



PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA DE
VALPARAÍSO



Manuel Antonio Oyarzo Pérez

Modelado, simulación y control de la velocidad de transferencia de oxígeno en un biorreactor para la producción de alginato

Informe Proyecto de Título de Ingeniero Electrónico



Escuela de Ingeniería Eléctrica
Facultad de Ingeniería

Valparaíso, 17 de agosto de 2018



Modelado, simulación y control de la velocidad de transferencia de oxígeno en un biorreactor para la producción de alginato

Manuel Antonio Oyarzo Pérez

Informe Final para optar al título de Ingeniero Electrónico,
aprobada por la comisión de la
Escuela de Ingeniería Eléctrica de la
Facultad de Ingeniería de la
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
conformada por

Sr. Gonzalo Farías Castro

Profesor Guía

Sr. Héctor Vargas Oyarzún

Segundo Revisor

Sr. Sebastián Fingerhuth Massmann

Secretario Académico

Valparaíso, 17 de agosto de 2018

Resumen

El siguiente trabajo consiste en un sistema de control para la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) en un proceso biológico mediante un controlador PI. El proceso biológico consta de un cultivo por lotes de la bacteria *Azotobacter Vinelandii* la cual es la encargada de producir alginato, el proceso es llevado a cabo en un biorreactor en presencia de una inyección constante de oxígeno mediante una mezcla de gases. La finalidad del trabajo es generar el control sobre la VTO a lo largo del cultivo para posteriormente ser utilizado en trabajos que relacionan la influencia de la VTO sobre el tamaño del alginato producido. El trabajo realizado en este proyecto consta de tres claras etapas. La primera etapa consiste en la investigación y presentación del marco teórico del sistema, en la que se investigó todo lo relacionado con el bioproceso, crecimiento bacterial y transferencia de oxígeno con el propósito de comprender el funcionamiento del sistema y poseer una mejor preparación para afrontar la solución del problema. La segunda etapa del proyecto consistió en la identificación del sistema, en la cual mediante una señal PRBS (Pseudo Random Binary Sequence) se buscó estimar modelos del proceso para su posterior análisis y poder realizar la sintonización del controlador mediante simulación. Finalmente se realizaron dos experiencias de control y se analizaron los resultados obtenidos.

Palabras claves : velocidad de transferencia de oxígeno, control PI, biorreactor, *Azotobacter Vinelandii*, PRBS.

Abstract

The next work consists in a control system for the Oxygen Transfer Rate (OTR) in a biological process through a PI controller. The biological process consists in a batch culture of *Azotobacter Vinelandii* which produces alginate, the process it is carried out in presence of a continuous injection of a gas mixture. The goal of this work is generating a control on the oxygen transfer rate (OTR) along the culture for later be used on work research about influences between OTR and the size of produced alginate. This project work consists in three clear steps. The first step consists in the investigation and presentation of the theoretical framework of the system, in which includes all the related research about the bioprocess, bacterial growth and oxygen transfer with the purpose of understand the functioning of the entire system for being well prepared to affront the solution of the problem. The second step of the project consist in the system identification, in which it was wanted a bunch of estimated models of the system for the purpose of his subsequent analysis and also for the controller tuning through simulation, all of this made by through a Pseudo Random Binary Sequence (PRBS) signal. Finally, they were made control experiments and the results were analyzed.

Key words: oxygen transfer rate, PI control, bioreactor, *Azotobacter Vinelandii*, PRBS.

Índice general

Introducción	1
1 Antecedentes generales y propuesta.....	3
1.1 Contexto del proyecto	3
1.2 Método de solución del proyecto	4
1.3 Bioproceso para la producción del alginato	4
1.3.1 Azotobacter Vinelandii.....	4
1.3.2 Métodos de cultivo.....	5
1.3.3 Producción de alginato.....	6
1.3.4 Variables del biorreactor	7
1.3.5 Cruvas de crecimiento de la bacteria.....	8
1.4 Estado del arte.....	8
1.4.1 Control de la tensión de oxígeno disuelto (TOD)	9
1.4.2 Control de la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO).....	9
1.5 Solución propuesta.....	12
1.6 Objetivos del proyecto	12
1.6.1 Objetivo General	13
1.6.2 Objetivos Específicos	13
2 Sistema: Biorreactor	14
2.1 Ecuaciones del sistema	14
2.2 Simulación del sistema mediante software	16
2.2.1 Diagramas de bloque en SIMULINK.....	16
2.3 Variable de control: Velocidad de transferencia de oxígeno (VTO)	20
2.3.1 Etapas de la transferencia de oxígeno	21
2.3.2 Relación entre VTO y la etapa de crecimiento de la bacteria.....	23
3 Sistema de adquisición de datos	26
3.1 Dispositivo de E/S multifunción USB-6008.....	26
3.2 Sensor dissolved oxygen transmitter Model 20-03 y oxyprobe.	27
3.3 Sensor de pH Ts-ALPHA ph800.....	27
3.4 Infrared gas analyzer Model 7500	27

3.5 Mass flow controllers Model SLA 5850	28
3.6 Medición de la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO)	29
3.7 Aplicación LABVIEW	30
4 Identificación del Sistema.....	31
4.1 Marco teórico de identificación de sistemas	31
4.1.1 Señal de excitación Pseudo Random Binary Sequence (PRBS)	32
4.2 Experimentos de Identificación del sistema.....	34
4.2.1 Primera Experiencia de identificación del sistema	34
4.2.2 Segunda experiencia de identificación del sistema	37
4.2.3 Resultados de la segunda experiencia de identificación del sistema.....	38
4.3 Identificación del sistema mediante System Identification Toolbox	39
4.3.1 Modelo estimado para periodo de latencia	40
4.3.2 Modelo estimado para periodo de crecimiento exponencial	42
4.3.3 Modelo estimado para periodo de crecimiento estacionario	43
4.3.4 Análisis de resultados de la estimación de modelos	45
5 Sistema de control	47
5.1 Sistema de control PI.....	48
5.2 Sintonización del controlador PI	49
5.3 Sintonización mediante simulación en SIMULINK	53
5.4 Diseño de control PI en software LABVIEW	58
6 Resultados de experiencias de control.....	59
6.1 Resultados experimentales.....	59
6.2 Análisis de resultados	61
6.2.1 Consideración de la medición del analizador de gases	64
6.3 Segunda experiencia de control con limitación de válvulas.....	64
Discusión y conclusiones.....	66
Bibliografía.....	69

Introducción

Actualmente la bioingeniería se encuentra constantemente realizando investigaciones con el fin de poder producir ciertos productos con características requeridas, uno de estos es el alginato. El alginato es un polisacárido que tiene una serie de aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica, es usado como agente espesante, gelificante y estabilizante de espumas y emulsiones. Uno de los principales focos de interés del alginato es su función como una delgada capa protectora para el envasado de alimentos, los cuales son consumidos en conjunto con la comida, sin embargo, actualmente la manera más económica de obtener alginato es mediante Algas Marinas Pardas (Pheophyceae).

Las funciones específicas del alginato como capa protectora dependen fuertemente de sus propiedades físicas como el peso molecular, por ello se han realizado numerosos estudios de la influencia de la composición del monómero de alginato y su peso molecular con respecto a sus propiedades como capa protectora de alimentos comestible. Gracias a la cantidad de estudios realizados de manera experimental se llegó a la conclusión de que la aplicación del alginato depende en gran medida de las características moleculares del polímero como su peso molecular.

Como siguiente paso de la investigación se estableció como propósito ver que variables pueden afectar el peso molecular del alginato siendo una de ellas la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO). Se llegó a comprobar que la VTO posee un efecto directo en el peso molecular del alginato, generando la necesidad de estudiar si es posible tener las características deseadas del alginato, como peso molecular, mediante la variable de interés controlada (VTO). De todos estos estudios nace la necesidad por parte de investigadores de la escuela de bioquímica de poder tener un sistema con la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) constante a lo largo de todo un cultivo para estudiar su efecto sobre la producción de alginato.

La producción de alginato es producto del cultivo de una bacteria aeróbica llamada *Azotobacter Vinelandii*, el tipo de cultivo es por Lotes (Batch) y todo el proceso ocurre en un biorreactor. Una de las principales características de los cultivos por Lotes (Batch) es que a diferencia de otro tipo de cultivos solo cuenta con una carga inicial de sustrato y biomasa. El proceso en si consta del medio de cultivo llamado bioreactor, el cual se encarga de generar las condiciones propicias para el crecimiento del microorganismo y su posterior producción de alginato. El cultivo consta básicamente de propiciar las condiciones para que el microorganismo crezca, respire (consumo de oxígeno) y produzca el metabolito de interés. Al tratarse de un microorganismo aeróbico es

necesario estar constantemente inyectando oxígeno al medio mediante una mezcla de gases de oxígeno y nitrógeno.

Dentro de todas las variables que presenta el bioproceso, para este trabajo se centra en lo que concierne a la respiración celular. Como se sabe el microorganismo necesita estar consumiendo constantemente oxígeno el cual es proporcionado mediante una mezcla de gases, sin embargo, el oxígeno que se le inyecta viene en forma de gas, y el microorganismo necesita para consumirlo que éste se encuentre disuelto en el medio líquido. De acá nace la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) la cual representa la velocidad con que se transfiere el oxígeno en la fase gaseosa a la fase líquida para el consumo del microorganismo.

El propósito de este trabajo es lograr establecer un sistema de control para la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) en un bioproceso para la producción de Alginato de la bacteria *Azotobacter Vinelandii* mediante la manipulación de los porcentajes de apertura de las válvulas de oxígeno y nitrógeno respectivamente, se mostrará a lo largo de todo el informe la necesidad de una consistente base teórica del proceso para poder establecer la mejor estrategia para controlar el sistema. Para ello será necesario el estudio de las ecuaciones diferenciales que rigen el sistema, estudio de sistemas de control en biorreactores, realización de simulaciones y pruebas experimentales para lograr conocer y manejar la dinámica del sistema. Luego de conocer la dinámica del sistema se buscó establecer la mejor estrategia de control y la elegida fue el altamente conocido y eficiente controlador PI. Para realizar el sistema de control fue necesario apoyarse en técnicas de identificación de sistemas, iniciándose en señales de excitación como las Pseudo Random Binary Sequence (PRBS) logrando estimar funciones de transferencia con altos porcentajes de exactitud. Finalmente, el trabajo concluyo con dos experiencias de control producto de lo altamente demandantes de tiempo y dinero que son cada una de ellas dando resultados distantes entre sí, sin embargo, se realizó un análisis de dichos resultados lo que provocó la inclusión de ciertas directrices para mejorar el sistema de control especificando claramente las principales virtudes y problemas que se obtuvieron para el sistema de control.

1 Antecedentes generales y propuesta

1.1 Contexto del proyecto

El alginato es un polisacárido el cual tiene una serie de aplicaciones de gran importancia tanto en la industria alimentaria como farmacéutica. Es usado como agente espesante, gelificante, estabilizante de espumas y emulsiones. Una destacada función del alginato es su función como una delgada capa protectora para envasado de alimentos, las cuales se consumen en conjunto con la comida, sin embargo, la manera más económica de obtener alginato es mediante las Algas Marinas Pardas (Phaeophyceae) para la mayoría de sus aplicaciones.

