

# Nonlinear Control of a Bioreactor under Kinetic Parameter Uncertainties

S. Rómoli <sup>#1</sup>, M.E. Serrano <sup>#2</sup>, M.C. Fernández <sup>#3</sup>, O.A. Ortiz <sup>#4</sup>, G.J.E. Scaglia <sup>#5</sup>

<sup>#</sup>*Instituto de Ingeniería Química, Universidad Nacional de San Juan (UNSJ), CONICET*

*Av. Lib. San Martín Oeste 1109, San Juan J5400ARL, Argentina*

<sup>1</sup> sromoli@unsj.edu.ar

<sup>2</sup> eserrano@fi.unsj.edu.ar

<sup>3</sup> mcfernandez@unsj.edu.ar

<sup>4</sup> rortiz@unsj.edu.ar

<sup>5</sup> gscaglia@unsj.edu.ar

**Abstract**— The purpose of this paper is to extend and deepen the control methodology proposed in Rómoli *et al.* (2014) [1] based in Numerical methods and Linear algebra. It will be analysed a fed-batch bioreactor considering some of the most common types of uncertainties in these systems: (i) time-varying parameters; (ii) uncertain nonlinearities, such as possible changes in the specific growth rate model; and, (iii) non-modeled dynamics in order to simplify the model, e.g. stochastic variables supposed as deterministic variables. The design procedure proposed here is much easier than other approaches to the same problem of the literature, and its implementation in real plants is straightforward. With the intention of reducing its effect in the bioreactor, a control action that incorporates an estimate of these uncertainties based on the Newton's backward interpolation is proposed. It is proved that this control approach can guarantee that the control action is bounded and the tracking error converges to zero. The effectiveness of the proposed approach is illustrated on the basis of the simulated experiments on the aforementioned bioreactor.

**Resumen**— El propósito de este trabajo es ampliar y profundizar la metodología de control propuesta en Rómoli *et al.* (2014) [1] basada en Métodos numéricos y Álgebra lineal. Se analizará un biorreactor operado de forma fed-batch con algunos tipos de incertidumbre más comunes en esta índole de sistemas: (i) parámetros cinéticos variables con el tiempo; (ii) no linealidades inciertas, como posibles cambios en el modelo de la velocidad específica de crecimiento; y, (iii) dinámicas no modeladas para simplificar el modelo, por ejemplo, variables estocásticas que son asumidas como determinísticas. El procedimiento de diseño que se propone en este trabajo es más sencillo que otros enfoques para problemas análogos de la literatura, y su aplicación en una planta real es directa. Con la intención de reducir su efecto en el biorreactor, se propone una acción de control que incorpora una estimación de estas incertidumbres basado en el método de la Interpolación polinómica de Newton. Está comprobado que el enfoque de control propuesto puede garantizar que la acción de control sea acotada y que el error de seguimiento converja a cero. La eficacia del enfoque propuesto se ilustra a través de algunos experimentos de simulación en el bioreactor mencionado.

## I. INTRODUCCIÓN

En la última década, una serie de estrategias de control aplicadas a muchos bioprocesos han sido extensamente investigadas, por ejemplo [2-5]. En el caso particular de los bioreactores alimentados por lote (o fed-batch), nuevas estrategias no lineales fueron desarrolladas para mejorar la eficiencia del proceso y la reproducibilidad entre

operaciones [6], así como también para lidiar con las incertidumbres presentes en los bioprocesos [7].

Recientemente, un gran número de trabajos de investigación han sido publicados con el objetivo de resolver el problema de las incertidumbres en el control de bioprocesos. Se ha hecho especial hincapié en este tema porque muchas estrategias de control no lineales utilizan el modelo del bioproceso [8]. Según la literatura [9-17], existen tres factores principales que incorporan incertidumbre al bioproceso. En primer lugar, algunos parámetros pueden ser variables con el tiempo, especialmente la velocidad máxima específica de crecimiento,  $\mu_{max}$  ( $h^{-1}$ ), el coeficiente de rendimiento de células a sustrato,  $Y_{SX}$  ( $gg^{-1}$ ) y el coeficiente de rendimiento de producto a sustrato,  $Y_{SP}$  ( $gg^{-1}$ ). Esto significa que no tienen un valor fijo como se supone en el modelo. En segundo lugar, pueden aparecer no linealidades inciertas. Por ejemplo, uno puede modelar la velocidad específica de crecimiento de levaduras,  $\mu$  ( $h^{-1}$ ), siguiendo un modelo del tipo Monod-Haldane [18], y durante el tiempo de operación puede aparecer una inhibición por etanol en el crecimiento de las levaduras, modificando así su velocidad específica de crecimiento. Finalmente, existen dinámicas no modeladas: durante la tarea de modelado, existen algunas dinámicas que no son tenidas en cuenta para simplificar el modelo. Por ejemplo, parámetros como  $\mu$  son en realidad variables estocásticas que se han asumido como determinísticas [19, 20].

Las incertidumbres pueden causar riesgos severos. Por ejemplo, el efecto de perturbaciones externas o pequeños cambios en el modelo del bioproceso pueden llevar hacia condiciones de operación no deseables [11, 21, 22]. Por ejemplo, el efecto inhibitorio de un sustrato puede devenir en una inestabilidad en el comportamiento dinámico del proceso cuando este efecto es modelado inadecuadamente o cuando es ignorado [11].

Los controladores clásicos, como los PID, son también utilizados en bioprocesos [6]. Este tipo de controladores tienen varias desventajas a la hora de controlar bioprocesos: baja capacidad de rechazar perturbaciones, incapacidad de lidiar con las no linealidades inherentes al bioproceso y con las incertidumbres propias de estos procesos, comparados con estrategias no lineales de control [23]. Además, un PID no es adecuado para seguir perfiles variables con el tiempo, como fue observado en los albores de la biotecnología [24].

El control adaptivo ha sido la técnica más importante para controlar bioreactores debido a su habilidad para compensar las incertidumbres paramétricas [25]. Distintas técnicas basadas en control adaptivo se han aplicado al control de bioreactores considerando incertidumbres [7, 20, 25-27]. Además, se han propuesto técnicas alternativas al control adaptivo en la literatura para afrontar las incertidumbres en bioreactores. Metodologías basadas en control fuzzy [16, 28], control óptimo [29, 30], control híbrido [31], control predictivo basado en modelo [32] y control estocástico [33-35], han demostrado buenos resultados frente a las incertidumbres mencionadas.

