminofenol en agua residual sintética. Las muestras fueron tomadas de un biorreactor experimental de 8 litros inoculado con biomasa de una planta convencional de lodos activados y aclimatados para la operar en un SBR anaerobio/aerobio.

El modelo matemático propuesto se basa en un balance estándar de masas y se considera sólo la fase de reacción. Se considera que existe inhibición a altas concentraciones con base en la dinámica observada experimentalmente y por ello se emplea una ley de tipo Haldane para describir la cinética de biodegradación.

Los parámetros del modelo fueron hallados haciendo uso del software Matlab y empleando los algoritmos de optimización proporcionados con él. Posteriormente los parámetros obtenidos fueron validados mediante simulaciones numéricas y comparando las curvas obtenidas con los datos recopilados, observándose una buena correlación. En particular, el parámetro μ^* del modelo parece ser el más sensible y variante con respecto a los distintos ciclos del reactor estudiados. Esto era de esperarse, puesto que incluye la concentración de biomasa en el reactor, la cual puede variar significativamente a lo largo del tiempo de operación del proceso. Los demás parámetros parecen mantenerse relativamente constantes a mediano plazo.

Como trabajo futuro se plantea la posibilidad de probar la técnica de cuantificación por espectrofotometría con mezclas más complejas, o bien su implementación automatizada, tomando muestras de forma automática del reactor y procesándolas casi en línea. Finalmente, otro aspecto que quizá valga la pena explorar una vez que puedan generarse mayor cantidad de datos, es la mejora del modelo matemático para incluir algunos otros fenómenos como el efecto de la dilución o de otras variables del proceso.

7. Anexo I : Programas del software ConSpect

A continuación se detalla el programa KINDATA que se desarrolló en Matlab para la obtención de los espectros medidos de una cinética del biorreactor:

```
function [S,Tsamp,L]=kindata(excelname,L)

% KINDATA
% Función para obtener los espectros medidos de una cinética. Se
requiere
% un archivo de EXCEL cuya primera columna son los tiempos de
ciclo en
% minutos y cuya segunda columna corresponde al nombre del
archivo
% scanXXX.xls (los valores de esta segunda columna son las XXX
como
% numero). La función da la libertad adicional de luego escoger
uno a uno
% los espectros que componen la cinética.
% Uso:
% [S,Tsamp]=kindata(excelname,L)          (si se cuenta con el
vector L)
% [S,Tsamp,L]=kindata(excelname)        (si L se extrae de las
cineticas)
%
% Por ejemplo, si el archivo es cin041115.xls, se escribe:
% [S,Tsamp]=kindata('cin041115',L)

[data,strings]=xlsread(excelname);
%The data matrix has this order:
% [Minutes,ScanNo,SampleNo]
Tall=data(:,2);
numscan=data(:,1);
if size(data,2)>2,
    muestra=data(:,3);
else
    muestra=[1:size(data,1)]';
end
disp('Esto es lo que hay:')
disp(strings),disp(data)
[r1,l1]=readscan(numscan(1));
if nargin==2,
    Sall=interp1(l1,r1,L);
else
    L=l1; Sall=[];
end
for i=2:length(numscan),
    [ri,li]=readscan(numscan(i));
    ri=interp1(li,ri,L);
    Sall=[Sall,ri];
end
```



```

%Para eliminar el pico que aparece entre 375 y 385 nm se
eliminan estas
%longitudes de onda y se interpola.
Lpicomin=370; Lpicomax=385;
lquesi=find(L<Lpicomin | L>Lpicomax)
Sall=interp1(L(lquesi),Sall(lquesi,:),L,'pchip');

clf
handles=plot(L,Sall);
D=drawtriangle(axis);
title('Presiona el triangulo rojo para escoger espectros')
respuesta=siono(D);
if ~respuesta %SI
    S=Sall;
    Tsamp=Tall;
else %NO
    title('Presiona el triangulo rojo para eliminar la curva
señalada')
    S=zeros(size(Sall,1),0);
    Tsamp=zeros(0,1);
    for i=1:size(Sall,2),
        texto=['Scan No. ',num2str(numscan(i)),...
            '. Sample ',num2str(muestra(i)),...
            ' @ ',num2str(Tall(i)),' min'];
        xlabel(texto);
        senal=plot(L,Sall(:,i),'y:','LineWidth',4);
        resp=siono(D);
        if resp %Eliminar esta curva
            delete(handles(i));
        else
            S=[S,Sall(:,i)];
            Tsamp=[Tsamp;Tall(i)];
        end
        delete(senal);
    end
end
return

function [D]=drawtriangle(ejes)
%Dibuja un triangulo rojo en la esquina superior derecha.
Regresa una
%matriz tal que si (x,y) son coordenadas, entonces D*[x;y;1]
tiene todos
%sus valores negativos si (x,y) estan en el interior del
triangulo.
porcentaje=0.05;
minx=ejes(1);
maxx=ejes(2);
miny=ejes(3);
maxy=ejes(4);
deltax=porcentaje*(maxx-minx);
deltay=porcentaje*(maxy-miny)*4/3;
hold on, axis(ejes)
%Triangulo rojo en esquina superior izquierda
fill([maxx,maxx,maxx-deltax],[maxy,maxy-deltay,maxy],'r')