Tras numerosos estudios se sabe que las propiedades del alginato como función de capa protectora de alimentos comestible vienen fuertemente influenciadas por la composición del monómero del alginato y de su peso molecular, por lo que, para obtener alginato con propiedades específicas para su funcionalidad fue necesaria la investigación sobre la manipulación de ciertas variables que llegaron a la conclusión de que la aplicación del alginato depende en gran medida de las características moleculares del polímero, como por ejemplo su peso molecular. Por tal motivo se decidieron estudiar maneras de cómo obtener distintos pesos moleculares alterando ciertas variables en cultivos.

Está demostrado que variables como la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) o la tensión de oxígeno disuelto (TOD) pueden ser manipuladas con tal de lograr alterar las propiedades del alginato producido, ya que este es producido por una bacteria aeróbica. Estudios realizados mediante experimentación [1] notan la influencia de la variable Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) sobre el peso molecular del alginato, en dichos estudios se vio una aparente relación en el peso molecular del alginato al variar la VTO, la variación de la VTO era realizada mediante velocidad de agitación y cada cultivo se realizaba a una VTO máxima distinta. Por ello surge la necesidad de experimentar la relación que hay entre el peso molecular del alginato en cultivos de *Azotobacter Vinelandii* con la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO), para ello nace la necesidad de un sistema que controle la VTO en los cultivos para poder realizar los estudios deseados.

1.2 Método de solución del proyecto

El propósito de este proyecto es generar la solución para el control de la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) en un biorreactor, para un cultivo por lotes dedicado a la producción de alginato mediante la bacteria *Azotobacter Vinelandii*. Para lograr el control requerido para este fin específico se necesita que se controle la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) solamente mediante la manipulación de las válvulas de oxígeno de entrada. El biorreactor en un cultivo normal, consta de una entrada de aire compuesto por un porcentaje de oxígeno y nitrógeno debido a que al ser un microorganismo aeróbico éste necesita de oxígeno para respirar y posteriormente producir el metabolito de interés. El uso únicamente de la variable de oxígeno como variable manipulada viene producto de las restricciones que tienen los posteriores trabajos de experimentación en la escuela de bioquímica para los propósitos ya antes mencionados.

1.3 Bioproceso para la producción del alginato

Un bioproceso es un proceso que busca obtener ciertos cambios químicos o físicos mediante células vivas completas. El bioproceso, particularmente de procesos fermentativos, consiste en cultivar un microorganismo como una bacteria en un medio líquido para producir un metabolito de interés. En este proyecto la bacteria en cuestión es la *Azotobacter Vinelandii* y el metabolito de interés el alginato. Para que el metabolito de interés tenga las propiedades deseadas es que se realizan diferentes experimentos manipulando ciertas variables que afectan el proceso, como las variables relacionadas con el oxígeno que consume el microorganismo. Para ello es necesario entender que es un bioproceso, el microorganismo en cuestión, como es el cultivo de éste y sus principales variables con el fin de entender cómo funciona realmente el sistema.

1.3.1 *Azotobacter Vinelandii*

El fin de este proceso es producir un metabolito de interés, el alginato. El alginato es un metabolito que tiene una serie de aplicaciones principalmente en la industria farmacéutica y en la comida. Su importancia radica en la capacidad para modificar las propiedades reológicas de los sistemas acuosos, también son utilizados como agentes espesantes, gelificantes, estabilizantes de espumas y emulsiones.

La bacteria *Azotobacter Vinelandii* es una bacteria que tiene la capacidad de producir dos polímeros importantes como lo son el poliéster intracelular polihidroxibutirato (PHB) y el polisacárido extracelular alginato, que es el de interés como se ve en la Figura 1-1.

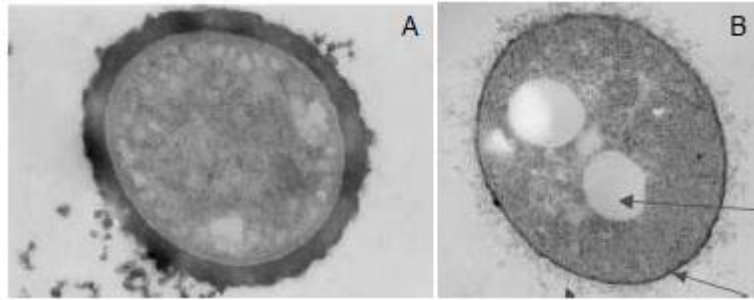


Figura 1-1: *Azotobacter Vinelandii* rodeada de alginato (A) y con inclusiones de PHB (B) [2].

1.3.2 Métodos de cultivo

Para producir alginato mediante la bacteria *Azotobacter Vinelandii* es necesario realizar un cultivo, un cultivo consiste en poseer un biorreactor, lugar donde se encontrará la bacteria, consumirá oxígeno y produzca el metabolito de interés. Existen una serie de tipos de cultivos como los son los cultivos por lote (batch), cultivos continuos y cultivos alimentados, cada uno de éstos tiene sus características principales de cómo se realiza el cultivo. Para este proyecto se trabajará en un cultivo por lotes (batch).

El cultivo por lote (batch) consiste en una sola carga inicial del sustrato al proceso para luego dejar que el microorganismo crezca mientras los consume, el crecimiento de la bacteria va a ser limitado a la cantidad de sustrato que ingresó al inicio del proceso. Parámetros como la temperatura o pH son establecidos también al inicio del proceso. En la Figura 1-2 se puede ver un ejemplo de una gráfica que compara la cantidad de sustrato y el crecimiento de la bacteria (aumento de biomasa) en un cultivo por Lotes (Batch), como se puede ver el sustrato (glucosa) parte el cultivo con una cantidad inicial y luego a medida que el cultivo avanza la célula lo va consumiendo hasta agotarlo, al ir consumiendo sustrato el microorganismo va creciendo (aumento de biomasa) hasta el momento en que se acaba.

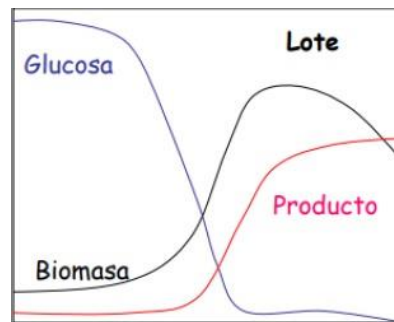


Figura 1-2: Gráficas de un cultivo por lotes (batch).

Por otra parte, los cultivos alimentados básicamente se caracterizan por que los componentes del medio son adicionados continuamente o en incrementos, generalmente durante la fase de crecimiento exponencial del microorganismo, y el crecimiento bacterial básicamente está

limitado por la acumulación de productos finales tóxicos. Los cultivos continuos tienen por otra parte una tasa de entrada igual a la tasa de salida de componentes, la cual esta seleccionada para asegurar un estado de crecimiento estable, puede estar funcionando de forma continua por semanas o meses.

1.3.3 Producción de alginato

Para la producción de alginato en este proyecto se trabajará en un cultivo por lotes (batch) de la bacteria *Azotobacter Vinelandii*. Todo el proceso ocurre en un biorreactor (Figura 1-3), un biorreactor es básicamente un recipiente o sistema que mantiene las condiciones ambientales necesarias (pH, concentración de oxígeno disuelto, temperatura, velocidad de agitación, etc) para crear un ambiente biológicamente activo. Las condiciones del cultivo como pH, velocidad de agitación, temperatura, volumen del recipiente y flujo de aire son definidas al comienzo del proceso. Como la bacteria *Azotobacter Vinelandii* es del tipo aeróbica es necesario inyectar continuamente una mezcla oxígeno y nitrógeno, las cuales vienen dadas en porcentaje (el 100% viene dado por la suma del porcentaje de oxígeno y nitrógeno en conjunto). Luego de haber establecido todos estos parámetros y cargado el cultivo con una carga inicial de sustrato y la misma bacteria se pone en marcha el proceso el cual dura 72 horas.

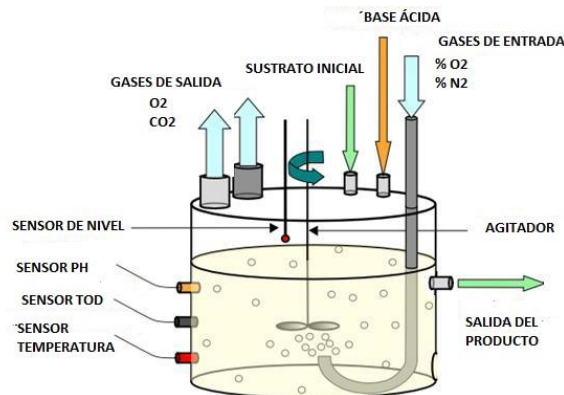


Figura1-3: Esquema de un biorreactor (fuente: <http://www.steamequipments.com>)

El proceso una vez iniciado básicamente consta del microorganismo creciendo y alimentándose tanto del sustrato y el oxígeno en el medio de cultivo, mientras ocurre todo esto la bacteria va creciendo aumentando su cantidad de biomasa y respirando oxígeno, siempre y cuando aún quede sustrato en el medio ya que el microorganismo solo tiene la cantidad de sustrato inicial a su disposición. El microorganismo a su vez va produciendo el metabolito de interés el alginato.

Uno de los aspectos más importantes a mencionar es que el microorganismo es aeróbico, o sea consume oxígeno por ello se necesita el constante ingreso de la mezcla de gases (oxígeno y nitrógeno) al cultivo. El oxígeno en forma gaseosa es ingresado al cultivo y se transfiere a la fase líquida para que sea consumido por el microorganismo a una cierta velocidad (Velocidad de Transferencia de Oxígeno o VTO), hay una serie de factores que facilitan esta transferencia como

lo son la agitación. Luego en cada instante sale del biorreactor una cantidad de oxígeno y dióxido de carbono dependiente de la respiración de la célula.

1.3.4 Variables del biorreactor

Un aspecto importante para tener claridad del sistema a tratar es conocer todas las variables involucradas y cuál es el papel de las más importantes. Un cultivo dentro de un biorreactor contiene una gran cantidad de variables, a continuación, se mencionarán las más importantes para el proceso.