Entre los diversos esquemas de control propuestos para el seguimiento de perfiles en bioreactores se encuentra el método basado en álgebra lineal [1, 36, 37]. Esta técnica encuentra una expresión para la acción de control aproximando el modelo del proceso de ecuaciones diferenciales a través del método de Euler y resolviendo el sistema de ecuaciones algebraicas obtenidas mediante mínimos cuadrados. La convergencia a cero está asegurada por un teorema que debe ser desarrollado para cada sistema en particular. Esta técnica muestra mejoras en el tiempo de respuesta, en las oscilaciones y en el rechazo de perturbaciones, y aporta mejoras en el rendimiento del estado transitorio de los procesos bioquímicos [1].

Esta última metodología fue aplicada en [1] a un bioreactor fed-batch para la producción de una proteína recombinante, un benchmark publicado en [38] (en el Apéndice se muestra una breve descripción del diseño del controlador propuesto en [1]). Los perfiles óptimos propuestos en [39] para la concentración de proteína secretada ( $P$ ), la concentración de proteína total ( $T$ ), la concentración de biomasa ( $X$ ), y la concentración de glucosa ( $S$ ), fueron tomados como los perfiles de referencia en [1],  $[P_{ref}, T_{ref}, X_{ref}, S_{ref}]^T$ , y seguirlos es el objetivo de control.

En la práctica, es imposible saber con exactitud la dependencia de los parámetros cinéticos con el tiempo. Además, un esquema determinístico de control, como [1], no puede afrontar con éxito dinámicas no modeladas u otros tipos de incertidumbre, frecuentes en bioprocesos. Por lo tanto, el presente trabajo apunta a diseñar un controlador para el seguimiento multivariable de perfiles óptimos en un bioreactor fed-batch, bajo incertidumbres en el modelo dinámico y en los parámetros del modelo. En este sentido, la presente publicación es una extensión de un trabajo anterior de los autores [1] considerando ahora un enfoque más realista.

El paper está organizado como sigue. La Sección 2 presenta el diseño del nuevo controlador y en la Sección 3 se muestra el buen desempeño del controlador frente a las incertidumbres antes mencionadas. Las conclusiones están resumidas en la última sección.

## II. DISEÑO DEL CONTROLADOR

### A. Diseño del controlador bajo incertidumbre

Esta sección tiene como objetivo diseñar un controlador capaz de compensar los errores de seguimiento que aparecen en el controlador de álgebra lineal debido a las incertidumbres. El efecto de una incertidumbre aditiva ( $\mathbf{E}_n$ ) puede ser modelada extendiendo la Ec. (A.4):

$$\mathbf{z}_{n+1} = \mathbf{z}_n + \mathbf{c}_n \Delta t - \mathbf{d}_n u_n \Delta t + \mathbf{E}_n, \quad (1)$$

Donde  $\mathbf{z}$  es el vector de estados,  $\mathbf{c}_n$  y  $\mathbf{d}_n$  los vectores de entrada del proceso,  $\Delta t$  es el tiempo de muestreo,  $u_n$  es la acción de control y  $\mathbf{E}_n$ , la incertidumbre aditiva. La incertidumbre aditiva puede usarse para modelar sistemas perturbados así como también para una amplia clase de errores de modelado.

Teniendo en cuenta que los errores pueden depender del estado y en las entradas del sistema, considerando una planta real como  $\mathbf{z}_{n+1} = f(\mathbf{z}_n, u_n)$ , la incertidumbre aditiva puede ser expresada como  $\mathbf{E}_n = f(\mathbf{z}_n, u_n) - \hat{f}(\mathbf{z}_n, u_n)$ , donde  $\hat{f}(\mathbf{z}_n, u_n)$  es el modelo discreto no lineal del sistema. Si  $\mathbf{z}$  y  $u$  se suponen acotados, y si  $f$  es Lipschitz, luego  $\mathbf{E}_n$  puede ser modelada como una incertidumbre acotada [40].

Añadiendo la incertidumbre aditiva, el modelo fed-batch de la Ec. (A.3) se transforma en

$$\begin{bmatrix} \frac{P_n}{V_n} \\ \frac{T_n}{V_n} \\ \frac{X_n}{V_n} \\ \frac{S_F - S_n}{V_n} \end{bmatrix} u_n = \begin{bmatrix} \chi(T_n - P_n) - \frac{P_{n+1} - P_n}{\Delta t} \\ \psi X_n - \frac{T_{n+1} - T_n}{\Delta t} \\ \mu X_n - \frac{X_{n+1} - X_n}{\Delta t} \\ -Y_{S/X} \mu X_n + \frac{S_{n+1} - S_n}{\Delta t} \end{bmatrix} + \frac{1}{\Delta t} \begin{bmatrix} E_{P,n} \\ E_{T,n} \\ E_{X,n} \\ E_{S,n} \end{bmatrix}, \quad (2)$$

En la Ec. (2),  $S_F$  es la concentración de glucosa en la alimentación,  $Y_{S/X}$  es el rendimiento de glucosa por biomasa;  $\psi$ ,  $\mu$ , y  $\chi$  son la velocidad de expresión de la proteína, la velocidad específica de crecimiento y la velocidad de secreción de proteína, respectivamente. En el presente trabajo se tomaron los mismos valores de los parámetros y las mismas condiciones iniciales de [1].