```

```
D=[-1/deltax, -1/deltay, (maxx/deltax+maxy/deltay-1);
    1, 0, -maxx;
    0, 1, -maxy];
return
```

```
function resp=siono(D);
[xx,yy]=ginput(1);
resp=all(D*[xx;yy;1]<0);
```

Este es el programa KINETICS desarrollado para Matlab para estimar las concentraciones estimadas en cada una de las muestras del biorreactor:

```
function [X,cf,Beta]=kinetics(T,S,L,AM,f,sig2,factor)

% KINETICS
%
% Dada una matriz de los espectros medidos S de una cinética,
los tiempos
% de ciclo T, la matriz de espectros base A y en caso de ser
% necesario la matriz M de la no linealidad, entrega una matriz
de
% concentraciones estimadas para cada tiempo de muestreo.
% Adicionalmente se puede especificar el vector de varianzas
sig2 y un
% vector del efluente f. Los defaults son: sig2=ones,
f=S(:,end).
% Tambien se puede especificar un factor para limitar la
concentracion
% estimada de efluente cf (default=1.2), tal que 0 < cf <
factor
%
% La estimacion se hace tratando de minimizar dos tipos de
funciones de
% costo, considerando que invS=diag(1./sig2):
% Tipo A: J = |A*b-(s-f)|'*invS*|A*b-(s-f)|
% Tipo B: J = |[A,f]*[b]-s|'*invS*|[A,f]*[b]-s|
% | [c] | | [c] |
%En el caso no lineal luego se encuentra x optimizando la
funcion de costo
% J = || b - (x + M*xsi(x) ) ||^2
%
% Usos:
% SINTAXIS sig2 f tipo
estimacion
%-----
-----
% Xhat=kinetics(T,S,L,A) ones S(:,end) A
lineal
% Xhat=kinetics(T,S,L,A,f) ones f A
lineal
% Xhat=kinetics(T,S,L,A,[],sig2) sig2 S(:,end) A
lineal
% Xhat=kinetics(T,S,L,A,f,sig2) sig2 f A
lineal
```

```

% [Xhat,cf]=kinetics(T,S,L,A)          ones  S(:,end)  B
lineal
% [Xhat,cf]=kinetics(T,S,L,A,f)       ones    f      B
lineal
% [Xhat,cf]=kinetics(T,S,L,A,[],sig2) sig2  S(:,end)  B
lineal
% [Xhat,cf]=kinetics(T,S,L,A,f,sig2)  sig2    f      B
lineal
%
%Para cambiar de estimacion lineal a no lineal, usense las
mismas
%sintaxis, pero sustituyase A por [A;M'], por ejemplo...
%
% Xhat=kinetics(T,S,L,[A;M'])          ones  S(:,end)  A
no lineal
% [Xhat,cf]=kinetics(T,S,L,[A;M'],[],sig2) sig2  S(:,end)  B
no lineal
%
% Si f=0 y es dado, entonces se asume tipo A, aun si se pide
cf.
%
% A toda sintaxis puede agregarsele un septimo argumento:
factor.
% Para la estimacion no lineal, se puede ademas pedir el valor
de Beta, de
% la siguiente manera:
% [Xhat,cf,Beta]=kinetics(T,S,L,A,f,sig2)      para tipo B
% [Xhat,cf,Beta]=kinetics(T,S,L,A,f,sig2,0)    para tipo A
(notese que se
% hace factor=0 para diferenciarlo del tipo B, y cf sera =zeros)

if nargin<4,error('Al menos de debe proporcionar ([],S,[],A)');
end
[N,q]=size(S);
n=size(AM,2);
A=AM(1:N,:);
%Si no se proporciona T, tomar las muestras igualmente
espaciadas
if isempty(T), T=(1:q)'; end
if size(T)~=[q,1],error('T no es de dimension adecuada');end
if isempty(L), L=linspace(0,1,N)'; end
if size(L)~=[N,q],error('L no es de dimension adecuada'); end
if nargin<7, factor=[];end
if isempty(factor), factor=1.2; else factor=max(0,factor); end
if nargin<6, sig2=[]; end
if isempty(sig2), sig2=ones(N,1); else
    if size(sig2)~=[N,1],error('sig2 no es de dimension
adecuada');end
end
if nargin<5, f=[]; end
if isempty(f), f=S(:,q); else
    if f==0, f=zeros(N,1); end
    if size(f)~=[N,1],error('f no es de dimension adecuada');end
end

%Checar que metodo se eligio