- **Sustrato:** El sustrato es una molécula sobre la que actúa una enzima, básicamente es lo que consume el microorganismo a lo largo del cultivo para su crecimiento. En cultivos por lotes (batch) solo se ingresa una cierta cantidad predeterminada de sustrato para la duración de todo el cultivo. Su unidad de medida es [g/l].
- **Cantidad de biomasa:** La biomasa es la cantidad de materia viva presente, por ello su aumento representa el crecimiento del microorganismo. Para medir esta variable en los cultivos es necesario realizar una medida fuera de línea por una persona experta. Su unidad de medida es [gdw/l].
- **Gases de entrada:** Al cultivo es necesario aplicarle un ingreso de gases compuesto por una mezcla de oxígeno y nitrógeno, estos gases son medidos en porcentaje (%) donde el 100% lo componen la suma de ambos. Éstos son otorgados mediante unos tanques de oxígeno y nitrógeno respectivamente y regulados mediante válvulas.
- **Tensión de oxígeno disuelto (TOD):** Esta variable representa la cantidad de oxígeno disponible en el líquido para que el microorganismo pueda consumirlo. Es medido por un sensor de oxígeno disuelto y un electrodo para ello. Sus unidades pueden ser tanto en [ppm] o [%].
- **Velocidad de transferencia de oxígeno (VTO):** Es la variable de interés en este trabajo, representa la velocidad con que se transfiere el oxígeno de fase gaseosa a fase líquida para que el microorganismo pueda consumirlo. En un principio no existe un sensor capaz de medir directamente esta variable, pero es estimada mediante fórmula de acuerdo a los gases de entrada y salida. Se mide en [mmol/ (L·h)].
- **pH:** El pH es una medida del grado de acidez o basicidad de una solución acuosa. Es medido directamente por un sensor de pH.
- **Gases de salida:** El biorreactor cuenta con gases de salida, debido a que al haber un constante ingreso de oxígeno y sumado al hecho de que el microorganismo respira es necesario que salga oxígeno, ya que sin ello el medio se intoxicaría. Los gases que salen son oxígeno (O₂) y dióxido de carbono (CO₂), estos son medidos por un analizador de gases infrarrojo. Éstas variables son de gran importancia porque más adelante se utilizarán para el cálculo de la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO).
- **Velocidad de agitación:** Hay unas hélices giratorias al interior del cultivo que giran a una cierta velocidad para mejorar la transferencia de oxígeno de fase gaseosa a líquida, un aspecto importante es que está relacionada directamente con la velocidad de

transferencia de oxígeno (VTO). Ésta es establecida al inicio del cultivo y no varía a lo largo de él. Se mide en [rpm].

1.3.5 Curvas de crecimiento de la bacteria

Como el proceso consta del crecimiento de un microorganismo en el medio de cultivo, un importante parámetro a considerar es la curva de crecimiento de las bacterias, mostrada en la Figura 1-4, ya que ésta nos establece como se comporta el crecimiento de nuestro microorganismo a lo largo del proceso. La importancia de esta curva radica en que el crecimiento de la bacteria afecta directamente la respiración de la célula y como la variable a controlar es la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) tiene relación con la respiración celular.

La curva de crecimiento consta de 4 etapas, la etapa de Latencia, Crecimiento Exponencial, Estado Estacionario y Muerte. La Etapa de Latencia es un periodo de acomodo de la bacteria al medio, presenta un crecimiento muy pequeño o casi nulo y en este trabajo se espera que dure alrededor de 6 horas. La Etapa de Crecimiento Exponencial es la etapa donde la bacteria crece mientras consume el sustrato y por ende acaba en el momento en que el sustrato se acaba, en este trabajo tiene una duración aproximada de 45 horas. El periodo Estacionario es el periodo donde ya no hay crecimiento de la bacteria y finalmente llega la etapa de muerte de la bacteria.

Debido a que todo el proceso consta del crecimiento de la bacteria y la producción del metabolito de interés mientras esta consume sustrato y oxígeno las etapas de crecimiento toman un rol fundamental ya que en el fondo estas fases siempre se cumplen y afectan directamente a otras variables como lo es la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO). Desde un punto de vista de la manera de enfrentar el problema de control se ve que claramente las variables del sistema tienen un comportamiento distinto dependiendo en qué fase de crecimiento se encuentran.

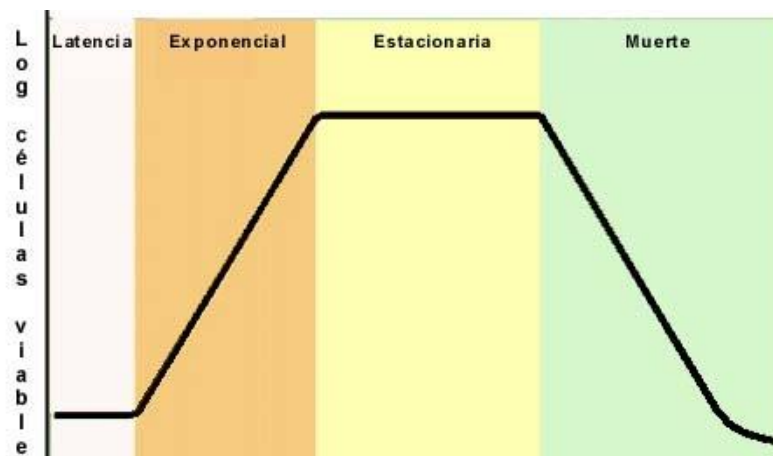


Figura 1-4: Curva de crecimiento de la bacteria (fuente: <http://coli.usal.es>)

1.4 Estado del arte

Hasta la fecha no hay registro de que se haya realizado control sobre la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO), sin embargo, la propuesta del proyecto [3] nace de estudios en los que se

establece que es posible establecer control sobre esta variable y los efectos que éste podría provocar en los cultivos [1]. También se hará mención al trabajo de John Cardoch [2] sobre el control de la Tensión de Oxígeno Disuelto (TOD) ya que gran parte de este trabajo tomo como referencia este trabajo por tratarse del mismo tipo de cultivo y el mismo biorreactor, pero diferente variable a controlar.

1.4.1 Control de la tensión de oxígeno disuelto (TOD)

El primer trabajo de control automático sobre biorreactores en la Escuela data del trabajo de John Cardoch sobre el control de la tensión de oxígeno disuelto (TOD) [2]. Este trabajo consta del mismo biorreactor y las mismas condiciones del cultivo, o sea un cultivo por lotes (batch) y la bacteria en cuestión la *Azotobacter Vinelandii*. En este trabajo se controló la Tensión de Oxígeno Disuelto (TOD) mediante la manipulación de las válvulas de oxígeno (%O₂) mediante un control PI. En este trabajo se utilizó el software Labview para todo lo relacionado con el control, en la Figura 1-5 se puede ver el resultado obtenido por el sistema de control en una prueba realizada para validar el sistema de control.

Éste trabajo fue un pilar fundamental para este trabajo ya que de alguna manera se puede ver como una continuación de éste. La variable a controlar si bien son distintas están estrechamente relacionadas, ya que una depende de la otra y ambas están relacionadas con la respiración celular. Éste trabajo sirvió como una importante base teórica en un principio ya que explicaba de buena forma todo el funcionamiento del sistema, además es esencial mencionar que en este trabajo se implementó todo lo que es el sistema de adquisición de datos en el laboratorio de Bioquímica. El trabajo de John Cardoch hasta la fecha es utilizado para cultivos en los que se necesite control sobre la Tensión de Oxígeno Disuelto (TOD) por ello se utilizó como base la programación en LABVIEW del programa acá realizado por la familiarización de los usuarios de bioquímica con el programa y que éste ya había sido testeado en una gran cantidad de experiencias.

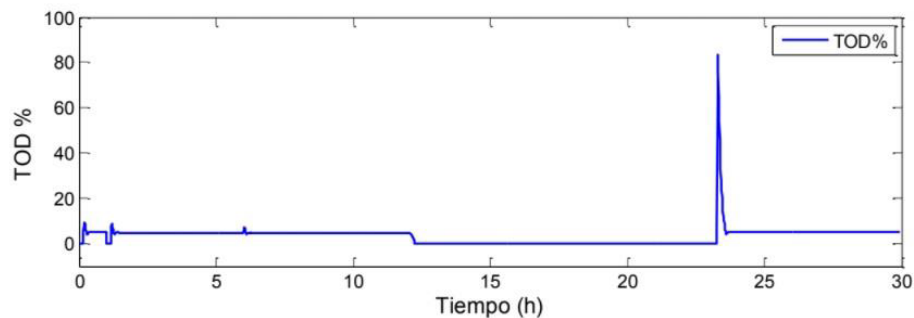


Figura 1-5: Resultado del control de la tensión de oxígeno disuelto (TOD) [2].

1.4.2 Control de la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO)

Según datan estudios [1], se ha realizado control de la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) para la producción de 2,3-butanediol por la bacteria *Klebsiella oxytoca* mediante un control realimentado sobre la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) mediante el incremento

continuo de la presión parcial de oxígeno en el gas de alimentación, el objetivo de ésta tesis era mejorar la productividad de 2,3-butanediol mediante el control planteado. Éste trabajo buscaba mantener una velocidad de consumo de oxígeno constante ($q_{O_2}=q_{O_2SET}$), y una velocidad de crecimiento específica constante $\mu=\mu_{SET}$ debido a que se mantenía $VTO=VTO_{SET}$ (control de la Velocidad de Transferencia de Oxígeno) debido a la relación lineal que comprobó.

El sistema para el control consta del biorreactor, la mezcla de gases mediante controladores de flujo másico, un analizador de gases de salida y el sistema de adquisición de datos, como se ve en la Figura 1-6.

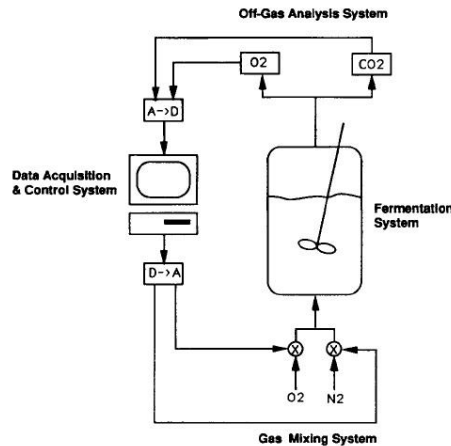


Figura 1-6: Elementos de control en tesis de Beronio para el control de la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) [1].

En este trabajo solo se actualizaba el valor de la presión parcial de oxígeno de entrada ($P_{O_2}^{IN}$) cada 10 segundos mediante la Ecuación 1-1 basado en las mediciones de la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) y Kla . Donde $P_{O_2}^{IN}$ es la presión parcial de oxígeno de entrada, OTR es la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO), Kla es el coeficiente de transferencia volumétrico y μ es la velocidad de crecimiento específico, t es el tiempo en que se produce el control de VTO y t_c es el tiempo al principio del control de la VTO.

$$P_{O_2}^{IN} = \frac{OTR}{Kla} \cdot \exp\{\mu^{SET} \cdot (t - t_c)\} \quad (1-1)$$

Beronio [1] estableció que se podía lograr tener control sobre la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) ya que en incrementos periódicos de oxígeno logró una respuesta lineal de la VTO, como se puede ver en la Figura 1-7, sin embargo solamente eran considerados los valores VTO máxima producidas en periodo de crecimiento exponencial, donde la VTO se mantiene prácticamente constante

Los resultados obtenidos por Beronio [1] se pueden ver en la Figura 1-8, sin embargo, en su objetivo de control buscaba tener una velocidad de respiración constante (q_{O_2}), se puede ver que tuvo incrementos exponenciales de la variable de entrada ($P_{O_2}^{IN}$) pero limitado hasta un 21%, también hay que destacar que fue variando manualmente la velocidad de agitación, variable

relacionada con la Velocidad de Transferencia de Oxígeno. Un aspecto interesante a mencionar es que en la tesis no se hace referencia a como se obtienen los valores en línea de la VTO y K_{La} , según la Figura 1-6 hace deducir que lo obtiene de los valores de los analizadores de gases de salida, pero no se menciona alguna expresión utilizada. En este trabajo no se hace referencia a curvas de crecimiento de la bacteria, pero si se hace alusión a una no linealidad entre la variable de control y la variable manipulada mencionando que el efecto no lineal que pudieran tener en un cultivo no afectaría de sobremanera al sistema de control ya que éste se recalcularía en línea y solo proporcionaría una apertura de válvula que compense el efecto.