**Observación 1:** Por una cuestión de espacio no se presenta en su totalidad, pero si se aplica el Teorema 1 de [1] se llegaría a la Ec. (3). Esta ecuación muestra la existencia de un efecto directo de la incertidumbre en los errores de seguimiento. Por consiguiente, éstos últimos no tienden a cero con controlador propuesto en [1].

$$\mathbf{e}_{n+1} = \begin{bmatrix} e_{P,n+1} \\ e_{T,n+1} \\ e_{X,n+1} \\ e_{S,n+1} \end{bmatrix} = \underbrace{\begin{bmatrix} k_P & 0 & 0 & 0 \\ 0 & k_T & 0 & 0 \\ 0 & 0 & k_X & 0 \\ 0 & 0 & 0 & k_S \end{bmatrix}}_{\mathbf{K}} \begin{bmatrix} e_{P,n} \\ e_{T,n} \\ e_{X,n} \\ e_{S,n} \end{bmatrix} + \Delta t \underbrace{\begin{bmatrix} (T_n - P_n) \frac{d\chi}{dS} \Big|_{S=S_1} \\ X_n \frac{d\psi}{dS} \Big|_{S=S_2} \\ X_n \frac{d\mu}{dS} \Big|_{S=S_0} \\ 0 \end{bmatrix}}_{\mathbf{h}_n} \begin{bmatrix} E_{P,n} \\ E_{T,n} \\ E_{X,n} \\ E_{S,n} \end{bmatrix}, \quad (3)$$

donde  $\mathbf{h}_n$  es una no linealidad formada por variables de estado y por las derivadas en un punto medio de  $\chi$ ,  $\psi$  y  $\mu$  respecto de  $S$ ; este término tiende a cero cuando el error en el sustrato tiende a cero ( $e_{S,n}$ );  $\mathbf{K}$  es la matriz de los parámetros del controlador.

### B. Estimación de la incertidumbre

Con el fin de reducir el efecto de la incertidumbre, se propone un controlador novedoso, que es capaz de estimar la incertidumbre existente en el bioproceso.

**Observación 2:** el diferencial de primer orden de  $\mathbf{E}_n$  es  $\nabla \mathbf{E}_n = \mathbf{E}_{n+1} - \mathbf{E}_n$ , el diferencial de segundo orden,  $\nabla^2 \mathbf{E}_n = \nabla(\nabla \mathbf{E}_n) = \nabla(\mathbf{E}_{n+1} - \mathbf{E}_n) = \mathbf{E}_{n+2} - 2\mathbf{E}_{n+1} + \mathbf{E}_n$ , y a modo de regla, el diferencial de orden  $q$  se define como  $\nabla^q \mathbf{E}_n = \nabla(\nabla^{q-1} \mathbf{E}_n)$ .

**Observación 3:** el diferencial de orden  $q$  de un polinomio de orden  $q-1$  es igual a cero.

Como un aporte del presente trabajo, se propone estimar la incertidumbre  $\mathbf{E}_n$  utilizando  $\hat{\mathbf{E}}_n$ , definida en la Ec. (4), la

cual es calculada según Ec. (5), una ecuación basada en la Interpolación polinómica de Newton. Observe que esta ecuación es obtenida considerando el mismo orden de la incertidumbre  $\mathbf{E}_n$  (orden  $m$ ).

$$\hat{\mathbf{E}}_n = \begin{bmatrix} \hat{E}_{P,n} \\ \hat{E}_{T,n} \\ \hat{E}_{X,n} \\ \hat{E}_{S,n} \end{bmatrix}, \quad (4)$$

donde

$$\hat{E}_{\Lambda,n} = \sum_{j=0}^m \sum_{i=0}^j \binom{j}{i} (-1)^i \frac{E_{\Lambda,n-j-i-1}}{j!}, \quad (5)$$

y

$$E_{\Lambda,n} = \Lambda_n - \hat{\Lambda}_n, \quad (6)$$

En las Ecs. (5,6), la variable  $\Lambda$  representa a cada una de las variables de estado, es decir,  $P$ ,  $T$ ,  $X$  y  $S$ . Las variables estimadas son calculadas mediante la Ec. (7), y representan los valores estimados de las variables de estado:

$$\begin{bmatrix} \hat{P}_n \\ \hat{T}_n \\ \hat{X}_n \\ \hat{S}_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} P_{n-1} \\ T_{n-1} \\ X_{n-1} \\ S_{n-1} \end{bmatrix} + \Delta t \begin{bmatrix} \chi(T_{n-1} - P_{n-1}) \\ \psi X_{n-1} \\ \mu X_{n-1} \\ -Y_{S/X} \mu X_{n-1} \end{bmatrix} - \Delta t \begin{bmatrix} \frac{P_{n-1}}{V_{n-1}} \\ \frac{T_{n-1}}{V_{n-1}} \\ \frac{X_{n-1}}{V_{n-1}} \\ \frac{S_{n-1} - S_F}{V_{n-1}} \end{bmatrix} u_{n-1}, \quad (7)$$

donde  $P_{n-1}$ ,  $T_{n-1}$ ,  $X_{n-1}$  y  $S_{n-1}$  corresponden a los valores de las variables de estado en un tiempo de muestreo anterior, y  $u_{n-1}$  corresponde al valor de la acción de control calculada en el tiempo de muestreo anterior.

**Observación 4:** si  $\nabla^m \mathbf{E}_n = cte$  y  $\hat{\mathbf{E}}_n$  es calculada según las Ecs. (4,5), entonces  $\mathbf{E}_n = \hat{\mathbf{E}}_n$ .

Ahora que ha sido incorporada una estimación de las incertidumbres aditivas, se realiza el mismo procedimiento de diseño para el controlador basado en álgebra lineal presentado en [1], según el cual se calcula la acción de control en cada periodo de muestreo como

$$u_n = \frac{P_n V_n \left( \chi(T_n - P_n) - \frac{P_{ref,n+1} - k_P(P_{ref,n} - P_n) - P_n - \hat{E}_{P,n}}{\Delta t} \right)}{P_n^2 + T_n^2 + X_n^2 + S_n^2} + \dots \\ + \frac{T_n V_n \left( \psi X_n - \frac{T_{ref,n+1} - k_T(T_{ref,n} - T_n) - T_n - \hat{E}_{T,n}}{\Delta t} \right)}{P_n^2 + T_n^2 + X_n^2 + S_n^2} + \dots \\ + \frac{X_n V_n \left( \mu X_n - \frac{X_{ref,n+1} - k_X(X_{ref,n} - X_n) - X_n - \hat{E}_{X,n}}{\Delta t} \right)}{P_n^2 + T_n^2 + X_n^2 + S_n^2} + \dots \\ + \frac{V_n (S_F - S_n) \left( -Y_{S/X} \mu X_n + \frac{S_{ez,n+1} - k_S(S_{ez,n} - S_n) - S_n - \hat{E}_{S,n}}{\Delta t} \right)}{P_n^2 + T_n^2 + X_n^2 + S_n^2} \quad (8)$$

donde el subíndice "ez" en  $S$  se refiere a la variable sacrificada (ver Apéndice).

