

Control Strategy for the Dissolved Oxygen Concentration in a Bioreactor

Diana I. Guerrero R.

Abstract— This article presents two multi-variable control strategy for the regulation of Dissolved Oxygen Concentration in a stirred laboratory-scale bioreactor. The controllers manipulates the airflow and agitation speed in the reactor. Departing from a mechanistic model that relates the manipulated variables and the oxygen transfer coefficient, linearized local models of the process are obtained. Then, a mid-range controller and an NMPC control are designed to extend the operating ranges of the control variables to make the system more stable against the consumption of microorganisms. A strategy with the best advantages in the process is selected by means of simulations to implement it in a real bioreactor. The results show that the strategy can regulate the concentration of oxygen in a wide range of operating conditions.

Keywords— Mid-range controller, NMPC control, dissolved oxygen control.

I. INTRODUCCIÓN

EN LOS BIOPROCESOS industriales, el objetivo principal es maximizar el crecimiento microbiano y/o producción de algún compuesto derivado por un microorganismo. Para lograr esto de manera eficiente, es necesario mantener un entorno adecuado en todo momento para dichos microorganismos [1].

Por lo cual, el Instituto de Errores Innatos del Metabolismo (IEIM) de la facultad de Ciencias y el grupo de investigación de Control, Electrónica de Potencia y gestión de la Innovación Tecnológica (CEPIT) de la facultad de Ingeniería de la Pontificia Universidad Javeriana, desarrollan un proyecto de investigación con el fin de diseñar y evaluar estrategias que permitan obtener un sistema automático que maximice la producción de proteínas recombinantes en un biorreactor, a partir del microorganismo *Pichia Pastoris*, que es una levadura metilotrófica capaz de desarrollar una proteína de alta pureza utilizando solamente metanol como fuente de energía.

Un biorreactor es un dispositivo biotecnológico que busca proveer internamente un ambiente controlado (pH, temperatura, concentración de oxígeno disuelto, etc.) que garantice y maximice la producción de un cultivo vivo [2]. Para garantizar el adecuado crecimiento del cultivo en el biorreactor es de vital importancia la transferencia de oxígeno, ya que esta se requiere para mezclar los nutrientes y mantener la fermentación homogénea. No obstante, el oxígeno en el medio de cultivo es limitado, dado que tiene una baja solubilidad en las soluciones acuosas, por lo que debe ser alimentado continuamente. Para superar este inconveniente se emplea como alternativa el desarrollo de leyes de control en tiempo real que manipulen los cambios del flujo entrante de aire y de la velocidad de agitación

del biorreactor, con el fin mantener el oxígeno disuelto necesario en el medio de cultivo.

Tomando como base lo anterior, en el trabajo de grado titulado “*Sistema de control multivariado para la concentración de oxígeno en un biorreactor*” [3] se diseñó y construyó un esquema de control basado en máquinas de estados que conmutan entre dieciséis controladores tipo PI para verificar las condiciones de operación del sistema. Para ello, se estableció una jerarquía entre las variables de control (flujo entrante de aire y velocidad de agitación), dado que el costo de mantenimiento del variador de velocidad es menor que el de la válvula, y la transferencia de oxígeno es más sensible a los cambios en la agitación. Sin embargo, el control multivariado presentó inestabilidad en ciertas regiones de operación haciendo que no fuera totalmente efectivo.

En un trabajo de grado posterior titulado “*Optimización de la producción de proteínas recombinantes en Pichia Pastoris basadas en un modelo In Silico*” [4], se desarrolló una estrategia óptima del cultivo para maximizar el crecimiento de la proteína y de la biomasa, dando como resultado las trayectorias óptimas de la concentración de oxígeno disuelto y del metanol. Este trabajo se efectuó con el sistema en malla abierta y en simulación, es por esta razón que en el trabajo de grado titulado “*Controlador MPC en línea para la regulación de metanol y oxígeno disuelto en un biorreactor*” [5], se desarrolló un controlador MPC en línea para la regulación del metanol y del oxígeno disuelto en el proceso de producción, dicho controlador estuvo en la capacidad de seguir algunas trayectorias óptimas. Sin embargo, el controlador de oxígeno diseñado en [3] fue muy inestable, sin lograr una alta producción de proteína y/o biomasa.

Por tanto, el objetivo general de este trabajo es desarrollar una estrategia de control para la concentración de oxígeno disuelto, a través de la manipulación de la velocidad de agitación y del flujo de aire entrante en el biorreactor del IEIM. Para ello, se plantearon cuatro objetivos específicos donde el primero es caracterizar el proceso de transferencia de oxígeno del biorreactor empleando la sonda de oxígeno SE 740 de Knick; el segundo seleccionar y evaluar en simulación dos esquemas de control multivariados continuos, capaces de mantener la estabilidad en el proceso de transferencia de oxígeno del biorreactor; el tercero implementar una estrategia de control para la concentración de oxígeno disuelto en tiempo real, que posea un tiempo de establecimiento menor a veinte minutos y un sobre impulso inferior al dieciséis por ciento; y el último diseñar un protocolo de pruebas que permita validar el desempeño del controlador implementado en el sistema embebido CompactRIO.

El artículo está organizado de la siguiente manera, la sección II describe el proceso de transferencia de oxígeno, la sección III presenta las dos estrategias de control propuestas, la sección IV muestra los resultados obtenidos en pruebas experimentales de la estrategia seleccionada. Finalmente, La sección V presenta las conclusiones y trabajos futuros.

II. EL PROCESO DE TRANSFERENCIA DE OXÍGENO

La concentración de oxígeno disuelto (COD) se ve afectada por diferentes factores que intervienen sobre la dinámica, como los parámetros geométricos del biorreactor, las condiciones de operación en las que se desarrolla el proceso y las propiedades físicas del medio del cultivo como el gas utilizado para aportar el oxígeno. Los microorganismos que intervienen en el cultivo, en este caso *Pichia Pastoris*, generan una alta demanda de oxígeno disuelto para sobrevivir, y de un medio de cultivo rico en nutrientes para poder crecer y desenvolverse. Por consiguiente, es esencial conocer la dinámica del biorreactor donde las ecuaciones 1 al 4 expresan el modelo matemático desarrollado [4] del biorreactor de la Fig. 1.

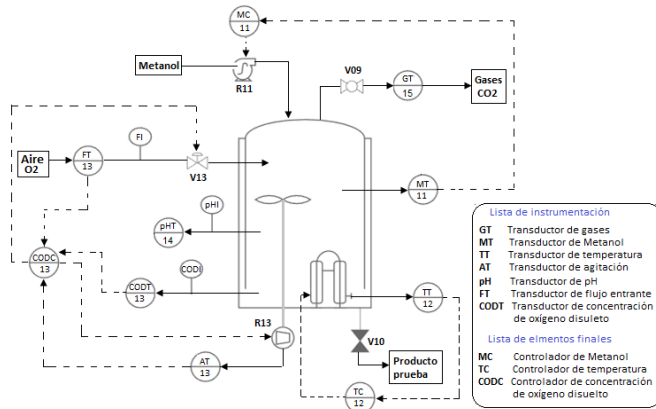


Figura 1. Diagrama P&ID del proceso.

$$\dot{X}(t) = \mu(t) * X(t) - D(t) * X(t) \quad (1)$$

$$\mu(t) = \mu_{max} * \frac{C_{met}(t)}{d * C_{met}(t)^2 + C_{met}(t) + K_{met}} * \frac{COD(t)}{COD(t) + K_{OD}}$$

$$\dot{P}(t) = q_{pro}(t) * X(t) - D(t) * P(t) \quad (2)$$

$$q_{pro}(t) = a + b * \mu(t) + c\mu(t)^2 \quad D(t) = Fair(t) / V(t)$$

$$\dot{C}_{met}(t) = 100 * \frac{Fair(t)}{V(t)} - 0.1 * r_{met}(t) * X(t) \quad (3)$$

$$r_{met}(t) = 3.17 * \mu(t)$$

$$\dot{V}(t) = Fair(t) \quad (4)$$

Donde X es la cantidad de biomasa, P es la cantidad de proteína, V es el volumen del biorreactor, C_{met} es la

concentración del sustrato, en este caso metanol, y Fair es el flujo de entrada del metanol.