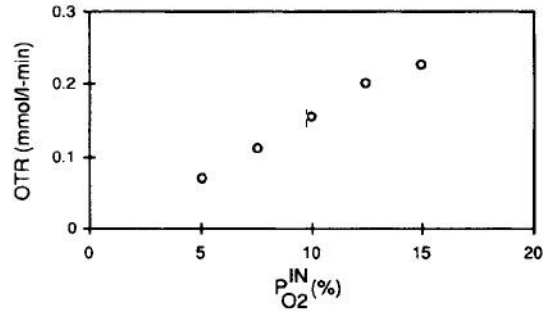


Figura 1-7: Demostración de la controlabilidad de la VTO según Beronio [1].

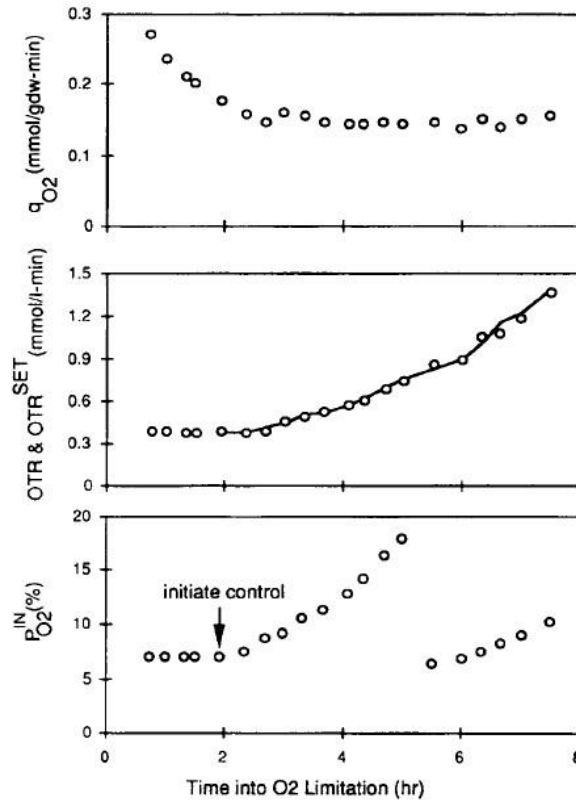


Figura 1-8: Resultados de control de VTO [1].

1.5 Solución propuesta

El propósito de este trabajo es controlar la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) mediante la manipulación de las válvulas de oxígeno de entrada (%O₂) para los fines experimentales requeridos por la Escuela de Bioquímica de la PUCV. Tomando como punto de partida esto y luego de ya conocer todo el proceso explicado anteriormente se define en una primera instancia cuales son las variables con miras al sistema de control automático, las que se pueden ver en la Figura 1-9. La variable a controlar es la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO), la variable manipulada es el oxígeno de entrada (%O₂). La razón de la variable manipulable viene dada por la Ecuación 1-2 y 1-3, en las cuales se hace referencia a la ecuación de la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) y a la Ley de Henry. Según las ecuaciones ya mencionadas se tendría una relación lineal de al aumentar el oxígeno de entrada mediante la ley de Henry, donde P_{O₂} representa la presión de oxígeno de entrada que en este trabajo se mencionará en términos de porcentaje de apertura (%) y H es la constante de la ley de Henry. La Ecuación 1-3 básicamente dice que al aumentar el oxígeno de entrada aumentaríamos el oxígeno en equilibrio (C*), lo que haría aumentar la VTO según la Ecuación 1-2, sin embargo esta relación no siempre es lineal a lo largo del proceso por el hecho de que también entra en juego la respiración de la célula y el periodo de crecimiento en que se encuentre, variables que van cambiando a lo largo del cultivo y van afectando directamente a la variable a controlar (VTO).

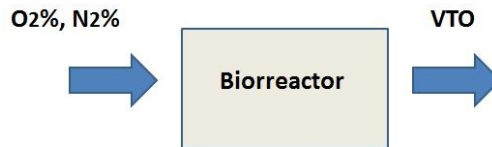


Figura 1-9: Esquema del sistema de control básico.

$$VTO = kla \cdot (C^* - C) \quad (1-2)$$

$$C^* = \frac{P_{O_2}}{H} \quad (1-3)$$

En una primera instancia se cree apropiado un controlador PID para el problema planteado, pero será primero analizar cómo se comporta la variable a controlar a lo largo del proceso, considerando principalmente el efecto que tendría la etapa de crecimiento en que se encuentre sobre el sistema de control.

1.6 Objetivos del proyecto

Como se mencionó anteriormente el objetivo de este proyecto es poder lograr controlar la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) en un biorreactor, para la producción de alginato mediante la bacteria *Azotobacter Vinelandii* para los propósitos de experimentación de la escuela de Bioquímica. Para llevar a cabo esto es necesario tener un conocimiento más profundo del sistema en sí, manejar conceptos de respiración celular y el efecto de cada variable con respecto a otras para desarrollar de manera adecuada una estrategia de control y poder enfrentar de buena

manera la búsqueda de soluciones frente a posibles problemas a enfrentar. Para la realización preliminar del sistema se control es necesario un modelo válido del sistema por lo que se estudiarán las ecuaciones diferenciales del proceso y posteriormente una identificación del sistema. También al ser un trabajo de estudio, investigación e implementación de un sistema de control real es necesario realizar una gran cantidad de experiencias en laboratorio para llevar a cabo el objetivo. A continuación, se detallará el objetivo principal y los objetivos específicos para lograr desarrollar el trabajo.

1.6.1 Objetivo General

Simular, modelar y controlar la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) en un cultivo por lotes de la bacteria *Azotobacter Vinelandii* para la producción de Alginato.

1.6.2 Objetivos Específicos

- Definir un modelo adecuado del sistema y sus respectivas variables.
- Establecer modelos válidos para el sistema de control tomando en consideración las etapas de crecimiento de la bacteria.
- Establecer un sistema de control.
- Realizar experiencias de control en el sistema considerando limitaciones impuestas.

2 Sistema: Biorreactor

El sistema de interés es todo el proceso que se lleva a cabo en el biorreactor, considerando tanto el crecimiento de la bacteria como el consumo de sustrato y oxígeno de éste, por ello es necesario comprender y analizar el sistema en base a las ecuaciones que rigen el sistema y sus variables de interés. Las principales variables del sistema son la biomasa (X), el sustrato (S) y la velocidad de crecimiento específico (μ) ya que con ellas y una serie de parámetros que se explicarán más adelante permitirán obtener las variables relacionadas con la respiración celular como lo son la Tensión de Oxígeno Disuelto (TOD) y la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (OTR).

2.1 Ecuaciones del sistema

El sistema a tratar consiste de todo el proceso que ocurre dentro del biorreactor, viene definido por una gran cantidad de ecuaciones ya que es necesario describir tres importantes procesos que ocurren en el cultivo como lo son el consumo de oxígeno, consumo de sustrato y todo lo referente al crecimiento de la bacteria. El crecimiento de la bacteria en términos de biomasa es definido en las Ecuaciones 2-1 y 2-2, el consumo de sacarosa viene siendo definida por la Ecuación 2-3 y finalmente las Ecuaciones 2-4, 2-5, 2-6 y 2-7 definen todo lo que es la respiración celular y lo relacionado con el oxígeno en el biorreactor.

$$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot S}{S + K_s} \quad (2-1)$$

$$\frac{dX}{dt} = X \cdot \mu \quad (2-2)$$

$$\frac{dS}{dt} = \frac{-X \cdot \mu}{Y_{X/S}} \quad (2-3)$$

$$VTO = KLa \cdot (O_2^* - O_2) \quad (2-4)$$

$$OUR = \frac{X \cdot \mu}{Y_{X/O_2}} \quad (2-5)$$

$$\frac{dO_2}{dt} = VTO - OUR \quad (2-6)$$

$$\frac{dO_2}{dt} = KLa \cdot (O_2^* - O_2) - \frac{X \cdot \mu}{Y_{X/O_2}} \quad (2-7)$$

La Ecuación 2-1 representa la velocidad específica de crecimiento de la bacteria, el término “específico” expresa que es la velocidad de crecimiento por unidad de biomasa. El crecimiento de la bacteria tiene un comportamiento exponencial creciente solo durante su fase de crecimiento exponencial, en la fase de latencia su crecimiento es prácticamente nulo y en su fase estacionario no tiene crecimiento. Viene definida por μ que es la velocidad específica de crecimiento, μ_{\max} es una constante que denota la velocidad de crecimiento máxima en [1/h]. K_s es una constante relacionada con la saturación, en [gS/L] y finalmente S es el sustrato limitante como la sacarosa, sus unidades son [g/L].

La Velocidad de crecimiento de la biomasa viene descrita en la Ecuación 2-2, ésta representa la velocidad con que crece la biomasa, viene definida por la velocidad específica de crecimiento (μ) en [1/h] y la cantidad de biomasa (X) en [g/L].

Con respecto al consumo del sustrato la Ecuación 2-3 denota la velocidad de consumo de la sacarosa. La sacarosa es el sustrato limitante de la bacteria, en pocas palabras una vez que este se acaba la bacteria detiene su crecimiento. La velocidad de consumo tiene un comportamiento exponencial decreciente que denota su consumo por parte de la bacteria. Viene definida por S que es el sustrato en [g/L]. La constante $Y_{X/S}$ es el rendimiento del sustrato en la biomasa, parámetro que refleja una relación entre la biomasa y el sustrato consumido durante el crecimiento en [gdw/gS].

Todo el tema correspondiente al oxígeno en el biorreactor viene dado por las Ecuaciones 2-4, 2-5, 2-6 y 2-7. La variable más relevante en este trabajo es la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) la cual viene definida en la Ecuación 2-4, físicamente representa la velocidad en que se transfiere el oxígeno en fase gas a fase líquida para que la bacteria pueda consumirlo. Esta variable viene definida por una constante llamada, coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (KLa), la cual viene dada de la velocidad de giro y otros factores como el tamaño de las burbujas o la densidad del líquido. La ecuación viene definida por KLa el cual es el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno en [1/h], O_2^* que es el oxígeno en equilibrio en [g/L] y O_2 que es el oxígeno disuelto en el medio.

Otro suceso importante correspondiente al oxígeno y la célula es la velocidad con que se consume el oxígeno por parte de la célula, por ello la velocidad de consumo de oxígeno (OUR) viene dada por la Ecuación 2-5. Representa el oxígeno consumido por la bacteria que es usado tanto para su

crecimiento, mantenimiento como para la producción de metabolitos y estructuras celulares. Viene definida por μ que es la velocidad específica de crecimiento en [1/h], X que representa la biomasa en [g/L] y Y_{X/O_2} el rendimiento del oxígeno en la biomasa en [gdw/mgO₂].

Finalmente se define la tensión de oxígeno disuelto (TOD) en la Ecuación 2-7. La tensión de oxígeno disuelto (TOD) representa la cantidad de oxígeno disuelto en el medio líquido que se encuentra en el cultivo. La tensión de oxígeno disuelto (TOD) representa la velocidad de acumulación del oxígeno disuelto que depende del oxígeno transferido en fase gas a fase líquida y a la vez de la velocidad con que la bacteria consume el oxígeno disuelto, o sea es la diferencia entre lo que es la VTO y la OUR, como se aprecia en la Ecuación 2-6. La TOD se encuentra en [g/L] o [%].