### C. Selección de los parámetros óptimos del controlador

En el Control de Procesos, los métodos probabilísticos han sido especialmente útiles para problemas relacionados con la robustez ante sistemas con incertidumbre [41]. Uno

de ellos, los Algoritmos Aleatorios de Monte Carlo, son ampliamente utilizados en muchas áreas [42-46]. En esta subsección, es aplicado un Método de Monte Carlo para seleccionar los parámetros óptimos del controlador.

La aplicación completa de este método se encuentra en [41]. En este paper es usada la Ec. (8) de [41] con un intervalo de confianza  $(1-\delta)$  de 0.99 y una exactitud de  $(\varepsilon)$  0.007. A partir de la mencionada ecuación, se calcula que es preciso hacer 1,000 simulaciones. El método se desarrolla como sigue: i) se eligen 1,000 valores aleatorios de los parámetros; ii) se define una función de costo que evalúa el desempeño del controlador; y iii) el set de parámetros que dan un costo mínimo es elegido como el óptimo.

Se elige como función de costo el error cuadrático medio (RMS) [47]

$$RMS = \sqrt{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^4 \frac{(\Lambda_{ref(j)} - \Lambda_{(j)})^2}{n}}, \quad (9)$$

donde,  $\Delta t$  fue tomado igual a 0.1  $h$ , como en [1], y  $n$  es el número de elementos del perfil de referencia.

Aunque el óptimo no está garantizado, el método de Monte Carlo provee una solución aproximada basada en un gran número de ensayos. El costo más bajo es obtenido en la simulación número 384, en la cual los valores de los parámetros fueron:  $k_P=0.743$ ;  $k_T=0.391$ ;  $k_X=0.022$ ;  $k_S=0.004$ .

### D. Convergencia asintótica a cero de los errores

La diferencia entre el perfil de referencia y el real se llama error de seguimiento, y viene dado por

$$\|e_n\|_2 = \sqrt{(P_{ref,n} - P_n)^2 + (T_{ref,n} - T_n)^2 + (X_{ref,n} - X_n)^2 + (S_{ez,n} - S_n)^2} \quad (10)$$

Ahora bien, si se aplica el Teorema 1 de [1] al bioreactor representado por el modelo de la Ec. (2), junto con la acción de control propuesta en la Ec. (8), y teniendo en cuenta la Observación 1, se llega a

$$e_{n+1} = \begin{bmatrix} e_{P,n+1} \\ e_{T,n+1} \\ e_{X,n+1} \\ e_{S,n+1} \end{bmatrix} = \mathbf{K} e_n + \Delta t \underbrace{\begin{bmatrix} (T_n - P_n) \frac{d\chi}{dS} \Big|_{S=S_z} \\ X_n \frac{d\psi}{dS} \Big|_{S=S_z} \\ X_n \frac{d\mu}{dS} \Big|_{S=S_g} \\ 0 \end{bmatrix}}_{\text{no linealidad acotada que tiende a cero}} e_{S,n}, \quad (11)$$

La Ec. (11) representa un sistema no lineal acotado que tiende a cero cuando  $0 < k_A < 1$  y  $n \rightarrow \infty$ , probando así que los errores de seguimiento tienden a cero.

## III. RESULTADOS Y SIMULACIONES

En esta Sección, la efectividad de la nueva ley de control es verificada a través de ejemplos simulados. Se implementaron 3 pruebas para analizar la eficacia del controlador bajo incertidumbre.

### A. Parámetros cinéticos variables con el tiempo

El algoritmo descrito en la Sección II.A es probado en el bioreactor fed-batch modelado según la Ec. (A.1), con parámetros variables con el tiempo. En este apartado se realiza una simulación de Monte Carlo para demostrar la efectividad del controlador aquí propuesto (de aquí en adelante, C1) desde un punto de vista estadístico [48-50]. Aquellos parámetros que podrían variar con el tiempo son

elegidos:  $\mu_{m\acute{a}x}$ ,  $S_F$  y  $Y_{S/X}$ . Con el objetivo de evaluar la respuesta de C1 frente a parámetros variables, estos parámetros son variados 1,000 veces en un rango  $\pm 25\%$  de su valor nominal.

La Fig. 1 muestra con claridad la mejor operación de C1 sobre el controlador propuesto en [1] (de aquí en adelante, C2), ya que el RMS de C1 es muy pequeño a pesar de que un  $\pm 25\%$  de incertidumbre es añadida. Luego, si se realizan 1,000 simulaciones con diferentes valores de  $\mu_{m\acute{a}x}$ ,  $S_F$  y  $Y_{S/X}$ , elegidos aleatoriamente, y el RMS es pequeño, existe un 99% de probabilidad de que el rendimiento de C1 será adecuado cualesquiera que sean los parámetros en un rango de  $\pm 25\%$ .

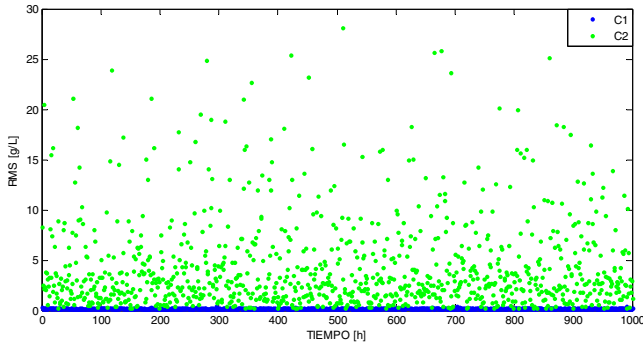


Fig. 1. Comparación de controladores en función de la Ec. (9).

### B. No linealidades inciertas

En los bioprocesos, una variable que suele presentar este tipo de incertidumbre es  $\mu$ , porque suele suceder que el mismo modelo no es aplicable a todos los lotes o bien, que cambia durante una operación. Existen una gran cantidad de modelos en la literatura de  $\mu$  [18]; [51] propusieron uno para el bioproceso en estudio, mostrado en la tercera expresión de la Ec. (A.2). Para demostrar el desempeño de C1, se ha incluido otro término en el modelo de  $\mu$ , como sugiere [26]:

$$\hat{\mu} = \frac{(21.87 + 0.28\sin(t))S}{(S + 0.4)(S + 62.5)}, \quad (12)$$

La Fig. 2 muestra la comparación entre C1 y C2 cuando se incluye una no linealidad incierta en  $\mu$ , a través del error de seguimiento. Como puede verse, C1 presenta los errores más bajos y los mismos están acotados, lo que significa que, a diferencia de C2, el funcionamiento de C1 no se vuelve inestable a pesar de la incertidumbre añadida.