El proceso de transferencia de oxígeno consiste en colocar en contacto los microorganismos con el oxígeno disuelto, transfiriéndolo a través de la interface de gas a líquido. Por ello, se inyecta un flujo de aire al biorreactor, el cual genera una serie de burbujas que se desplazan de abajo hacia arriba por todo el recipiente efecto de la velocidad de agitación. Una vez que el oxígeno se ha difundido por el medio acuoso, este llega a las células de los microorganismos. Por ende, la ecuación de conservación de masa del COD está dada por 5 que depende de la tasa de transferencia de oxígeno (OTR) y de la tasa de consumo de oxígeno (OUR).

$$\frac{d COD(t)}{dt} = OTR(t) - OUR(t) \quad (5)$$

A su vez el OTR depende del valor del coeficiente volumétrico de transferencia ($k_L a$), que se ve afectado por las condiciones de operación del flujo de entrada al biorreactor (F_{in}), expresado en vvm, y de la velocidad de agitación de la turbina (ω), denotado en rpm, las cuales resultan indispensables para la optimización de la cantidad de biomasa. Igualmente, se tiene la fuerza motriz para la trasferencia de oxígeno que se expresa como la diferencia entre la concentración de oxígeno de saturación (COD^*) y la concentración real, medidas en $g L^{-1}$. Por otra parte, el OUR depende de la velocidad específica de respiración (r_{o2}) y de la cantidad de biomasa (X) presente en el biorreactor que es medido en $g L^{-1} h^{-1}$, como se enseña en la ecuación 6.

$$\dot{COD}_{\%}(t) = k_L a (F_{in}(t), \omega(t)) * [COD^* - COD(t)] - [r_{o2}(t) * X(t)] \quad (6)$$

Dado que la variable COD solo puede tomar valores entre cero y COD^* , es conveniente expresar el cambio de la concentración de oxígeno disuelto en términos de porcentaje. Lo que es necesario dividir cada término de la ecuación 6 entre la concentración de saturación que corresponde al 100 % del contenido de oxígeno disuelto, como se expresa en el modelo de la ecuación 7.

$$\dot{COD}_{\%}(t) = k_L a (F_{in}(t), \omega(t)) * [100\% - COD_{\%}(t)] - [100\% * r_{o2}(t) * X(t)] \quad (7)$$

Igualmente, se debe tener en cuenta que la dinámica del oxígeno es mucho más rápida que la dinámica de otros procesos relevantes como la biomasa o la concentración de metanol.

A. Modelo lineal

Como se ha mencionado el COD presenta una significativa no linealidad dado que depende de productos entre funciones no lineales de sus entradas. Es por esto que al analizar la curva de estimación se observa que existe una relación lineal entre el $k_L a$ y ω para diferentes condiciones de flujo entrante constante, como se expresa en la ecuación 8 donde los parámetros a y b varían con el valor de F_{in} , como se muestra en la Tabla 1.

$$k_L a(t) = \{a * \omega(t) + b : F_{in} = cte\} \quad (8)$$

TABLA I
APROXIMACIÓN LINEAL DEL $k_L a$ CON RESPECTO ω .

F_{in} (vvm)	a	b	R^2
0.2	0.04	-1,15	0,98
0.5	0.05	4.52	0.93
1.0	0.07	-0.61	0.97
1.5	0.11	-6.31	0.98
2.0	0.14	-16.48	0.98

Al incluir esta relación lineal en la ecuación 7 se obtiene el modelo de la ecuación 9, la cual resulta ser no lineal. Sin embargo, el término $[100\% * r_{o_2}(t) * X(t)]$ se toma como $OUR\%(t)$, ya que este parámetro varía demasiado a consecuencia de factores externos complejos que no se tienen en cuenta en el modelo propuesto del biorreactor, siendo más eficiente tomarlo como una perturbación para el diseño del controlador. Por ende, la concentración de oxígeno disuelto depende solamente de ω y OUR siendo posible utilizar el proceso de linealización alrededor del punto de equilibrio $P = [\overline{COD\%}, \overline{OUR\%}, \overline{\omega}]$. Al realizar dicho procedimiento se obtiene la ecuación 10.

$$\dot{COD\%}(t) = [a * \omega(t) + b] * [100\% - COD\%(t)] - [100\% * r_{o_2}(t) * X(t)] \quad (9)$$

$$\dot{COD\%}(t) = -[a * \overline{\omega} + b] \overline{COD\%}(t) - \overline{OUR\%}(t) + a * [100\% - \overline{COD\%}] \overline{\omega}(t) \quad (10)$$

Por mayor facilidad se encuentra la función de transferencia de la concentración de oxígeno disuelto como se ve en la ecuación 11, la cual es esencial para diseñar el controlador lineal e invariante con el tiempo que regule el oxígeno disuelto en todas las condiciones de operación establecidas anteriormente.

$$COD\%(s) = \frac{k_1}{\tau s + 1} \omega(s) + \frac{k_2}{\tau s + 1} OUR\%(s) \quad (11)$$

Donde:

$$k_1 = \frac{a * [100\% - \overline{COD\%}]}{a * \overline{\omega} + b} \quad k_2 = \frac{-1}{a * \overline{\omega} + b}$$

$$\tau = \frac{1}{a * \overline{\omega} + b}$$

Todas estas observaciones se pueden considerar de manera semejante para la curva de estimación correspondiente al flujo entrante de aire, la cual relaciona el $k_L a$ y F_{in} de forma lineal para diferentes condiciones de velocidad de agitación constante.

III. ARQUITECTURAS DE CONTROL

Para el caso particular de este trabajo, se maneja un bioproceso fed-batch donde los nutrientes son alimentados al biorreactor de forma continua o semicontinua, este proceso se divide en dos fases: una de crecimiento donde se espera que la biomasa empiece a crecer de manera exponencial, para lo cual

se ingresa un valor de COD superior al 80 % durante un tiempo, aproximadamente 24 horas. La segunda fase es de inducción (producción de proteína) donde se debe garantizar un crecimiento de biomasa óptimo para asegurar una alta productividad de proteína en el biorreactor, dichos parámetros se optimizaron en [4] con el fin de obtener las curvas deseadas para el metanol y el COD. En la Fig. 2 se muestra la curva de referencia del COD que se empleará en los controladores.