```

```

if nargout==1, factor=0;end

X=zeros(n,q);
cf=zeros(1,q);
Beta=zeros(n,q);

graphyes=1;

for i=1:q,
    si=S(:,i);
    [xi,ci,betai]=getconc(si,AM,f,sig2,factor);
    if graphyes
        clf
        plot(L,[si,A*betai+ci*f]);
        texto=['x = [ ',num2str(xi),' ]'];
        if factor~=0, texto=[texto,', c = ',num2str(ci)];end
        title(texto)
        pause
    end
    X(:,i)=xi;
    cf(:,i)=ci;
    Beta(:,i)=betai;
end

Colors=get(gca,'ColorOrder');
ColorsDark=Colors*0.5;
ncolors=size(Colors,1);

[T,order]=sort(T);
Xordered=X(:,order);
clf,hold on
plot(T,Xordered)
set(gca,'ColorOrder',ColorsDark);
plot(T,Xordered,'x')

```

8. Anexo II : Programas para realizar la parametrización

Este es el programa con el que resolvió usando lsqnonlin de Matlab :

```
function dx = bioreactor(t,x,nada,param)

x1_star=param(1);
mu_star=param(2);
alfa=param(3);
k=param(4);

mu=muu(x(1),x1_star,mu_star,alfa);

dx=zeros(2,1);
dx(1)=-mu;
dx(2)=k*mu;
```

La función que bioreactor llama para la optimización no lineal es muu:

```
function mu=muu(x,x_star,mu_star,alfa)

mu=mu_star*x_star*x./( x_star*x + alfa*(x-x_star).^2 );
```