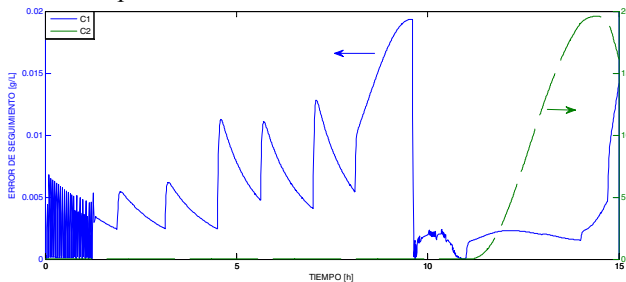


Fig. 2. Comparación de controladores en función de la Ec. (10).

### C. Dinámicas no modeladas

Como fue mencionado, la presencia de ruido blanco en  $\mu_{m\acute{a}x}$  da como resultado un modelo matemático gobernado por un set de ecuaciones diferenciales estocásticas. Con el fin de lidiar con este tipo de incertidumbre, llamada a veces dinámicas no modeladas [19], debería ser usado algún tipo

de control estocástico. De todas formas, esto implica una matemática compleja y un estudio profundo del sistema con el propósito de modelar adecuadamente los procesos estocásticos. Por otro lado, la estrategia propuesta en este trabajo puede encarar sin dificultades este problema. Para probarlo, se realiza una última prueba con el controlador propuesto.

Observe que todos los parámetros de las Ecs. (A.1, A.2) son realmente afectados por ruido ambiental; por consiguiente, siempre fluctúan alrededor de un valor promedio. En este paper, solamente es considerado el caso en el que hay ruido en  $\mu_{m\acute{a}x}$ , el cual es uno de los parámetros cinéticos cruciales del bioreactor. En este caso,  $\mu_{m\acute{a}x}$  se convierte en una variable estocástica, como sugiere [19]:

$$\mu_{m\acute{a}x} \rightarrow \mu_{m\acute{a}x} + \alpha dB(t), \quad (13)$$

donde  $dB(t)$  es ruido blanco (es decir,  $dB(t)$  es un movimiento Browniano estándar definido sobre un espacio probabilístico completo), y  $\alpha \geq 0$  representa la intensidad del ruido blanco.

Con el propósito de imitar el efecto del ruido blanco, se introduce en la señal de  $\mu_{m\acute{a}x}$  un ruido blanco de banda limitada (BLWN). Este bloque de Simulink® genera números aleatorios normalmente distribuidos. Teóricamente, el ruido blanco continuo tiene una correlación igual a cero con el tiempo y una energía total infinita. Con este bloque se puede simular el efecto del ruido blanco usando una secuencia aleatoria con una correlación de tiempo mucho más chica que la menor constante de tiempo del sistema. La correlación temporal del ruido es el tiempo de muestreo del bloque [52]. Éste puede ser estimado como

$$t_c \approx \frac{2\pi}{100} \frac{1}{f_{m\acute{a}x}} \quad (14)$$

donde  $t_c$  es correlación temporal, y  $f_{m\acute{a}x}$ , el ancho de banda del sistema. En este tipo de sistemas, este último es igual a:

$$f_{m\acute{a}x} = \frac{0.5}{\Delta t_{m\acute{a}x}} \quad (15)$$

donde  $\Delta t_{m\acute{a}x}$  es el máximo tiempo de muestreo para el cual el sistema es estable. Para el control de lazo cerrado presentado en este paper,  $\Delta t_{m\acute{a}x} = 0.0145$  h. luego, de las Ecs. (14, 15),

$$t_c = \frac{2\pi}{100} \frac{1}{\frac{0.5}{0.0145}} = 0.0018 \text{ h} \quad (15)$$

Muchos investigadores utilizan esta metodología para probar la robustez de los controladores utilizados en bioprocesos [12, 20, 29, 30, 53]. Un BLWN con un poder de ruido (un parámetro del bloque) de 0.9, media distinta de cero y una intensidad ( $\alpha$ ) de 0.4 es introducido en la señal realimentada. Luego, la  $\mu_{m\acute{a}x}$  afectada con BLWN, queda como

$$\tilde{\mu}_{m\acute{a}x} = \mu_{m\acute{a}x} + 0.4BLWN, \quad (16)$$

En la Fig. 3 se observa que C1 se desempeña bien incluso ante la presencia de dinámicas no modeladas, porque el error de seguimiento es muy pequeño a comparación de C2.

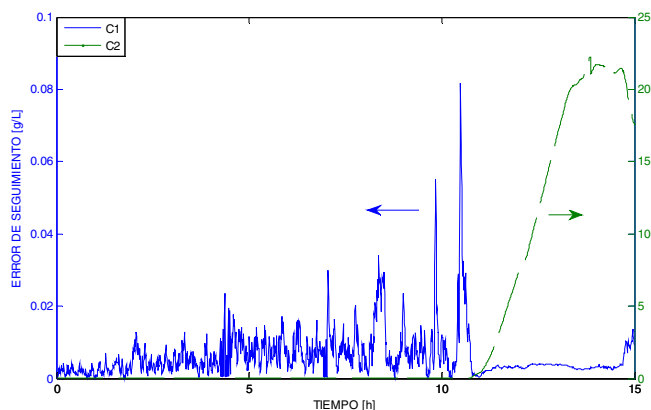


Fig. 3. Comparación de controladores con una dinámica no modelada en  $\mu_{\max}$  en función de la Ec. (10).

#### IV. CONCLUSIÓN

Se presentó una nueva ley de control para el seguimiento de perfiles de concentración en un bioreactor fed-batch. La metodología propuesta permite controlar un sistema no lineal en presencia de incertidumbres comunes en los bioprocesos: parámetros variables en el tiempo, no linealidades inciertas y dinámicas no modeladas.