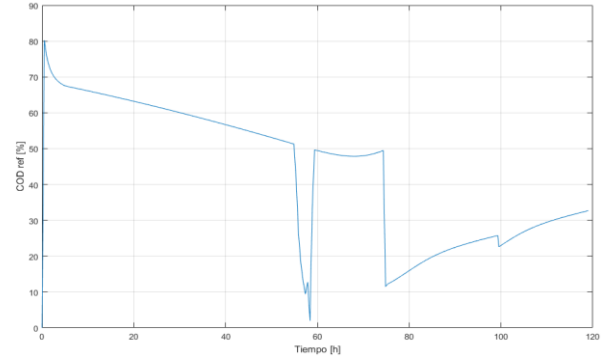


Figura 2. Curva óptima de COD para maximizar la proteína.

El control de oxígeno disuelto representa un importante reto de operación, debido a que este depende de dos variables (F_{in} y ω) para lograr el COD deseado, es decir, un sistema MISO. Adicional a esto, el controlador debe cumplir con ciertos requerimientos para no dañar la cepa y asegurar la estabilidad del sistema durante todo el tiempo de producción (varía entre 72 a 120 horas), razón por la cual se decide establecer un sobre pico porcentual inferior al dieciséis por ciento, un tiempo de establecimiento menor a cinco minutos, un tiempo de retardo que no exceda los dos minutos y que no presente oscilaciones bruscas ante perturbaciones o cambios en el punto de referencia.

A. Control de Rango Medio.

Una de las estrategias que mejor se ajusta a estos requerimientos es el controlador de rango medio, ya que es una estructura simple que es ampliamente implementada en la industria para sistemas MISO y posee una desviación estándar inferior que otros controladores multivariables como el control adaptativo [8]. En esta estrategia dos controladores SISO están conectados en cascada donde la entrada más rápida, en este caso la velocidad de agitación, controla directamente la salida (COD) y la otra entrada, el flujo de entrada de aire, controla el valor de la primera asegurándose que no sature. Para ello, se plantea una velocidad de agitación nominal de 450 rpm, ya que es un valor donde la transferencia de oxígeno alcanza un punto favorable para el desarrollo del microorganismo según los encargados del cultivo, y si se elige un valor cercano a la velocidad máxima de agitación la entrada al controlador de F_{in} será pequeña durante posibles saturaciones. En la Fig. 3 se muestra dicho esquema de control.

Sin embargo, el control clásico de rango medio puede ser contraproducente, ya que la dinámica del proceso hace que las dos variables estén relacionadas entre sí. Es por esto que se propone una modificación a la estrategia de control, la cual usa el valor de la segunda entrada (F_{in}) como punto de ajuste de la primera entrada (ω) para mantener las dos variables compensadas, como se muestra en la Fig. 4.

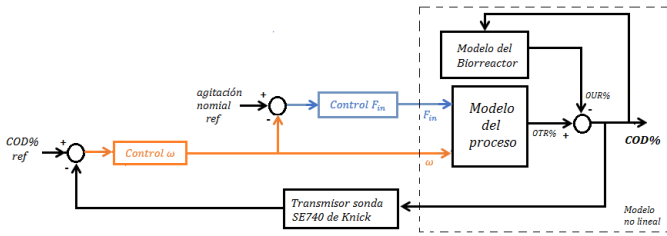


Figura 3. Diagrama de bloque del controlador clásico de rango medio.

Para escoger los dos controladores internos de esta estrategia se tuvo en cuenta lo mencionado en [3], donde la arquitectura de control que mejor se ajusta al proceso de transferencia de oxígeno es una acción proporcional integral (PI) en paralelo como se muestra en la ecuación 12, ya que garantiza un error nulo en régimen permanente ante cualquier perturbación que es lo esencial para un sistema de primer orden con un segundo polo, proveniente de la dinámica de la sonda de oxígeno expresada en la ecuación 13. Además, agregar una acción derivativa al control no es conveniente cuando se posee una señal ruidosa que es el caso de la medición de oxígeno disuelto disponible en el biorreactor.

$$U(s) = \left(k_p + \frac{k_i}{s} \right) E(s) \quad (12)$$

$$COD_s(s) = \frac{1}{0.038s + 1} COD_{\%}(s) \quad (13)$$

La sintonización de los dos controladores PI está dado por la interpolación de un conjunto de controladores lineales que responden a los cinco puntos de operación establecidos anteriormente. La idea de la interpolación es poder estimar una función $f(x)$ para un x arbitrario, a partir de la construcción de una curva que une los puntos ya conocidos, asumiendo que el punto arbitrario x se encuentra dentro de los límites de los puntos distinguidos [9].

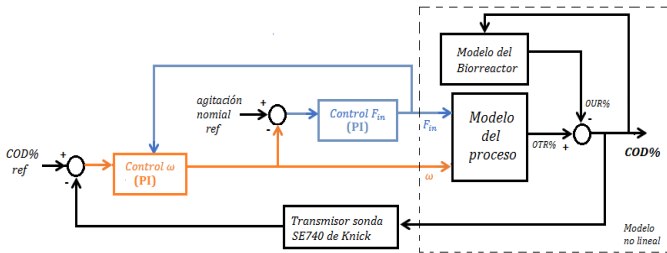


Figura 4. Diagrama de bloque del controlador de rango medio modificado.

Para realizar el conjunto de controladores lineales es necesario establecer el punto de equilibrio del COD, el cual se toma cuando las dos fases líquido (medio acuoso) y gaseoso (burbujas) se encuentran en equilibrio, ya que en esta condición la relación de la concentración del gas en el líquido va a mantenerse en un valor constante siendo este el punto más estable del sistema según la ley de Henry [10]. Por tanto, se comprueba la estabilidad asintótica para el modelo planteado en la ecuación 9 con el punto de equilibrio establecido en $\overline{COD} = 0$, para ello, se utiliza la función candidata de Lyapunov de la ecuación 14 donde al derivar dicha función se demuestra que está siempre va a ser menor que cero, dado que el valor de OUR es muy grande en comparación al del COD como se expresa en

la ecuación 15, siendo posible concluir que el error de COD tenderá asintóticamente a cero a medida que el tiempo tienda a infinito.

$$v = \frac{1}{2} COD_{\%}(t)^2 \quad (14)$$

$$\begin{aligned} \dot{v} &= COD_{\%}(t) * \dot{COD}_{\%}(t) \\ &= COD_{\%}(t) * ([a * \omega(t) + b] * [100\% - COD_{\%}(t)] \\ &\quad - OUR_{\%}(t)) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \dot{v} &= (COD_{\%}(t) * [a * \omega(t) + b] * 100\%) - (COD_{\%}(t)^2 \\ &\quad * [a * \omega(t) + b]) - (OUR_{\%}(t) * COD_{\%}(t)) \end{aligned}$$

$$-(OUR_{\%}(t) * COD_{\%}(t)) \ll 0 \quad \therefore \dot{v} < 0 \quad (15)$$

Teniendo en cuenta lo anterior, se diseñó el conjunto de controladores lineales para la velocidad de agitación por medio de la herramienta Control System Designer de Matlab®, donde cada controlador PI se sintonizó a partir de la función de transferencia planteada en 11 la cual varía dependiendo el valor de la constante de F_{in} . Adicional a esto, se agrega la dinámica de la sonda y se coloca como limitación un tiempo de establecimiento menor a 10 min (0.17 h), ya que esta es la variable que controla directamente el COD. Las ganancias k_p - k_i obtenidas y los índices de desempeño de cada controlador se muestran en la Tabla 2 donde se verifica el cumplimiento del tiempo de establecimiento (T_s) y el máximo pico porcentual (OV), dado que estos índices se ven reflejados en la interpolación.