2.2 Simulación del sistema mediante software

De gran importancia es realizar la modelación y simulación del sistema del biorreactor ya que de acuerdo a esto se podrá conocer su comportamiento, tener claridad de cómo evoluciona cada variable a lo largo del sistema y poder establecer una estrategia de control, también será necesario compararlo con una experiencia real. La simulación en cuestión tomo como base las ecuaciones presentadas anteriormente y se realizó en el software SIMULINK de MATLAB. El Software SIMULINK de MATLAB se basa en un entorno de diagramas de bloques para la simulación de sistemas y da la facilidad de obtener todo tipo de gráficas de ella, también un punto importante es que está estrechamente integrado al entorno de MATLAB, el cual es un potente software matemático basado en matrices que le dará la robustez necesaria a la simulación para su posterior análisis.

2.2.1 Diagramas de bloque en SIMULINK

La simulación del sistema fue realizada mediante SIMULINK de MATLAB. Es importante mencionar que para la correcta simulación debieron hacerse una serie de limitaciones forzando a la simulación a que no den valores negativos ya que son físicamente imposibles, sin embargo, la cantidad de limitaciones provocó un efecto negativo en las variables de interés generando cambios más forzados y bruscos a diferencia de lo que se espera teóricamente.

En la Figura 2-1 se puede ver el diagrama de bloques del sistema completo del biorreactor compuesto básicamente por tres subsistemas, el subsistema de consumo de sustrato y crecimiento de la bacteria (Figura 2-2), el subsistema de consumo de oxígeno (Figura 2-3) que contiene tanto la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) y la velocidad de consumo de oxígeno (OUR) (Figura 2-4 y 2-5 respectivamente) y finalmente el subsistema donde se realiza el cálculo de la Tensión de Oxígeno Disuelto (TOD).

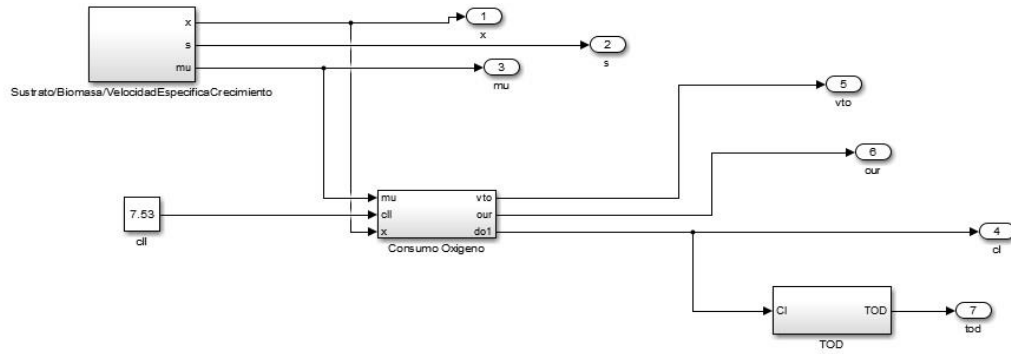


Figura 2-1: Diagrama de bloques en SIMULINK del sistema del biorreactor.

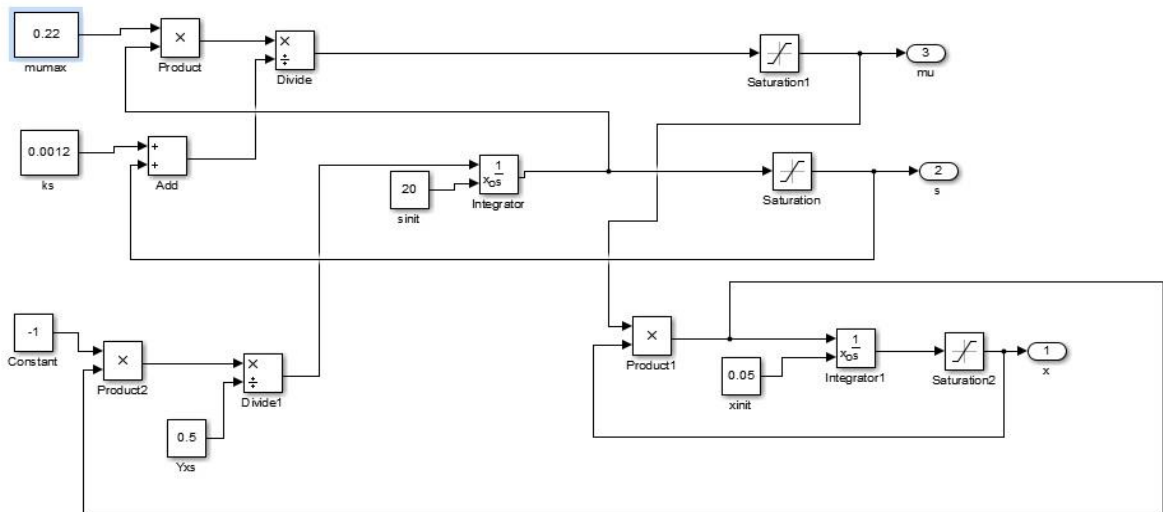


Figura 2-2: Bloque de simulación de simulación de consumo de sustrato, aumento de biomasa y velocidad específica de crecimiento.

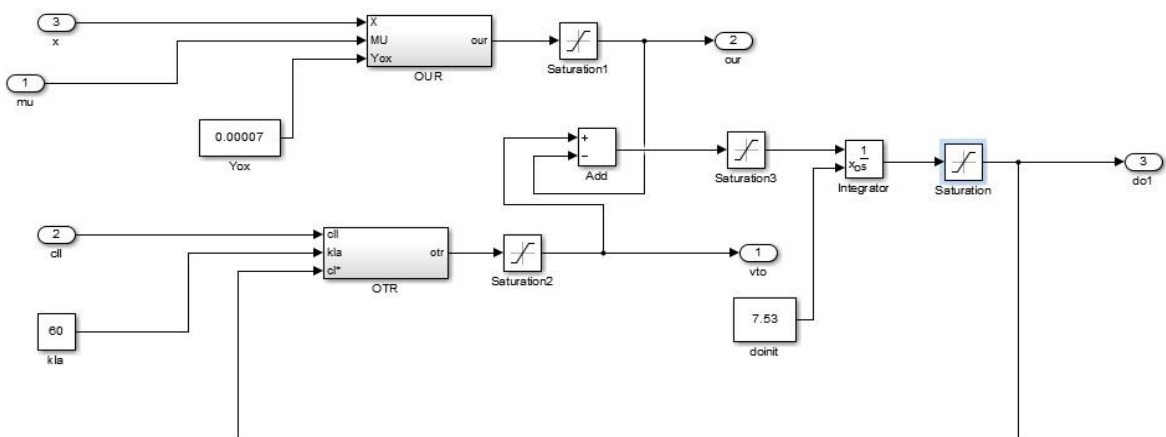


Figura 2-3: Diagrama de Bloque del consumo de oxígeno.

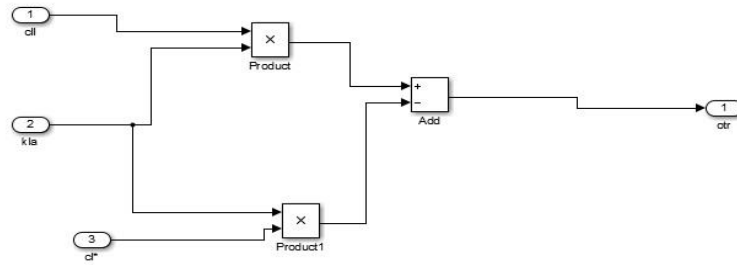


Figura 2-4: Diagrama de bloque de la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO).

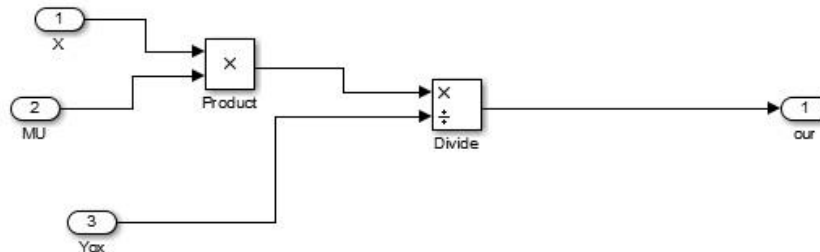


Figura 2-5: Diagrama de bloque de la velocidad de consumo de oxígeno (OUR).

Los resultados de la simulación tienen los comportamientos teóricos esperados. En la Figura 2-6 se puede ver que el aumento de biomasa (X) presenta un crecimiento exponencial hasta que se acaba el sustrato. En la Figura 2-7 se puede apreciar el consumo del sustrato que efectivamente coincide con el comportamiento esperado ya que representa un consumo exponencial decreciente. Las variables de interés como son la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) y la Tensión de Oxígeno Disuelto (TOD) se aprecian en las Figuras 2-8 y 2-9 respectivamente.

Como se sabe la VTO presenta un comportamiento inverso a la TOD ya que están estrechamente relacionadas, la VTO es máxima en el momento que la TOD es cero. La TOD representa la cantidad de oxígeno que hay disuelto en el biorreactor, en un principio las TOD disminuye ya que es consumida por el microorganismo hasta acabarse sin embargo cuando se acaba el sustrato y la bacteria cesa su crecimiento consecuentemente también termina el consumo de oxígeno de está volviendo la TOD a su valor máximo (debido a la constante inyección de oxígeno al medio).

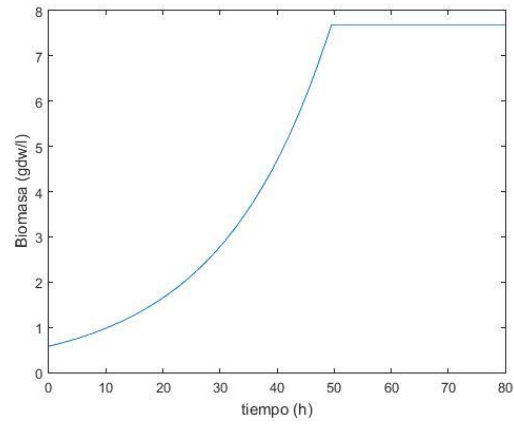


Figura 2-7: Curva que representa la cantidad de biomasa (X).

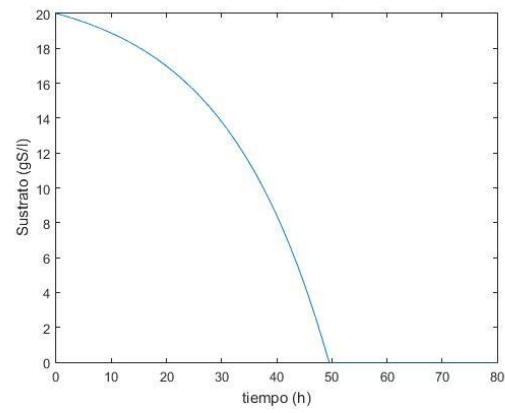


Figura 2-8: Curva de consumo de sustrato (S).