Para lidiar con tales incertidumbres se ha añadido un término al modelo del bioreactor, que es aproximado mediante la interpolación polinómica de Newton. El controlador es sintonizado a través de un experimento de Monte Carlo. Para demostrar la efectividad de la metodología se llevaron a cabo varias pruebas mediante el añadido de distintos tipos de incertidumbre. El rendimiento de C1 es notable, mientras que la complejidad del algoritmo no es excesiva.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente financiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET) y por la Universidad Nacional de San Juan (UNSJ).

#### REFERENCIAS

- [1] S. Rómoli, G. J. E. Scaglia, M. E. Serrano, S. A. Godoy, O. A. Ortiz, and J. R. Vega, "Control of a Fed-Batch Fermenter Based on a Linear Algebra Strategy," *Latin America Transactions, IEEE (Revista IEEE America Latina)*, vol. 12, pp. 1206-1213, 2014.
- [2] N. Dimitrova and M. Krastanov, "Nonlinear adaptive control of a model of an uncertain fermentation process," *International Journal of Robust and Nonlinear Control*, vol. 20, pp. 1001-1009, 2010.
- [3] L. Beltrán, C. Castro, F. Garcés, and M. Moreno, "Monitoring and control system used in microalgae crop," *Latin America Transactions, IEEE (Revista IEEE America Latina)*, vol. 10, pp. 1993-1998, 2012.
- [4] M. Cárcamo, P. Saa, J. Torres, S. Torres, P. Mandujano, J. R. P. Correa, and E. Agosin, "Effective Dissolved Oxygen Control Strategy for High-Cell-Density Cultures," *Latin America Transactions, IEEE (Revista IEEE America Latina)*, vol. 12, pp. 389-394, 2014.
- [5] K. Veluvolu, Y. Soh, and W. Cao, "Robust discrete - time nonlinear sliding mode state estimation of uncertain nonlinear systems," *International Journal of Robust and Nonlinear Control*, vol. 17, pp. 803-828, 2007.
- [6] S. Gnoth, M. Jenzsch, R. Simutis, and A. Lübbert, "Control of cultivation processes for recombinant protein production: a review," *Bioprocess and Biosystems Engineering*, vol. 31, pp. 21-39, 2008.
- [7] S. Tokat, "Sliding mode controlled bioreactor using a time-varying sliding surface," *Transactions of the Institute of Measurement and Control*, August 6, 2009 2009.

- [8] P. D. Christofides and N. El-Farra, *Control of nonlinear and hybrid process systems: Designs for uncertainty, constraints and time-delays* vol. 324: Springer Science & Business Media, 2005.
- [9] S. C. Patwardhan, S. Narasimhan, P. Jagadeesan, B. Gopaluni, and S. L. Shah, "Nonlinear Bayesian state estimation: A review of recent developments," *Control Engineering Practice*, vol. 20, pp. 933-953, 2012.
- [10] H. Méndez-Acosta, D. U. Campos-Delgado, R. Femat, and V. González-Alvarez, "A robust feedforward/feedback control for an anaerobic digester," *Computers & Chemical Engineering*, vol. 29, pp. 1613-1623, 2005.
- [11] G. Lara-Cisneros, R. Femat, and E. Pérez, "On dynamical behaviour of two-dimensional biological reactors," *International Journal of Systems Science*, vol. 43, pp. 526-534, 2012.
- [12] C. Cimander and C.-F. Mandenius, "Bioprocess control from a multivariate process trajectory," *Bioprocess and Biosystems Engineering*, vol. 26, pp. 401-411, 2004.
- [13] A. Hocalar, M. Türker, C. Karakuzu, and U. Yüzgeç, "Comparison of different estimation techniques for biomass concentration in large scale yeast fermentation," *ISA Transactions*, vol. 50, pp. 303-314, 2011.
- [14] M. Türker, "Measurement of metabolic heat in a production-scale bioreactor by continuous and dynamic calorimetry," *Chemical Engineering Communications*, vol. 190, pp. 573-598, 2003/05/01 2003.
- [15] J. Alvarez-Ramirez, "Adaptive control of feedback linearizable systems: a modelling error compensation approach," *International Journal of Robust and Nonlinear Control*, vol. 9, pp. 361-377, 1999.
- [16] S. Tong, C. Liu, and Y. Li, "Fuzzy-adaptive decentralized output-feedback control for large-scale nonlinear systems with dynamical uncertainties," *Fuzzy Systems, IEEE Transactions on*, vol. 18, pp. 845-861, 2010.
- [17] Z. Chen and T. Zhang, "Dynamics of a stochastic model for continuous flow bioreactor with Contois growth rate," *Journal of Mathematical Chemistry*, vol. 51, pp. 1076-1091, 2013/03/01 2013.
- [18] T. Egli, "Growth Kinetics, Bacterial," in *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)*, M. Schaechter, Ed., ed Oxford: Academic Press, 2009, pp. 180-193.
- [19] Z. Chen and T. Zhang, "Long time behaviour of a stochastic model for continuous flow bioreactor," *Journal of Mathematical Chemistry*, vol. 51, pp. 451-464, 2013/02/01 2013.
- [20] A. E. Rodríguez, J. A. Torres Muñoz, R. Luna, J. R. Perez Correa, A. R. Dominguez Bocanegra, H. Sira Ramirez, and R. Castro, "Robust Control for cultivation of microorganisms in a high density fed-batch bioreactor," *Latin America Transactions, IEEE (Revista IEEE America Latina)*, vol. 13, pp. 1927-1933, 2015.
- [21] J. Hess and O. Bernard, "Design and study of a risk management criterion for an unstable anaerobic wastewater treatment process," *Journal of Process Control*, vol. 18, pp. 71-79, 2008.
- [22] H. L. Smith and P. Waltman, *The theory of the chemostat: dynamics of microbial competition* vol. 13: Cambridge university press, 1995.
- [23] M. A. Henson and D. E. Seborg, "Nonlinear control strategies for continuous fermenters," *Chemical Engineering Science*, vol. 47, pp. 821-835, 1992.
- [24] S. Aiba, "Review of process control and optimization in fermentation," in *Biotechnol Bioeng Symp Ser*, 1979, pp. 269-281.
- [25] A. Rincón, D. Piarpuzán, and F. Angulo, "A new adaptive controller for bio-reactors with unknown kinetics and biomass concentration: Guarantees for the boundedness and convergence properties," *Mathematics and Computers in Simulation*, vol. 112, pp. 1-13, 2015.
- [26] K. Keesman and V. Maksimov, "On feedback identification of unknown characteristics: a bioreactor case study," *International Journal of control*, vol. 81, pp. 134-145, 2008.
- [27] L. Mailleret, O. Bernard, and J.-P. Steyer, "Nonlinear adaptive control for bioreactors with unknown kinetics," *Automatica*, vol. 40, pp. 1379-1385, 2004.
- [28] C. Bartolomeo and G. Mose, "Type-2 fuzzy control of a bioreactor," in *Intelligent Computing and Intelligent Systems, 2009. ICIS 2009. IEEE International Conference on*, 2009, pp. 700-704.
- [29] G. Lara-Cisneros, R. Femat, and D. Dochain, "An extremum seeking approach via variable-structure control for fed-batch bioreactors with uncertain growth rate," *Journal of Process Control*, vol. 24, pp. 663-671, 2014.
- [30] M. Guay, D. Dochain, and M. Perrier, "Adaptive extremum seeking control of continuous stirred tank bioreactors with unknown growth kinetics," *Automatica*, vol. 40, pp. 881-888, 2004.