TABLA II
CARACTERÍSTICAS DEL CONJUNTO DE CONTROLADORES

F_{in} (vvm)	k_p	k_i	T_s (min)	OV (%)
0.2	3.21	54.56	8.40	1.61
0.5	5.65	103.03	9.00	7.55
1.0	4.31	93.55	8.76	8.56
1.5	3.81	77.63	3.12	1.87
2.0	2.67	62.17	4.38	0.15

Teniendo las ganancias del conjunto de controladores lineales se realiza la interpolación de cada una de ellas, con el propósito de generar un único controlador PI para la velocidad de agitación que manipule todo el rango de operación del flujo entrante de aire (0.2 a 2.0 vvm). La interpolación que se empleó fue de tipo splines cúbicos, la cual genera una función que tenga una primera derivada suavizada y una segunda derivada continua tanto para los intervalos internos como los puntos conocidos. Estas ganancias se observan en la Fig. 5.

El segundo controlador PI que manipula F_{in} se sintonizó manualmente para actuar a bajas frecuencias de manera que no interfiera con el primer controlador, por ende, se estableció que el conjunto de controladores PI tuviera una frecuencia de corte en lazo abierto inferior a 1 rad/h, ya que la frecuencia mínima del controlador primario es de 11 rad/h siendo una década inferior lo más conveniente para no interferir con el control de ω . Asimismo, el valor de la ganancia del integrador debe ser

negativa dado que es un compromiso de rendimiento para que no se sature el controlador primario.

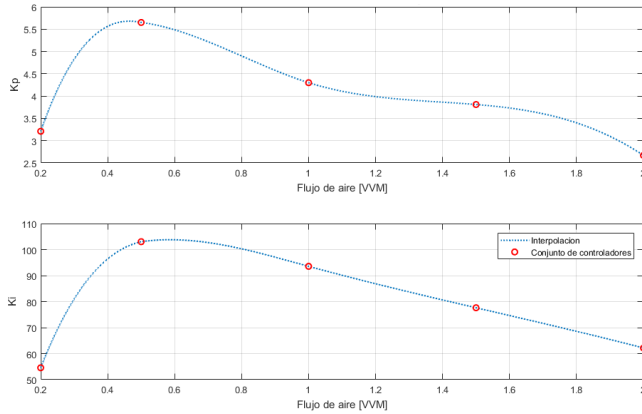


Figura 5. Ganancias del controlador PI para la velocidad de agitación.

Para ello, se realiza el mismo procedimiento del controlador anterior a partir de la función de transferencia que relaciona linealmente el $k_L a$ con F_{in} para diferentes valores constante de ω como se expresa en la ecuación 16. Igualmente, en la Tabla 3 se muestran los valores de los parámetros a' y b' de dicha relación.

$$COD_{\%}(s) = \frac{k_1}{\tau s + 1} F_{in}(s) + \frac{k_2}{\tau s + 1} OUR_{\%}(s) \quad (16)$$

Donde:

$$k_1 = \frac{a' * [100\% - \overline{COD}_{\%}]}{a' * \overline{F}_{in} + b'} \quad k_2 = \frac{-1}{a' * \overline{F}_{in} + b'}$$

$$\tau = \frac{1}{a' * \overline{F}_{in} + b'}$$

TABLA III
APROXIMACIÓN LINEAL DEL $k_L a$ CON RESPECTO A F_{in} .

ω (rpm)	a'	b'	R^2
200	1.17	10.58	0,90
500	17.60	19.04	0.99
700	31.49	25.79	0.95
850	39.04	28.54	0.98
950	40.98	29.67	0.99

TABLA IV
CARACTERÍSTICAS DEL CONJUNTO DE CONTROLADORES

ω (rpm)	k_p	k_i	Wc (rad/h)	MF (deg)
200	0	-0.000063	0.005	89.975
500	0	-0.000137	0.008	89.976
700	0	-0.000143	0.008	89.991
850	0	-0.000183	0.009	89.993
950	0	-0.000116	0.007	89.994

Por medio de la herramienta pidtune de Matlab® se sintonizó cada controlador PI teniendo en cuenta la limitación en la

frecuencia de corte (Wc) que estable aproximadamente el ancho de banda del controlador con la mejor estabilidad posible en lazo abierto, dando como resultado las ganancias $k_p - k_i$ y los índices de desempeño mostrados en la Tabla 4.

Dado que el OUR se modela con una perturbación, este lleva a que el rango de operación de ω se reduzca haciendo que el error en estado estacionario dependa en gran medida de la ganancia del integrador, por lo tanto, al sintonizar el conjunto de controladores arroja solamente un integrador para cumplir con las especificaciones definidas. En la Fig. 6 se muestra la interpolación de las ganancias para que el controlador de flujo entrante de aire maniobre todo el rango de operación de la velocidad de agitación (200 a 950 rpm).

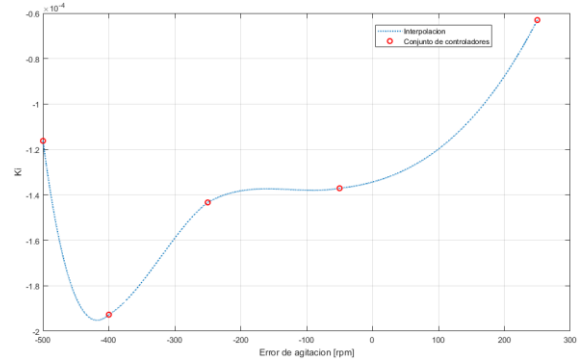


Figura 6. Ganancias del controlador PI para el flujo entrante de aire.

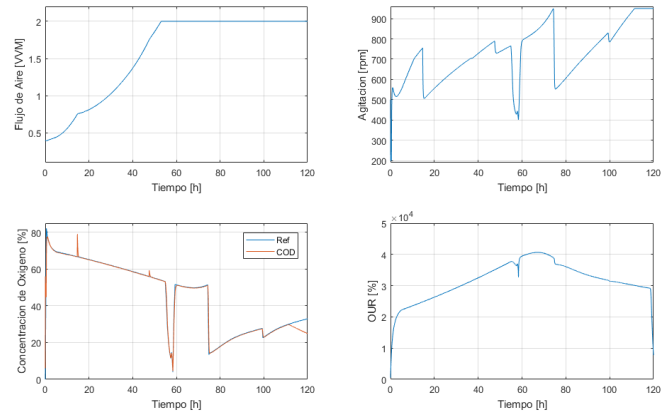


Figura 7. Respuesta del controlador de rango medio.

Diseñados los dos controladores PI se procede a evaluar la estrategia de control planteada sobre el modelo no lineal. La Fig. 7 muestra el comportamiento de la concentración de oxígeno disuelto que es capaz de seguir la referencia en presencia de la perturbación (OUR), con un máximo sobre pico porcentual de 14.8 % y un máximo tiempo de establecimiento de 20 minutos, como se evidencia no se llegó al tiempo de establecimiento deseado de 5 minutos, dado que el OUR presenta dos fases. Una fase inicial rápida que corresponde a la aclimatación del microorganismo, donde la dinámica del COD debe ser lenta para alcanzar un valor de referencia tan alto (80 %), sino ocasionaría oscilaciones las cuales no son adecuadas para el desarrollo del microorganismo. En la segunda fase del OUR, la cual es exponencialmente lenta debido a las limitaciones de los nutrientes, es necesario que la dinámica también sea lenta para contrarrestar el efecto del consumo sin que la señal de COD sufra cambios bruscos.