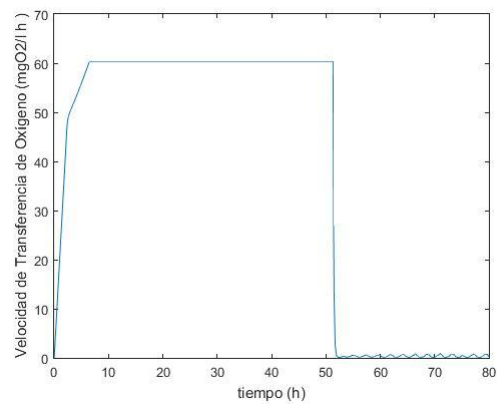


Figura 2-9: Velocidad de transferencia de oxígeno (VTO).

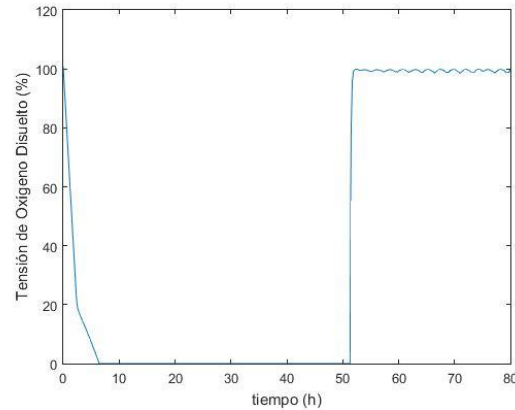


Figura 2-10: Tensión de oxígeno disuelto (TOD).

2.3 Variable de control: Velocidad de transferencia de oxígeno (VTO)

La variable de mayor interés y la que al final y al cabo es la variable a controlar es la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO). El conocimiento más profundo de esta variable con respecto a su concepto físico y conocimiento de las variables que la afectan genera una base sólida sobre cómo tratar el problema de control. Es de gran importancia adentrarse un poco más en cuáles son todas las variables que afectan a la VTO, sin bien no es estrictamente necesario conocerlas cada una con tanta profundidad si ayuda a comprender la complejidad de la variable.

El proceso es regido por el consumo de oxígeno de un microorganismo aeróbico por lo que existe la necesidad de ingresar constantemente una mezcla de gases de oxígeno y nitrógeno al biorreactor para satisfacer la demanda de la bacteria y ésta a su vez esta puede crecer y producir el alginato. El mayor problema en estos bioprocesos es la baja solubilidad del oxígeno en el medio, el microorganismo para consumir el oxígeno que ingresa en forma de gas necesita ser disuelto en el líquido volviéndose la velocidad con que se transfiere el oxígeno al medio una etapa limitante para el proceso. La Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) representa la velocidad con que se transfiere el oxígeno de fase gaseosa a fase líquida, esta transferencia es representada por una serie de etapas y depende en gran medida de la solubilidad del gas.

Para describir la solubilidad del oxígeno en un líquido es necesario hacer alusión a la Ley de Henry, la cual representa la solubilidad de los gases. La ley de Henry nos describe la solubilidad del oxígeno en el líquido en relación a la presión parcial de oxígeno en el gas en contacto con la fase líquida a una temperatura constante mediante la Ecuación 2-8.

$$C^* = \frac{P_{O_2}^{IN}}{H} \quad (2-8)$$

Donde C^* es la concentración de saturación en la solución, P_{O_2} es la presión parcial de oxígeno de ingreso en la fase gaseosa y H es la constante de Henry para el gas y la fase líquida a una determinada temperatura. Gracias a esta ecuación es posible conocer la máxima solubilidad del oxígeno en el fluido.

En la Ecuación 2-8 se encuentra la variable de concentración de oxígeno en equilibrio o de saturación (C^*) la cual está directamente relacionada con la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (OTR) según la Ecuación 2-9. Con estas dos relaciones definidas es posible ver claramente la influencia de una sobre otra, en esta relación se basa el sistema de control ya que nos dice que al aumentar la solubilidad del oxígeno gas en el líquido aumenta C^* lo que significa según la Ecuación 2-9 que aumenta la VTO, donde kla es el coeficiente de transferencia volumétrico y C es el oxígeno disuelto en el medio. La presión del oxígeno de entrada tiene una relación lineal con el porcentaje de apertura de válvulas de oxígeno ($O_2\%$) la cual es la variable manipulable en el sistema de control explicando teóricamente la relación entre la variable manipulable ($O_2\%$) y la variable a controlar (VTO) en el sistema de control planteado. Estas dos fórmulas parecieran demostrar una relación lineal entre la entrada y la salida sin embargo para comprobar lo contrario es necesario considerar que entran en juego más variables que afectan paralelamente la VTO a lo largo del cultivo como los son las etapas de crecimiento, el coeficiente de transferencia volumétrico, etc.

$$VTO = kla \cdot (C^* - C) \quad (2-9)$$

2.3.1 Etapas de la transferencia de oxígeno

En un proceso aeróbico como bien se mencionó anteriormente, el sistema debe tener la capacidad de transferir a la cantidad de oxígeno que el microorganismo solicita. El oxígeno que la célula puede consumir es el oxígeno disuelto en el líquido, lo cual debido a la baja solubilidad del oxígeno en el agua surge la necesidad de suplirlo mediante el ingreso continuo de oxígeno en fase gaseosa a lo largo del proceso, para ello físicamente se está transfiriendo el oxígeno desde la fase gaseosa hasta la fase líquida de forma continua.

La velocidad de transferencia de oxígeno es afectada por una serie de factores físicos y químicos que varían ciertos parámetros que la definen. La principal traba para la transferencia de oxígeno es el paso del oxígeno de la fase gas a la fase líquida en la que se encuentra el microorganismo. La transferencia de oxígeno puede representarse por una serie de etapas que ocurren desde el momento que el oxígeno en forma gaseosa para al líquido, las cuales son:

- Transporte de oxígeno desde la fase gaseosa hacia la interfase gas-líquido.
- Difusión de oxígeno a través de la interfase gas-líquido.
- Transporte del oxígeno a través de la fase líquida hasta los alrededores del microorganismo.
- Difusión del oxígeno en la interfase hasta los alrededores del microorganismo.
- Difusión intrapartícula (intracelular).
- Reacción bioquímica.

Sin embargo, se ha determinado que en este tipo de procesos la etapa limitante está dada por la difusión del oxígeno en la interfase gas-líquido. La Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) viene definida mediante la Ecuación 2-10 en la cual básicamente consta de tres fenómenos importantes como lo son un término referente a la transferencia a la fase líquida (Kl), un término

que caracteriza el área de la interfase (a) y una diferencia de concentraciones de oxígeno que representa una fuerza impulsora ($C^* - C$).

$$VTO = Kl \cdot a \cdot (C^* - C) \quad (2-10)$$

La transferencia de oxígeno viene principalmente siendo establecida por lo que es llamado transferencia de masa como se aprecia en la Figura 2-11, donde C_G representa la concentración en el gas, C_{GI} y C_{LI} las concentraciones de gas y líquido en la interfase respectivamente y C_L la concentración de oxígeno en el líquido. Este es fenómeno producido del movimiento de una sustancia desde el seno de una fase a la interfase, el éste sistema es el oxígeno el que necesita moverse desde fases gaseosas a líquidas para su consumo El flujo de masa ocurre cuando hay una diferencia en la concentración en un medio con respecto a la concentración en la interfase lo cual es denominado como una fuerza impulsora, donde en la Ecuación 2-10 viene siendo representada por la diferencia de Concentración de oxígeno en la interfase (C^*) y la concentración de oxígeno disuelto en el líquido (C). La transferencia de masa también lleva asociado parámetros que caracterizan las propiedades de la interfase como lo es el coeficiente de transferencia volumétrico (Kla), el cual está compuesto por dos variables como son el coeficiente de transferencia (Kl) y el área de interfase gas-líquido (a).

El coeficiente de transferencia de oxígeno (Kla) es uno de los parámetros que más se ve afectado por una mayor cantidad de variables, de hecho, como se presentó anteriormente los modelos del sistema del biorreactor consideraban esta variable como una constante. La Kla está definida por la combinación de los dos parámetros Transferencia de Oxígeno (kl) y el área de la interfase gas-líquido(a).

El término de transferencia de oxígeno (Kl) representa la velocidad a la que el oxígeno atraviesa la película interfase. Principalmente esta variable es dependiente del tamaño de la película interfacial ya que está relacionado directamente con la velocidad de mezclado (velocidad de agitación) y su aumento implica disminuir dicha película. Otro factor que afecta a éste parámetros es la viscosidad y la temperatura ya que éstos afectan la difusión, en resumidas cuentas, afectan directamente la velocidad con la cual el oxígeno se mueve en la película. Con respecto al Área de la Interfase Gas-Líquido (a), esta depende principalmente del diámetro de las burbujas y la velocidad de agitación. Tomando en consideración todo lo mencionado se ve que es la película líquida unida a la interfase la principal limitante para la transferencia de oxígeno.

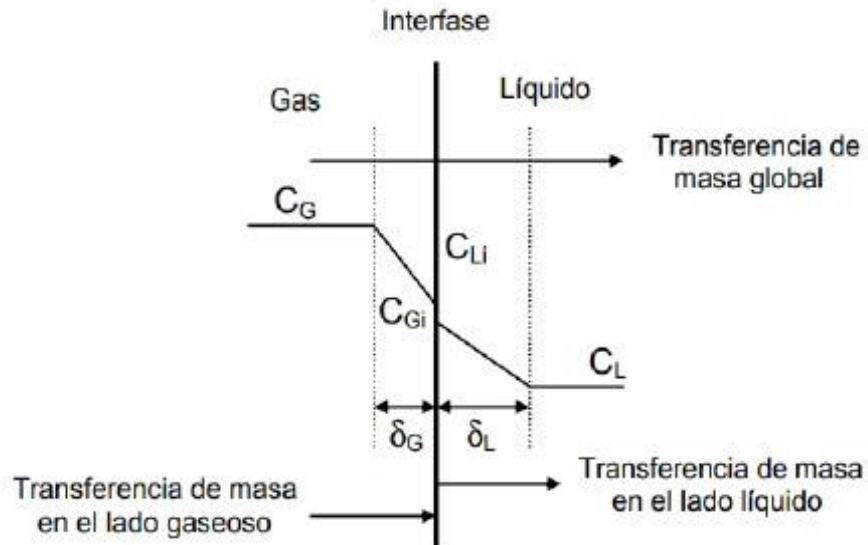


Figura 2-11: Transferencia de masa producida en la interfase gas-líquido [6].

2.3.2 Relación entre VTO y la etapa de crecimiento de la bacteria

Un aspecto realmente importante y que generó una de las primeras directrices del trabajo, fue la relación entre la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) y la fase de crecimiento en que se encontraba la bacteria. Como claramente no se tiene un sistema lineal (Figura 2-12) ya que a una entrada constante (20.9% de apertura de válvula de oxígeno) la variable a controlar presenta distintos comportamientos a lo largo del tiempo. Una manera de enfrentar el problema del sistema de control fue conocer el origen de la visualizada no linealidad, resultando que ésta está estrechamente relacionada con el crecimiento del microorganismo. El microorganismo como ya se ha mencionado parte con una cantidad de biomasa inicial y a lo largo del cultivo éste va consumiendo sustrato y oxígeno mientras crece hasta llegar al final del crecimiento (Figura 2-7), el cese de crecimiento viene dado por el completo consumo del sustrato (Figura 2-8). Por otra parte, mientras el microorganismo al ir creciendo consume oxígeno generando que el oxígeno que se encuentra disuelto en el medio se agote para luego en el momento que deje de consumir (cese de crecimiento) éste aumente nuevamente producto de la inyección constante de la mezcla de gases de entrada (Oxígeno y nitrógeno), este fenómeno se ve representado por la dinámica de la Tensión de Oxígeno Disuelto vista anteriormente (Figura 2-10). Toda esta dinámica del proceso que lleva la célula durante el cultivo afecta directamente a la VTO ya que esta se ve fuertemente influenciada por la cantidad de oxígeno disuelto (TOD) y esta a su vez está influenciada por el crecimiento de la bacteria.