- [31] F. Mairet and J.-L. Gouze, "Hybrid Control of a Bioreactor with Quantized Measurements," *Automatic Control, IEEE Transactions on*, vol. PP, pp. 1-1, 2015.
- [32] F. Liping, Z. Jun, H. Xing, and H. Dong, "The design of the MISO Model Predictive Controller for Bioreactor," *TELKOMNIKA Indonesian Journal of Electrical Engineering*, vol. 10, pp. 1163-1170, 2012.
- [33] M. Elenchezhiyan and J. Prakash, "State estimation of stochastic non-linear hybrid dynamic system using an interacting multiple model algorithm," *ISA Transactions*, vol. 58, pp. 520-532, 2015.
- [34] G. Mannina, G. Di Bella, and G. Viviani, "Uncertainty assessment of a membrane bioreactor model using the GLUE methodology," *Biochemical Engineering Journal*, vol. 52, pp. 263-275, 2010.
- [35] J.-P. Vila and V. Wagner, "Predictive neuro-control of uncertain systems: design and use of a neuro-optimizer," *Automatica*, vol. 39, pp. 767-777, 2003.
- [36] G. Scaglia, P. M. Aballay, M. E. Serrano, O. A. Ortiz, M. Jordan, and M. D. Vallejo, "Linear algebra based controller design applied to a bench-scale oenological alcoholic fermentation," *Control Engineering Practice*, vol. 25, pp. 66-74, 2014.
- [37] S. Rómoli, M. E. Serrano, O. A. Ortiz, J. R. Vega, and G. J. E. Scaglia, "Tracking control of concentration profiles in a fed-batch bioreactor using a linear algebra methodology," *ISA Trans*, vol. 57, pp. 162-71, Jul 2015.
- [38] S. Park and W. F. Ramirez, "Optimal production of secreted protein in fed-batch reactors," *AIChE Journal*, vol. 34, pp. 1550-1558, 1988.
- [39] C. Xu, D. Wenli, H. Tianfield, Q. Rongbin, H. Wangli, and Q. Feng, "Dynamic Optimization of Industrial Processes With Nonuniform Discretization-Based Control Vector Parameterization," *Automation Science and Engineering, IEEE Transactions on*, vol. 11, pp. 1289-1299, 2014.
- [40] D. Q. Mayne, J. B. Rawlings, C. V. Rao, and P. O. Scokaert, "Constrained model predictive control: Stability and optimality," *Automatica*, vol. 36, pp. 789-814, 2000.
- [41] R. Tempo and H. Ishii, "Monte Carlo and Las Vegas Randomized Algorithms for Systems and Control: An Introduction," *European Journal of Control*, vol. 13, pp. 189-203, 2007.
- [42] D. Müller, E. Esche, D. C. López C, and G. Wozny, "An algorithm for the identification and estimation of relevant parameters for optimization under uncertainty," *Computers & Chemical Engineering*, vol. 71, pp. 94-103, 2014.
- [43] M. E. Serrano, S. A. Godoy, V. A. Mut, O. A. Ortiz, and G. J. E. Scaglia, "A nonlinear trajectory tracking controller for mobile robots with velocity limitation via parameters regulation," *Robotica*, vol. FirstView, pp. 1-20, 2015.
- [44] M. E. Serrano, G. J. Scaglia, S. Rómoli, V. Mut, and S. Godoy, "Trajectory tracking controller based on numerical approximation under control actions constraints," in *Biennial Congress of Argentina (ARGENCON), 2014 IEEE*, 2014, pp. 37-42.
- [45] J. Albrecht, "Estimating reaction model parameter uncertainty with Markov Chain Monte Carlo," *Computers & Chemical Engineering*, vol. 48, pp. 14-28, 2013.
- [46] G. T. Jemwa and C. Aldrich, "Classification of process dynamics with Monte Carlo singular spectrum analysis," *Computers & Chemical Engineering*, vol. 30, pp. 816-831, 2006.
- [47] W. F. Xie, "Sliding-Mode-Observer-Based Adaptive Control for Servo Actuator With Friction," *IEEE Transactions on Industrial Electronics*, vol. 54, pp. 1517-1527, 2007.
- [48] H. Hao, K. Zhang, S. X. Ding, Z. Chen, and Y. Lei, "A data-driven multiplicative fault diagnosis approach for automation processes," *ISA Transactions*, vol. 53, pp. 1436-1445, 2014.
- [49] C. D. Karlgaard and H. Shen, "Robust state estimation using desensitized Divided Difference Filter," *ISA Transactions*, vol. 52, pp. 629-637, 2013.
- [50] K. Michail, A. C. Zolotas, and R. M. Goodall, "Optimised sensor selection for control and fault tolerance of electromagnetic suspension systems: A robust loop shaping approach," *ISA Transactions*, vol. 53, pp. 97-109, 2014.
- [51] S. Park and W. F. Ramirez, "Dynamics of foreign protein secretion from *Saccharomyces cerevisiae*," *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 33, pp. 272-281, 1989.
- [52] <http://www.mathworks.com/help/simulink/sref/bandlimitedwhitenoise.html>.
- [53] V. Rajinikanth and K. Latha, "Tuning and retuning of PID controller for unstable systems using evolutionary algorithm," *ISRN Chemical Engineering*, vol. 2012, 2012.