Por otra parte, el controlador PI del flujo entrante de aire mantiene la señal de control ω por debajo de la saturación haciendo que este opera en toda su región lineal y controle rápidamente los cambios en la señal de error, la cual tiende a cero. Sin embargo, a las 111.4 horas de actividad se alcanza una condición de saturación, ya que se consigue el máximo valor de OUR para regular, y si se bajara el suministro de aire al biorreactor la concentración de oxígeno disuelto disminuye a una tasa equivalente al consumo de oxígeno haciendo imposible lograr la biomasa óptima establecida en [4].

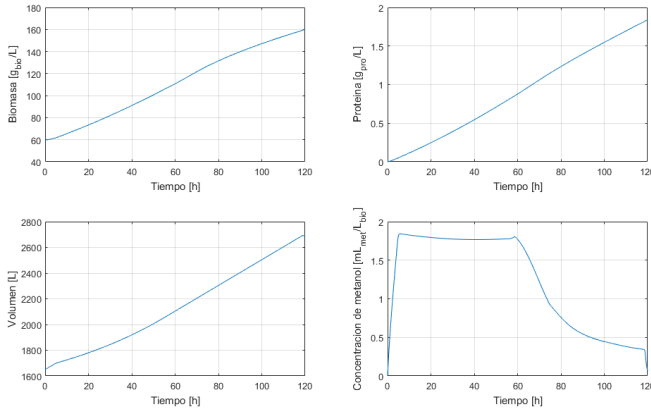


Figura 8. Respuesta del crecimiento de biomasa y proteína.

En la Fig. 8 se observa el comportamiento de la biomasa y de la proteína cuyo valor máximo es de 159 g_{bio}/l y 1.83 g_{pro}/l correspondientemente, lo cual es óptimo según lo investigado en [4] haciendo que el controlador de rango medio cumpliera su propósito de regular el COD. Cabe resaltar que el volumen máximo alcanzado fue 2,692 L, lo cual hace que no halla derrames o contaminación en el biorreactor.

B. Control Predictivo basado en Modelos no lineales

El control predictivo basado en modelos no lineal es una técnica de control avanzado para procesos industriales que ha tenido una gran acogida en la última década, la principal ventaja es su capacidad de manejar procesos multivariables y la posibilidad de considerar las limitaciones de los actuadores y demás variables del proceso [11], como es el caso de este trabajo.

El controlador utiliza el modelo matemático no lineal para determinar el valor de la señal de control prediciendo las salidas futuras, mediante las salidas pasadas y el estado actual del sistema durante un horizonte de predicción (N_p). Este cálculo se realiza sobre marcha resolviendo un problema de optimización que encuentra una estrategia de control con el mínimo costo posible y que cumpla con todas las restricciones establecidas por el sistema, para lo cual sólo se implementa el primer paso de la estrategia. Luego el estado del sistema es muestreado nuevamente y todos los cálculos se repiten con base al nuevo estado actual, dando lugar a una nueva estrategia control y nuevas predicciones [12].

Para el adecuado desarrollo del NMPC es necesario el uso de un modelo explícito del proceso, por tanto, se emplea la técnica de linealización sucesiva, la cual consiste en re-linealizar el modelo no lineal en cada instante de muestreo (ΔT) para proporcionar un modelo lineal que considere las condiciones presentes en el proceso, siendo posible conservar la ventaja en

cuanto al esfuerzo computacional con un MPC convencional [13]. El esquema de control se muestra en la Fig. 9.

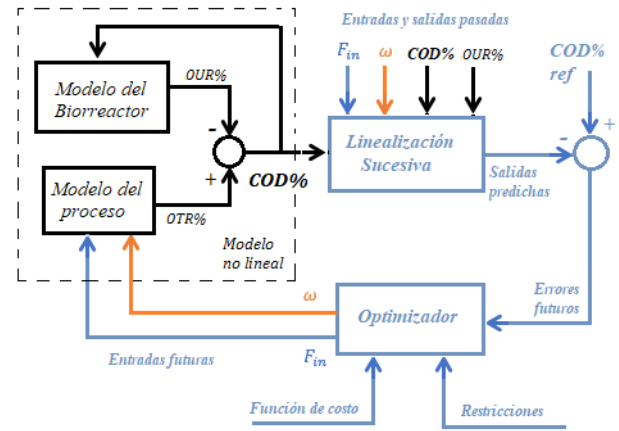


Figura 9. Esquema de control del NMPC.

Para establecer el modelo de predicción es necesario que el sistema lineal propuesto este en espacio de estados discreto, sin embargo, las matrices \mathcal{A} y \mathcal{B} dependen del parámetro constante F_{in} como se enuncia en la ecuación 17.

$$\begin{aligned} \dot{COD}_{\%}(t) &= \mathcal{A}(F_{in}) COD_{\%}(t) + \mathcal{B}(F_{in}) \omega(t) + \mathcal{B}_d OUR_{\%}(t) \\ y_k &= \mathcal{C} COD_{\%}(t) \end{aligned} \quad (17)$$

Donde:

$$\begin{aligned} \mathcal{A} &= -[a(F_{in}) * \bar{\omega} + b] \\ \mathcal{B} &= a(F_{in}) * (100\% - \overline{COD}_{\%}) \quad \mathcal{B}_d = -1 \quad \mathcal{C} = 1 \end{aligned}$$

Por lo cual, se añade una pseudo entrada $\mathcal{F}_{in}(t)$ que está conectada a la variable de control F_{in} logrando que las matrices \mathcal{A} y \mathcal{B} puedan tomar los valores de a y b de acuerdo con la información dada por esta nueva entrada [14] [15]. Para discretizar el espacio de estados se utiliza el método de Tustin que preserva la estabilidad y la posición de cada uno de los puntos correspondientes a la respuesta en frecuencia [16], obteniendo el sistema discreto de la ecuación 18.

$$\begin{aligned} COD_{\%k+1} &= \mathcal{A} COD_{\%k} + \mathcal{B} \begin{bmatrix} \omega_k \\ \mathcal{F}_{in,k} \end{bmatrix} + \mathcal{B}_d OUR_{\%k} \\ y_k &= \mathcal{C} COD_{\%k} \end{aligned} \quad (18)$$

Para mantener la señal de salida tan cerca como sea posible de la señal de referencia ($\overline{COD}_{\%k}$), se agrega un nuevo estado que utiliza la notación incremental del esfuerzo de control (Δu_k) de la ecuación 19 para cada una de las interacciones, con el fin de obtener el sistema aumentado de la ecuación 20.

$$u_k = \begin{bmatrix} \omega_k \\ \mathcal{F}_{in,k} \end{bmatrix} \quad \Delta u_k = u_k - u_{k-1} \quad (19)$$

$$\begin{bmatrix} COD_{\%k+1} \\ \omega_k \\ \mathcal{F}_{in,k} \end{bmatrix}_{x+1} = \begin{bmatrix} \mathcal{A} & \mathcal{B} & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}_A \begin{bmatrix} COD_{\%k} \\ \omega_{k-1} \\ \mathcal{F}_{in,k-1} \end{bmatrix}_x + \begin{bmatrix} \mathcal{B} & 0 \\ 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix}_B \begin{bmatrix} \Delta \omega_k \\ \Delta \mathcal{F}_{in,k} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \mathcal{B}_d \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}_{B_1} OUR_{\%k}$$

$$y_k = \begin{bmatrix} C & 0 & 0 \\ c \end{bmatrix} \begin{bmatrix} COD_{\%k} \\ \omega_{k-1} \\ \mathcal{F}_{in_{k-1}} \end{bmatrix} \quad (20)$$