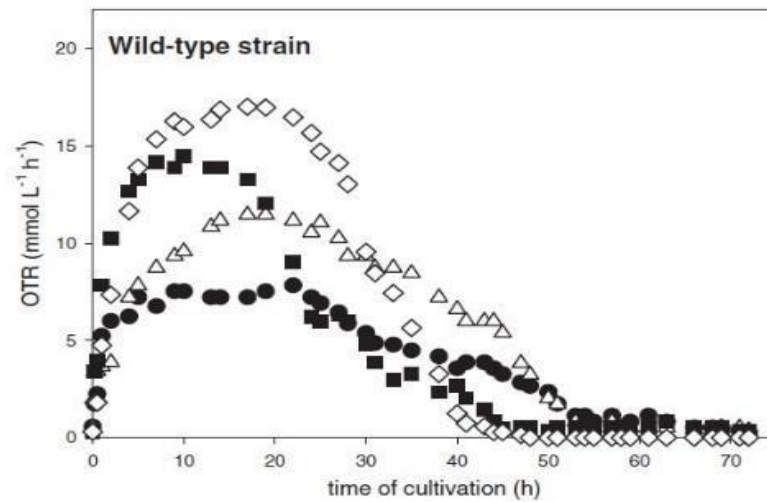


Figura 2-12: Dinámica nominal de la VTO frente a una entrada constante de 20.9% de oxígeno.

En la Figura 2-13 se puede ver claramente cómo cambia el comportamiento de la VTO frente a la etapa del cultivo que se encuentra, como ya se ha mencionado en el periodo de Latencia se presenta un crecimiento prácticamente nulo o muy pequeño y a su vez la tensión de oxígeno disuelto (TOD) es consumida en su totalidad lo cual hace que la VTO aumente durante este periodo, este fenómeno puede desprenderse de la Ecuación 2-10 ya que si se considera la variable K_{la} cercana a una constante y el oxígeno disuelto (C) disminuye según la ecuación la VTO aumenta.

Para el periodo de crecimiento exponencial el oxígeno disuelto (C) en el medio es prácticamente nulo provocando que la VTO se encuentre en su valor máximo igual a $VTO_{MAX} = K_{la} \cdot C^*$. Finalmente en el periodo de crecimiento estacionario caracterizado por el cese de crecimiento de la bacteria, el oxígeno disuelto llega a su máximo nuevamente porque se está ingresando constantemente oxígeno y la bacteria ya no está consumiendo, provocando que la diferencia de la Ecuación 2-10 entre el oxígeno en equilibrio (C^*) y el oxígeno disuelto (C) haga que la VTO disminuya hasta llegar a 0, considerando que la fórmula está limitada a 0 ya que por un tema físico esta no puede ser negativa.

Este comportamiento de la VTO hace estimar como una buena estrategia de control analizar el sistema por cada etapa de crecimiento por separado para compensar la no linealidad del sistema, éste enfoque será un punto de partida para el trabajo que se comentará más adelante sobre todo en el tema de la identificación del sistema y la sintonización del controlador PI, todo esto nace como una idea inicial. Otro punto de vista especulado es considerar el sistema como si estuviera sometido a perturbaciones muy grandes que hagan que la VTO baje simulando las etapas de crecimiento, visto el problema desde este punto de vista y aproximándolo a este comportamiento también existe la posibilidad de que solo con un sistema de control PI funcionará, pero todo queda como esbozos de lo que puede ser la estrategia de control y que ayudará más adelante a definir los experimentos a realizar.

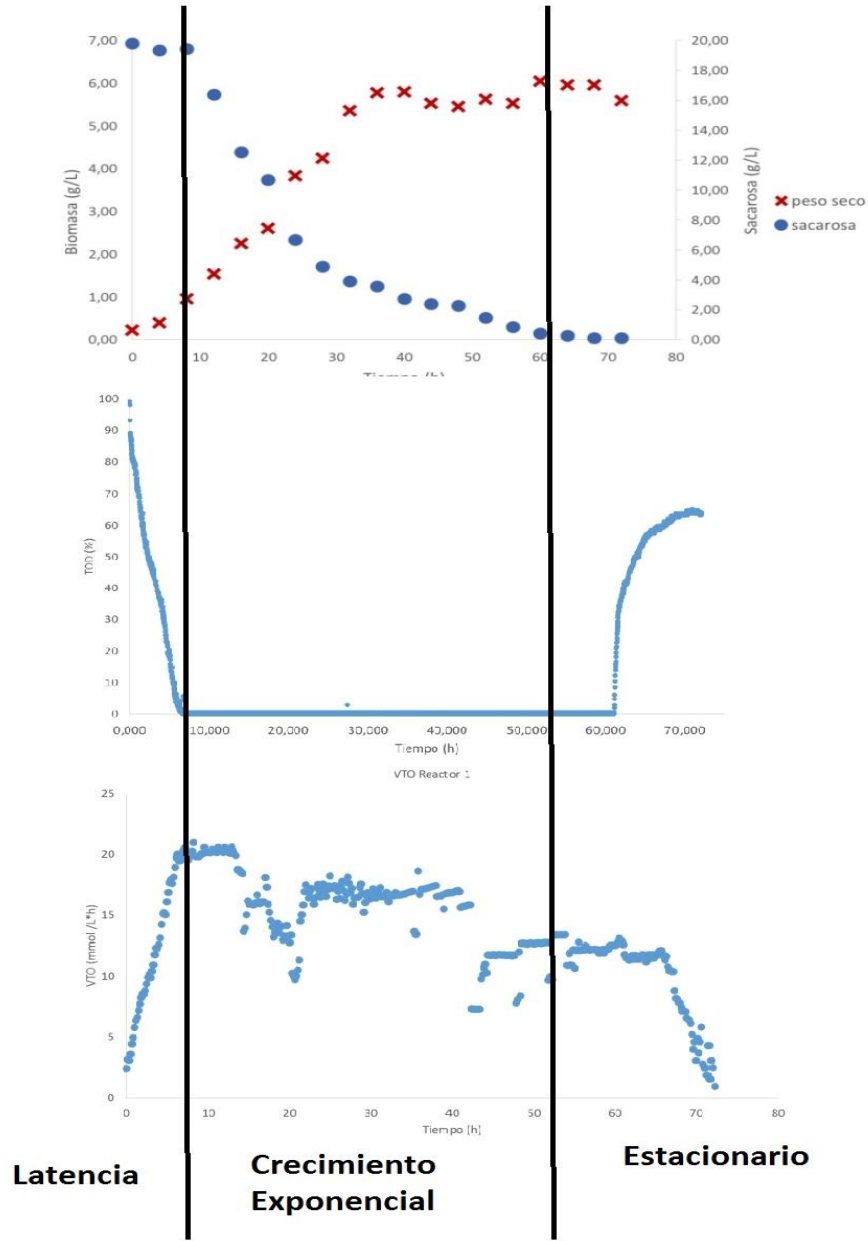


Figura 2-13: Relación entre la VTO y cada etapa de crecimiento bacterial con resultados experimentales reales.

3 Sistema de adquisición de datos

El sistema de adquisición de datos que se utilizó para las pruebas de este trabajo consta de una serie de sensores para cada variable y un sistema de adquisición de datos conectados a un computador. El sistema de adquisición de datos utilizado ya se encontraba disponible y en funcionamiento en la escuela de bioquímica, pero de igual manera está la necesidad de presentarlo para dar a conocer cómo se implementaron las pruebas de identificación y de control.

El sistema de adquisición de datos consta de una serie de sensores para cada variable de interés y una tarjeta de adquisición de datos, a la cual van conectados todos los sensores para luego ser procesados en un computador. El software utilizado es el programa LABVIEW y a lo largo de las distintas experiencias se fueron utilizando distintos programas de LABVIEW para llevarlos a cabo. A continuación, se presentarán en más detalle cada componente del sistema de adquisición de datos.

3.1 Dispositivo de E/S multifunción USB-6008

Tarjeta de adquisición de datos de la empresa National Instruments DAQ NI-6008-USB que provee conexión de 8 entradas analógicas (12 bits de resolución y una tasa de muestreo máxima de 10 kS/s), 2 canales de entradas/salidas (12 bits de resolución y tasa de muestreo máxima de 150 S/s) y 12 canales de entrada/salidas digitales en conjunto con un contador de 32 bits con una interfaz USB a máxima velocidad.



Figura 3-1: Tarjeta DAQ NI 6008-USB (fuente: www.ni.com)

3.2 Sensor dissolved oxygen transmitter Model 20-03 y oxyprobe.

Tanto el transmisor como el electrodo Oxyprobe son los encargados de realizar la medición de la TOD. Oxyprobe es un electrodo utilizado para medir el oxígeno disuelto en el biorreactor, éste consiste en un tubo de vidrio sellado en el extremo con un catalizador de Pt fusionado de alambre y entrega una señal dentro del rango de los 4mA a los 20 mA. El transmisor por otro lado es el encargado de adaptar la señal recibida del Oxyprobe para mostrar el valor sensado, este tiene la opción de entregar alarmas para dos valores de TOD o temperatura y muestra las medidas realizadas en un display digital escaladas en [ppm] o [%].



Figura 3-2: Dissolved oxygen transmitter Model 20-03 (fuente: www.broadleyjames.com).



Figura 3-3: Oxyprobe (fuente: www.broadleyjames.com).

3.3 Sensor de pH Ts-ALPHA pH800

Sensor encargado para la medición de pH. Entrega los datos mediante una señal de corriente entre el rango de 4mA a 20mA.

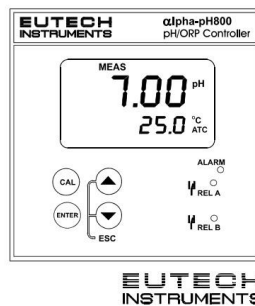


Figura 3-4: Sensor pH Ts-Alpha pH800 (fuente: www.metexcorporation.com).

3.4 Infrared gas analyzer Model 7500

Sensor analizador de gases infrarrojo de la empresa Teledyne Analytical Instruments, encargado de realizar las medidas de las concentraciones de CO₂, CO, CH₄, SO₂, O₂. La unidad de detector

infrarrojo utiliza un sensor de flujo de masa de alta sensibilidad. Este sensor será esencial para la medición indirecta de la VTO ya que se encarga de medir en gran medida los gases de salida del sistema. Los datos son entregados en el estándar de 4mA a 20mA.



Figura 3-5: Infrared gas analyzer Model 7500 (fuente: www.steamequipments.com).