Con el caudal de entrada al bioreactor como única acción de control, las variables de estado pueden ser descritas por el siguiente set de ecuaciones propuestas en [38]:

$$\begin{cases} \dot{P} = \chi(T - P) - \frac{uP}{V} \\ \dot{T} = \psi X - \frac{uT}{V} \\ \dot{X} = \mu X - \frac{uX}{V} \\ \dot{S} = -Y_{S/X}\mu X + \frac{u(S_F - S)}{V} \end{cases} \quad (\text{A.1})$$

con

$$\begin{aligned} \chi &= \frac{4.75\mu}{0.12 + \mu} \\ \psi &= \frac{Se^{-5S}}{0.1 + S} \\ \mu &= \frac{\mu_{\max}S}{(S + 0.4)(S + 62.5)} \\ u &= \dot{V} \end{aligned} \quad (\text{A.2})$$

Con el objetivo de seguir los perfiles de referencia de las variables de estado  $[P_{ref}, T_{ref}, X_{ref}, S_{ref}]^T$ , la acción de control requerida es calculada en base al modelo del bioproceso. Como primer paso, la Ec. (A.1) se discretiza mediante Euler

$$\begin{bmatrix} \frac{P_n}{V_n} \\ \frac{T_n}{V_n} \\ \frac{X_n}{V_n} \\ \frac{S_F - S_n}{V_n} \end{bmatrix} u_n = \begin{bmatrix} \chi(T_n - P_n) - \frac{P_{n+1} - P_n}{\Delta t} \\ \psi X_n - \frac{T_{n+1} - T_n}{\Delta t} \\ \mu X_n - \frac{X_{n+1} - X_n}{\Delta t} \\ -Y_{S/X}\mu X_n + \frac{S_{n+1} - S_n}{\Delta t} \end{bmatrix} \quad (\text{A.3})$$

Llamaremos  $\mathbf{z}_n$  al vector de estado,  $\mathbf{c}_n$  y  $\mathbf{d}_n$ , a los vectores de entrada. Luego, el vector de estado en el tiempo de muestreo  $(n+1)$  puede ser expresado como

$$\begin{aligned} \mathbf{z}_{n+1} &= \mathbf{z}_n + \mathbf{c}_n \Delta t - \mathbf{d}_n u_n \Delta t \\ \mathbf{z}_n &= \begin{bmatrix} P_n \\ T_n \\ X_n \\ S_n \end{bmatrix}; \mathbf{c}_n = \begin{bmatrix} \chi(T_n - P_n) \\ \psi X_n \\ \mu X_n \\ -Y_{S/X}\mu X_n \end{bmatrix}; \mathbf{d}_n = \begin{bmatrix} \frac{P_n}{V_n} & \frac{T_n}{V_n} & \frac{X_n}{V_n} & \frac{S_n - S_F}{V_n} \end{bmatrix}^T \end{aligned} \quad (\text{A.4})$$

Después de esto, se debe hacer el siguiente reemplazo en la Ec. (A.3),

$$\mathbf{z}_{n+1} = \mathbf{z}_{ref,n+1} - \mathbf{K} \underbrace{(\mathbf{z}_{ref,n} - \mathbf{z}_n)}_{\mathbf{e}_n} \quad (\text{A.5})$$

donde  $\mathbf{K}$  es la matriz de parámetros del controlador y  $\mathbf{e}_n$ , el vector del error de seguimiento. Luego, la Ec. (A.3) puede ser reescrita como

$$\begin{bmatrix} \frac{P_n}{V_n} \\ \frac{T_n}{V_n} \\ \frac{X_n}{V_n} \\ \frac{S_F - S_n}{V_n} \end{bmatrix} u_n = \begin{bmatrix} \chi(T_n - P_n) - \frac{P_{ref,n+1} - k_p(P_{ref,n} - P_n) - P_n}{\Delta t} \\ \psi X_n - \frac{T_{ref,n+1} - k_T(T_{ref,n} - T_n) - T_n}{\Delta t} \\ \mu X_n - \frac{X_{ref,n+1} - k_X(X_{ref,n} - X_n) - X_n}{\Delta t} \\ -Y_{S/X}\mu X_n + \frac{S_{ref,n+1} - k_S(S_{ref,n} - S_n) - S_n}{\Delta t} \end{bmatrix} \quad (\text{A.6})$$

La Ec. (A.6) tiene solución exacta cuando  $S$  es adoptada como variable sacrificada,  $S_{ez}$  [1]: significa que toma valores arbitrarios con tal que el sistema de ecuaciones lineales tenga solución exacta. Luego, la acción de control,  $u_n$  puede ser obtenida a través de mínimos cuadrados como:

$$\begin{aligned} u_n &= \frac{\frac{P_n}{V_n} \left( \chi(T_n - P_n) - \frac{P_{ref,n+1} - k_p(P_{ref,n} - P_n) - P_n}{\Delta t} \right)}{P_n^2 + T_n^2 + X_n^2 + S_n^2} + \dots \\ &+ \frac{\frac{T_n}{V_n} \left( \psi X_n - \frac{T_{ref,n+1} - k_T(T_{ref,n} - T_n) - T_n}{\Delta t} \right)}{P_n^2 + T_n^2 + X_n^2 + S_n^2} + \dots \\ &+ \frac{\frac{X_n}{V_n} \left( \mu X_n - \frac{X_{ref,n+1} - k_X(X_{ref,n} - X_n) - X_n}{\Delta t} \right)}{P_n^2 + T_n^2 + X_n^2 + S_n^2} + \dots \\ &+ \frac{\frac{(S_F - S_n)}{V_n} \left( -Y_{S/X}\mu X_n + \frac{S_{ez,n+1} - k_S(S_{ez,n} - S_n) - S_n}{\Delta t} \right)}{P_n^2 + T_n^2 + X_n^2 + S_n^2} \end{aligned} \quad (\text{A.7})$$