Por tanto, la ley de control del NMPC está representada por la función de costo que minimiza el error cuadrático medio de la trayectoria de seguimiento y del esfuerzo de control, que está sujeta a las restricciones sobre los límites de las variables manipuladas del proceso como se expresa en la ecuación 21. Siendo Q el peso de ponderación del error de seguimiento, al que se le asigna un valor de 1000 para darle prioridad al seguimiento de la referencia, mientras que R penaliza los cambios que se produzcan en las entradas siendo una matriz diagonal de dimensiones 2×2 con un valor de 1, haciendo que las entradas puedan variar su valor rápidamente alcanzado antes la referencia, por lo cual son los parámetros de sintonización de la ley de control.

$$\begin{aligned} \min_{\Delta u_k} \quad & \sum_{i=0}^{N_p-1} Q \|y_{k+i} - \overline{COD}_{\%k+i}\|_2^2 + R \|\Delta u_{k+i}\|_2^2 \\ \text{s. t.} \quad & x_{k+1} = \mathbf{A} x_k + \mathbf{B} \Delta u_k + \mathbf{B}_1 OUR_{\%k} \\ & \Delta u_k = u_k - u_{k-1} \\ & 200 \leq \omega_k \leq 950 \\ & 0.2 \leq \mathcal{F}_{in_k} \leq 2 \end{aligned} \quad (21)$$

Para modificar la función de costo y las restricciones de manera que sean función únicamente del esfuerzo de control, se utiliza la expresión de las salidas futuras de la ecuación 22 la cual se sustituye en la función de costo establecida en la ecuación 2.10, obteniendo un nuevo problema de optimización cuadrático que depende únicamente de las entradas a calcular como se evidencia en la ecuación 23.

$$y_k = S_y x_{o_k} + M_y \Delta u_k + M_b OUR_{\%k} \quad (22)$$

Donde:

$$S_y = \begin{bmatrix} C A \\ C A^2 \\ \vdots \\ C A^{N_p-1} \end{bmatrix} \quad M_b = \begin{bmatrix} C B_1 \\ C A B_1 \\ \vdots \\ C A^{N_p-1} B_1 \end{bmatrix}$$

$$M_y = \begin{bmatrix} C B & 0 & \dots & 0 \\ C A B & C B & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ C A^{N_p-1} B & C A^{N_p-2} B & \dots & C B \end{bmatrix}$$

$$\begin{aligned} \min_{\Delta u_k} \quad & \Delta u_k^T (\mathcal{R} + M_y^T Q M_y) \Delta u_k + 2(S_y x_{o_k} + M_b OUR_{\%k} - \overline{COD}_{\%k})^T Q M_y \Delta u_k \\ \text{s. t.} \quad & M_u \Delta u_k \leq U_{lim} \end{aligned}$$

Donde:

$$M_u = \begin{bmatrix} 1 & \dots & 0 \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & 1 \\ -1 & \dots & 0 \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & -1 \end{bmatrix} \quad U_{lim} = \begin{bmatrix} u_{max} \\ u_{max} - u_o \\ \vdots \\ u_{max} - u_{N_p-2} \\ -u_{min} \\ -u_{min} + u_o \\ \vdots \\ -u_{min} + u_{N_p-2} \end{bmatrix} \quad (23)$$

Donde Q y \mathcal{R} son matrices semidefinidas positivas que penalizan las desviaciones de la señal de salida a la referencia y

de las variaciones de las entradas, respectivamente, como se muestra en la ecuación 24.

$$Q = \begin{bmatrix} Q & \dots & 0 \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & Q \end{bmatrix}_{nN_p \times nN_p} \quad R = \begin{bmatrix} R & \dots & 0 \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & R \end{bmatrix}_{rN_p \times rN_p} \quad (24)$$

El tiempo de muestreo para sistemas con dinámicas lentas conviene elegir intervalos de control con tiempos elevados, ya que se reduce considerablemente el costo computacional, adicional a esto, los tiempos de muestreo pequeños no mejorarían el seguimiento de la referencia ni la calidad de la respuesta del sistema. Por tanto, se escoge en base al tiempo de establecimiento del sistema, de manera que el tiempo de muestreo sea equivalente a 20 intervalos de control y más rápido que el establecido en el control de metanol [5], por lo que se ha asignado un ΔT de 0.2 minutos (0.0033 h). El horizonte de predicción es el intervalo de tiempo futuro dentro del cual se consideran las desviaciones futuras de la salida respecto a la referencia, cuanto mayor sea el N_p más se adelantará el sistema a cambios futuros en la referencia. Por ende, se elige acorde con el tiempo de establecimiento a 20 veces el tiempo muestreo dando un valor de 4. La elección de los parámetros de sintonización se ha llevado a cabo de acuerdo con las recomendaciones en [17].

El resultado se presenta en la Fig. 10 donde se observa el comportamiento de la concentración de oxígeno disuelto que tiene un máximo sobre pico porcentual de 15.3 % y un tiempo de establecimiento máximo de 25 minutos, como se analizó en la estrategia de control anterior no es posible lograr un T_s de 5 minutos, ya que la dinámica del sistema es demasiado lenta para omitir la perturbación del consumo en este lapso de tiempo. Acorde con lo anterior, en las primeras diez horas el controlador no es capaz de alcanzar el punto máximo del COD de referencia, dado que se requiere un F_{in} elevado lo que genera un aumento en el consumo de energía, para lo que no se obtiene un valor óptimo de las entradas. Otro punto crucial es cuando se satura el sistema en las noventa horas donde se pierde por completo el seguimiento de la referencia, haciendo que la biomasa y proteína bajen considerablemente como se muestra en la Fig. 11.

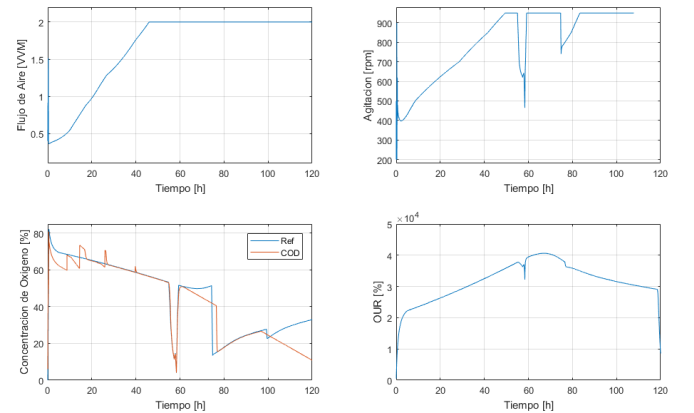


Figura 10. Respuesta del controlador NMPC.

Por otro lado, se analiza que el controlador NMPC es correcto para procesos con dinámicas lentas, ya que este tipo de controladores permiten reducir los tiempos muertos entre la

actuación y la respuesta del sistema, tomando la decisión en función de la evaluación previa del sistema.