6. Bibliografía

- Henze, M.; van Loosdrecht, M.C.M.; Ekama, G.A. y Brdjanovic, D.:2008. *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design*. capítulo Wastewater treatment development, pp. 1–8. IWA Publishing, 2008.
- Melgoza, R.M. y Buitrón, G.:2001. “Degradation of p-nitrophenol in a batch biofilter under sequential anaerobic/aerobic environments”. *Wat. Sci. Technol.*, 2001, **44(4)**, pp. 151–158
- van Lier, J.B.; Mahmoud, N. y Zeeman, G.:2008. *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design*. capítulo Anaerobic wastewater treatment, pp. 415–456. IWA Publishing, 2008.
- Mace, S. y Mata-Álvarez, J.:2002. “Utilization of SBR technology for wastewater treatment: an overview”. *Ing. Eng. Chem. Res.*, 2002, **41**, pp. 5539–5553.
- Wilderer, P.A.; Irvine, R.L. y Goronszy, M.C.:2001. *Sequencing Batch Reactor Technology*. volumen 10 de *Scientific and Technical Reports*. IWA Publishing, London, 2001.
- Moreno-Andrade, I. y Buitrón, G.:2003. “Influence of the initial substrate to microorganisms concentration ratio on the methanogenic inhibition test”. *Wat. Sci. Technol.*, 2003, **48(6)**, pp. 17–22.
- Olsson, G.:2008. *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design*. capítulo Process control, pp. 393–414. IWA Publishing, 2008.
- Plisson-Saune, S.; Capdeville, B.; Mauret, M.; Deguin, A. y Baptiste, P.:1996. “Real-time control of nitrogen removal using three ORP bending points: signification, control strategy and results”. *Wat. Sci. Technol.*, 1996, **96**, pp. 275–280.
- Vanrolleghem, P.A. y Lee, D.S.:2003. “On-line monitoring equipment for wastewater treatment processes: state of the art”. *Wat. Sci. Technol.*, 2003, **47(2)**, pp. 1–34.
- Zipper, T.; Fleishmann, N. y Haberl, R.:1998. “Development of a new system for control and optimization of small wastewater treatment plants using oxidation-reduction potential (ORP)”. *Wat. Sci. Technol.*, 1998, **38(3)**, pp. 307–314.
- Holman, J.B. y Wareham, D.G.:2003. “Oxidation-reduction potential as a monitoring tool in a low dissolved oxygen wastewater treatment process”. *J. Environ. Eng. Div.*, 2003, **129(1)**, pp. 52–58.
- Martínez, K.M.; Vargas, A. y Buitrón, G.:2006. “Degradation of acid orange 7 by a controlled anaerobicaerobic sequencing batch reactor”. *Wat. Sci. Technol.*, 2006, **54(2)**, pp. 187–192.

- Buitrón G., Betancur M., Moreno G. y Moreno J. (2006) Oxidation-reduction potential as control variable for the anaerobic stage during the anaerobic - aerobic p-nitrophenol degradation; *Biotechnology Progress*, 19, 1822 – 1927.
- Buitrón, G.; Razo-Flores, E.; Meraz, M. y Alatríste-Mondragón, F.:2006. *Advanced Biological Treatment Process for Industrial Wastewaters*. capítulo Biological wastewater treatment systems, pp. 141–185. Integrated Environmental Technology. IWA Publishing, London, 2006.
- Vargas, A.; González, D.; Estival, A. y Buitrón, G.:2006. *Young Researchers 2006*. capítulo Automation of an anaerobic/aerobic SBR for toxic wastewater treatment, pp. 135–141. Water and Environmental Management. IWA-Publishing, London, U.K., 2006.
- Vargas A. y Buitrón G. (2005). On-line concentration measurements in wastewater using nonlinear deconvolution and partial least squares of spectrophotometric data. *Water Science and Technology*, **53** (4-5), 457-463
- AFNOR (1995) *Evaluation en milieu de la biodégradabilité aérobie "ultime" des produits organiques solubles. Méthode par analyse de coabone organique dissous (COD)*, Norme Française NF T 90 312, Paris.
- Melgoza, R. and Buitrón, G. (2001). Degradation of p-nitrophenol in a batch biofilter under sequential anaerobic/aerobic environments, *Wat. Sci. Tech.*, **44**(4), 151, 157.