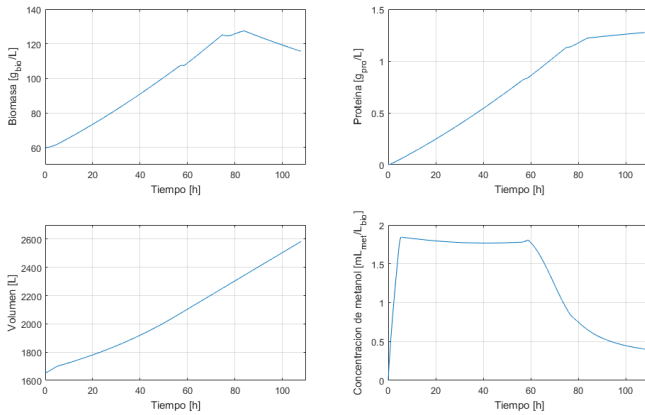


Figura 11. Respuesta del crecimiento de biomasa y proteína.

IV. VALIDACIÓN EN EL SISTEMA REAL

Para validar el funcionamiento del controlador de rango medio diseñado e implementado en el programa de LabView®, se decidió realizar dos pruebas en el biorreactor del IEIM: Una en agua destilada para comprobar el adecuado funcionamiento de los actuadores ante la ley de control y que fuera capaz de superar perturbaciones (realizadas experimentalmente dado que no hay consumo), y la otra en el cultivo (con los microorganismos) para tener un resultado concreto del funcionamiento de dicho controlador y analizar adecuadamente los índices de desempeño.

La prueba en agua destilada tuvo una duración de 34 minutos, para la cual se colocó un setpoint de 86 % con el fin de comprobar si el controlador es capaz de alcanzarlo y estabilizarse en este valor ante la perturbación de consumo, sin ocasionar un esfuerzo en la válvula de entrada de aire y en el motor de la velocidad de agitación, ya que una de las limitantes del control Gain Scheduling de [3] era que su punto máximo de operación correspondía al 50 %. La perturbación de consumo fue estimada a partir de la biomasa con un valor fijo de $1.8 \text{ mL}_{\text{met}}/\text{L}_{\text{bio}}$ para la concentración de metanol, dado que este valor no cambia en este lapso de tiempo en una operación real.

En la Fig. 12 se observa el comportamiento de la concentración de oxígeno disuelto con sus respectivas señales de control donde la velocidad de agitación trata de mantenerse en su valor nominal de 450 rpm, identificando que esta variable no llega a saturarse gracias al controlador PI del flujo entrante de aire que cambia acorde al error de la velocidad de agitación como se muestra en la Fig. 13.

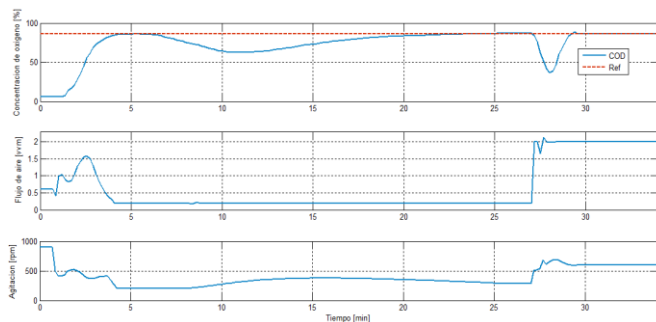


Figura 12. Respuesta del sistema en agua destilada.

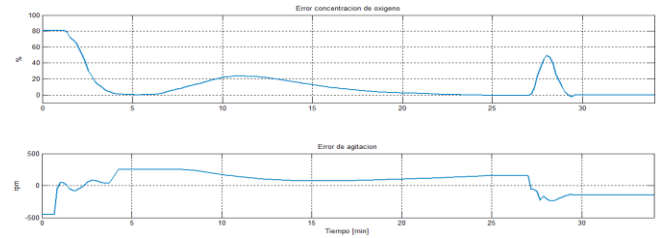


Figura 13. Errores del controlador en agua destilada.

Comprobado el funcionamiento de los actuadores a partir de las variables de control, se analiza la estabilidad del sistema donde el controlador responde rápidamente y vuelve al valor de setpoint ante la perturbación de consumo. Por tanto, el rango de operación de la concentración de oxígeno disuelto aumenta aproximadamente un 40 %, haciendo que el controlador de rango medio diseñado sea efectivo.

La segunda prueba correspondiente al cultivo que tuvo una duración de 6 horas cuyo setpoint es la referencia óptima proveniente del controlador MPC diseñado en [5], sin embargo, esta señal se realizó de forma manual dado que se presentó inconvenientes en la ejecución de este controlador. El resultado del controlador de rango medio se muestra en la Fig. 14 donde se logra un seguimiento de la referencia con un error en estado estable aproximadamente nulo.

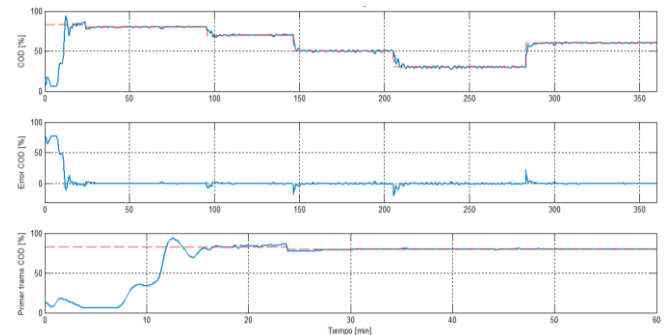


Figura 14. Respuesta de la concentración de oxígeno disuelto en el cultivo.

TABLA V
ÍNDICES DE DESEMPEÑO DEL CONTROLADO EN EL CULTIVO

Ts (min)	OV (%)	T. retardo (min)	Error RMS
13	12	0.25	2.02

En la primera hora de cultivo se muestra que el seguimiento no es exacto y alcanza un error significativo, ya que una cantidad elevada de oxígeno en la etapa inicial motiva al microorganismo a consumir una mayor parte, haciendo que el controlador no puede contrarrestar este efecto como se contempló en la simulación del capítulo dos, sin embargo, se demostró que una vez pase este efecto el controlador sigue la referencia con una estabilidad aceptable sin afectar la producción de biomasa y proteína. Los índices de desempeño se muestran en la Tabla 5 los cuales son menores a lo estipulado en la simulación, logrando que el controlador diseñado cumpliera con la mayoría de las restricciones. Una de las posibles razones de esto, se debe a la aproximación del consumo (OUR) realizada en simulación, ya que no se tuvieron en cuenta ciertos factores externos que intervienen en esta variable. Hay que mencionar que el tiempo de establecimiento

no llegó a ser menor a los cinco minutos por lo que se explicó en el capítulo dos, pero si disminuyó considerablemente concluyendo que el controlador fue efectivo en el cultivo.

Por otra parte, el flujo entrante de aire sube rápidamente a valores cercanos al punto de saturación (2 vvm) como se contempló en la simulación, consiguiendo que el controlador primario de velocidad de agitación no se sature y opere cerca de su valor nominal como se muestra en la Fig. 15, ya que el proceso de transferencia de oxígeno es más sensible a los cambios en la velocidad de agitación.

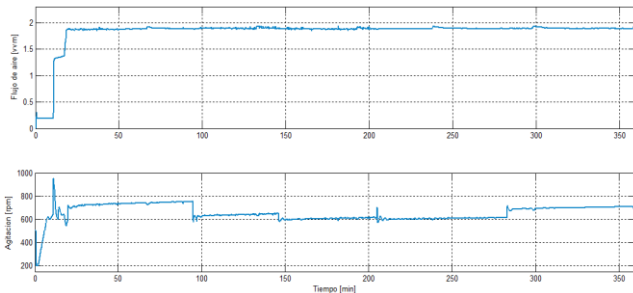


Figura 15. Variables de control en el cultivo.

V. CONCLUSIONES

El objetivo de este trabajo fue desarrollar una estrategia de control para la concentración de oxígeno disuelto en un biorreactor que fuera capaz de manipular dos variables de control, flujo entrante de aire y velocidad de agitación, con el fin de que el sistema siguiera una señal de referencia con la mejor estabilidad posible, mejorando así el controlador Gain Scheduling diseñado en [3].

Por lo cual, se implementó una nueva sonda de oxígeno SE 740 de knick que da una respuesta más rápida (aproximadamente de 20 segundos) y certera, logrando que la señal medida de la concentración de oxígeno disuelto ingresada en la estrategia de control en tiempo real sea más estable que con la sonda anterior. Para escoger dicha estrategia de control se halló el modelo determinístico del proceso de transferencia de oxígeno a partir de los datos experimentales generados en el biorreactor del IEIM con la nueva sonda, donde se obtuvo un modelo con un índice FIT superior al 90 % aproximándose al sistema real.

Tras analizar el proceso de transferencia de oxígeno y tener en cuenta que el sistema a controlar es MISO (múltiples entradas única salida), y que requiere de un proceso de linealización alrededor de diferentes puntos de operación para tener un modelo lineal se consideró relevante la utilización de un control avanzado, ya que permite tener una menor variabilidad y mantener las variables de control en las regiones de operación establecidas por las limitaciones físicas del biorreactor. Razón por la cual, se eligió el controlador de rango medio con una modificación de dependencia y el controlador NMPC. A partir de los resultados en simulación de los dos controladores se puede concluir que el diseño planteado tiene varios aspectos sobresalientes, en el caso del control de rango medio se obtuvo un sobre pico porcentual de 14.81 %, un error rms de 2.35 y un tiempo de establecimiento de 20 minutos, el cual no cumplió con lo deseado de 5 minutos pero se consideró aceptable, dado que no fue posible conseguir un mejor tiempo de establecimiento que mantuviera la estabilidad y omitiera la

perturbación de consumo. Igualmente, se demostró que al seguir la señal de referencia que optimiza la producción de proteína de [4] con estos índices de desempeño se logra maximizar este parámetro que es el objetivo final del proyecto de investigación de instituto y del CEPIT. Para el otro caso de estudio correspondiente al controlador NMPC se obtuvo respuestas muy similares, sin embargo, presentó inconvenientes con los cambios en la señal de referencia producidos a las 60 horas de producción, haciendo que la biomasa y proteína bajen considerablemente de su punto máximo. Al analizar estos resultados se concluyó que la mejor estrategia es el controlador de rango medio, ya que satisface la mayor cantidad de requerimientos establecidos en los objetivos de este trabajo. Al implementar dicha estrategia en LabView® se hizo de manera sencilla y funcional dándole una ventaja adicional.

Para validar el comportamiento de este controlador se realizó dos pruebas una en agua destilada para verificar el adecuado funcionamiento de los actuadores ante la ley de control, la cual fue satisfactoria identificando que el esquema de control implementado mantiene la estabilidad del sistema ante la perturbación de consumo (estimada). La segunda prueba fue con el microorganismo *Pichia pastoris* en cultivo donde se logró el adecuado seguimiento de la señal de referencia con el mínimo error en estado estable, asimismo, se obtuvo un sobre pico porcentual de 12 %, un error rms de 2.02 y un tiempo de establecimiento de 13 minutos, los cuales son menores a lo estipulado en la simulación. A partir de lo mencionado anteriormente, se puede concluir que el controlador de rango medio diseñado está en la capacidad de manejar por completo los rangos de operación de las variables de control, así como de regular la concentración de oxígeno disuelto desde el 10 % hasta el 86 % mejorando el controlador Gain Scheduling.

Por último, se proponen trabajos futuros como la implementación de sensores virtuales para la biomasa y el consumo (OUR) que darían una mejor aproximación en el modelo determinístico, otro sería mejorar el optimizador del control NMPC para poder implementarlo en el biorreactor y validar realmente cuál de los dos controladores es mejor en un cultivo.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] D. S. J. L. G. L. T. H. O. Johnsson, «A mid-ranging control strategy for non-stationary processes and its application to dissolved oxygen control in a bioprocess,» *ELSEVIER, Control Engineering Practice*, 2015.
- [2] M. Jamilis, «Modelización, monitoreo y control en procesos para producción de bioplásticos,» *UNiversidad Nacional de la Plata, La Plata, Argentina*, 2016.
- [3] h. a. Fredy saánchez, «Sistema de control multivariado para la concentración de oxígeno disuelto en un biorreactor,» *Pontificia Universidad Javeriana, Bogota, Colombia*, 2014.
- [4] D. Martínez, «OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES EN PICHIA PASTORIS BASADA EN UN MODELO IN SILICO.,» *Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia*, 2014.
- [5] M. Díaz, «Controlador MPC en línea para la regulación de metanol y oxígeno disuelto en un biorreactor,» *Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia*, 2016.
- [6] C. A. & C. A. B. Smith, *Principles and Practice of Automatic Process*, New York: Wiley.: 2nd Edition, 1997.

- [7] H. P. D. P. R. D. a. X. B. A. M. Lopez, «Parameters identification and,» *IEEE Trans. Plasma Sci*, vol. 41, n° 8, p. 2335–2342, 2013.
- [8] S. A. B. B. H. & y .. H. H. Ertunc, «Self-tuning control of dissolved oxygen concentration in a batch bioreactor,» *Food and Bioproducts Processing*, 2009.
- [9] Universidad de los andes , «uniandes,» 2015. [En línea]. Available: <http://www.prof.uniandes.edu.co/~gprieto/classes/compufis/interpolacion.pdf>. [Último acceso: 3 Mayo 2018].
- [10] J. L. C. R. Raymundo Erazo E., «DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DEL COEFICIENTE DE TRANSFERENCIA DE OXÍGENO EN UN BIORREACTOR BATCH,» *Springer. Bioprocess Biosyst Eng.*, vol. 4, n° 2, pp. 22-27 , 2001.
- [11] R. M. D. N. C. d. P. D. Tejerina, «PROGRAMACIÓN DE CONTROLADOR PREDICTIVO EN ECOSIMPRO® E IMPLEMENTACIÓN EN PLANTA DE DISTRIBUCIÓN DE OXÍGENO,» *Universidad Técnica Federico Santa María, Santiago, Chile*, 2015.
- [12] C. A. G. GUTIÉRREZ, «DISEÑO Y SIMULACIÓN DE CONTROL PREDICTIVO PARA SUSPENSIÓN MACPHERSON ACTIVA,» *Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá*, 2014.
- [13] I. Guerra, «MULTIVARIABLE PREDICTIVE CONTROL WITH INSTANTANEOUS LINEARIZATION AND INPUT TARGETS,» *Revista Colombiana de Tecnologías de Avanzada*, vol. 2, n° 20, pp. 72-79, 2012.
- [14] J. Lofberg, «Minimax approaches to robust model predictive control,» *Linköping University*, 2003.
- [15] R. R. Lara, «Sistemas digitales de control en tiempo discreto,» *Bogotá*, 2007.
- [16] S. R. Serrano, «Control predictivo basado en modelos para un robot móvil,» *Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España*, 2016.
- [17] G. A. B. Rodríguez, «Modelo para la corrección del error asociado a las mediciones de oxígeno disuelto con sensores ópticos durante la determinación del KLa en agua limpia,» *Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá*, 2015.