3.5 Mass flow controllers Model SLA 5850

El controlador de flujo másico es el encargado de controlar el grado de apertura o cierre de las válvulas de oxígeno y nitrógeno respectivamente. Es un elastómero térmico digital para la medición y control del flujo másico el cual ofrece una gran flexibilidad y rendimiento. El flujo de gas medido abarca valores tan bajos como 3ccm y presenta una precisión para la medida y control del flujo de gas de hasta 0.06 ccm. Posee un rendimiento de respuesta rápido llegando a valores de tiempos de respuesta de 0.2 segundos. También presenta los valores de salida estándar para la industria de 0-5 Volts o 4-20 mA.



Figura 3-6: Controlador de flujo másico marca Brooks modelo SLA 5850 (fuente: www.brooks instruments.com).

3.6 Medición de la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO)

Actualmente no existe sensor capaz de medir la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) ya que no es una variable que exista de manera física sino más bien representa la velocidad con que se transfiere el oxígeno de fase gaseosa a fase líquida. Para obtener un valor en línea de la VTO se procedió a ocupar la Ecuación 3-1 [4], la cual se encuentra implementada en el software LABVIEW y calcula un valor de VTO instantáneo de acuerdo a los valores obtenidos del analizador de gases y los parámetros del cultivo.

La ecuación se basa en calcular la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) determinando cuanto oxígeno se disolvió en el líquido básicamente como una estimación de la diferencia entre el oxígeno que se inyecta al biorreactor y el que sale de él, considerando también la diferencia de dióxido de carbono ya que es una respiración celular, las condiciones del cultivo son representadas en las constantes de la ecuación.

$$VTO = \frac{M_{O_2} \cdot F_G^{IN}}{V_R \cdot V_M} \cdot \left(X_{O_2}^{IN} - X_{O_2}^{OUT} \cdot \left(\frac{1 - X_{O_2}^{IN} - X_{CO_2}^{IN}}{1 - X_{O_2}^{OUT} - X_{CO_2}^{OUT}} \right) \right) \quad (3-1)$$

Donde M_{O_2} es la masa molécula de oxígeno con un valor de 1 [g mmol⁻¹], F_G^{IN} es el flujo volumétrico de aire de entrada y tiene un valor de 90 [L h⁻¹], V_M es el volumen molar y tiene un valor de 0,024734 [L mol⁻¹], V_R es el volumen en que se trabaja tiene un valor inicial de 1,5 [L] pero se puede ir actualizando en la medida que el usuario saque muestras del cultivo, $X_{O_2}^{IN}$ es la fracción molar de gas de oxígeno de entrada en [mol mol⁻¹], $X_{O_2}^{OUT}$ es la fracción molar de gas de oxígeno de salida del fermentador en [mol mol⁻¹], $X_{CO_2}^{IN}$ es la fracción molar de dióxido de carbono de entrada en [mol mol⁻¹], $X_{CO_2}^{OUT}$ es la fracción molar de dióxido de carbono de salida del fermentador en [mol mol⁻¹]. El método de medición establecido fue validado para un cultivo en condiciones normal a una entrada constante de aire la cual es igual a una entrada constante de 20,9% de oxígeno como se ve en la Figura 3-7, se puede ver claramente el efecto de actualizar el volumen dentro de la aplicación producto de la extracción de muestras para la medida de la cantidad de biomasa ya que éste cambia bruscamente el valor de la VTO, por el hecho de que el cálculo de ésta involucra el volumen utilizado en el cultivo.

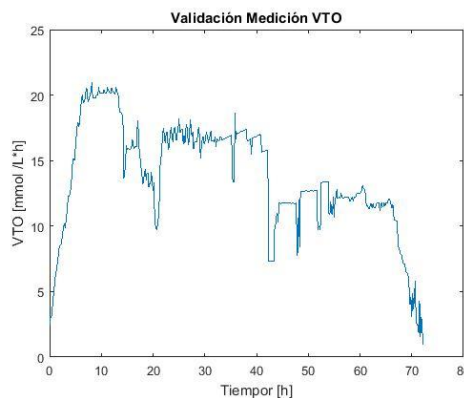


Figura 3-7: Validación de la medición de VTO para un cultivo de entrada constante de aire.

3.7 Aplicación LABVIEW

En la Figura 3-8 se puede ver el panel frontal de la aplicación desarrollada en LABVIEW. Como se mencionó anteriormente se trabajó sobre la aplicación diseñada en el trabajo de John Cardoch [2] agregando toda la programación necesaria para el cálculo de VTO y sus respectivas gráficas ya que los usuarios del laboratorio ya se encontraban familiarizada con ella. La aplicación consta básicamente de un panel donde se ve una figura del biorreactor donde se puede ver de manera amigable para el usuario cuáles son los porcentajes de oxígeno y nitrógeno que ingresan al biorreactor, así como también los valores de los gases de salida de estos con el propósito de un mejor monitoreo. Se encuentra para la manipulación todo lo del sistema de control, el cambio de parámetros, el valor de setpoint y cambio de modo manual a automático. Finalmente se tienen todas las gráficas de las variables de interés como es la VTO, los flujos de gases de entrada, la TOD, pH, RQ y CTO. Si bien dentro de la aplicación se realizaron cambios internos en la programación estos fueron mínimos en comparación a la aplicación que ya se encontraba disponible.

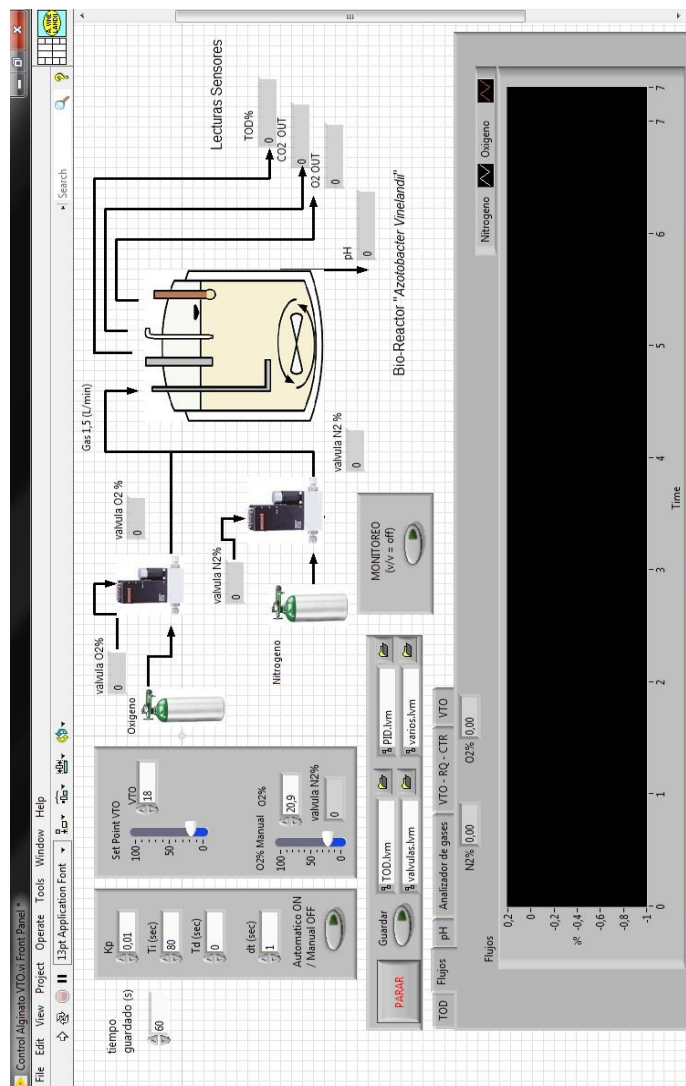


Figura 3-8: Aplicación para las experiencias de control sobre la VTO del software LABVIEW.

4 Identificación del Sistema

La siguiente etapa del trabajo consistió en empezar a realizar experimentos en el sistema real, producto de que las ecuaciones que se tienen del sistema no lo representan en su totalidad, ya que por ejemplo se considera el coeficiente de transferencia volumétrico ($k_L a$) como constante y no se visualizan los efectos que se producen frente a cambios continuos de la variable de entrada, nace la necesidad de identificar el sistema como punto de partida. Los principales objetivos de la experiencia de identificación del sistema para este trabajo radican en la necesidad de encontrar un modelo del sistema para la sintonización del controlador PID y también analizar, gracias a un modelo del sistema en cada etapa de crecimiento de la bacteria, si es necesaria una sintonización distinta para cada etapa lo que llevaría a un sistema de control de ganancias programadas (Gain Scheduling).

Un aspecto importante a tomar en cuenta para la identificación del sistema es la consideración de las etapas de crecimiento bacteriano, ya que la variable a controlar (velocidad de transferencia de oxígeno) presenta distintos comportamientos dependiendo de la etapa de crecimiento en que se encuentre la bacteria, esto en una primera instancia llevo a pensar que se podría encontrar una función de transferencia distinta en cada etapa que represente de mejor medida el comportamiento de la variable para una mejor sintonización del controlador PID. Como el sistema es claramente no lineal a lo largo de todo el proceso (72 horas) se establece como una mejor estrategia establecer ganancias del controlador PID para cada etapa del crecimiento buscando establecer un controlador por ganancia programada para controlar de manera eficiente el proceso.

4.1 Marco teórico de identificación de sistemas

El fin de la identificación de sistemas es encontrar una forma de representar el sistema mediante un modelo, el modelo es una representación simplificada del sistema que busca representar el comportamiento de éste. Se requiere de un modelo porque resulta útil para la simulación y el diseño de controladores (sintonía de controlador PID), la manera de obtener estos modelos es mediante la obtención de datos experimentales del sistema a controlar. Para la identificación de sistemas es necesario seguir una serie de procesos como lo son la planificación de experimentos, realización de ellos y registro de datos, selección del tipo de modelo y validación del modelo.

Para la identificación del sistema es necesario la recolección de datos de entrada y salida de las variables de interés mediante una señal de excitación planeada, para éste trabajo se ocupara una señal PRBS (Pseudo Random Binary Sequence) y el software utilizado será MATLAB más específicamente el System Identification Toolbox Ident, la cual es una herramienta especializada para identificación de sistemas que mediante el ingreso de variables medidas de entrada y salida éste es capaz de entregar una gran cantidad de tipos de modelos a elección tanto en el dominio del tiempo como de la frecuencia.

4.1.1 Señal de excitación Pseudo Random Binary Sequence (PRBS)

El primer paso para la identificación de sistemas es la elección del tipo de entrada a excitar al sistema dentro de la gran cantidad de elecciones se encuentran las Random Binary, Pseudo Random Binary Sequence (PRBS), escalones/pulsos múltiples, senoidales, etc. Para este trabajo se utilizará una señal PRBS ya que es una de las señales más utilizadas en identificación de sistemas y que data resultados satisfactorios en todo tipo de sistemas.

La señal PRBS básicamente es una señal de pulsos rectangulares de anchos variables (pseudo aleatorios), que se caracteriza por tener dos valores o niveles lógicos 0 y 1 pero los cuáles puede ser escalados a dos valores arbitrarios según sea necesario, el ejemplo de esta señal se puede ver en la Figura 4-1. Otra característica importante de esta señal es que es periódica, determinística y que posee principalmente propiedades similares al ruido blanco (contenido muy rico en frecuencias).

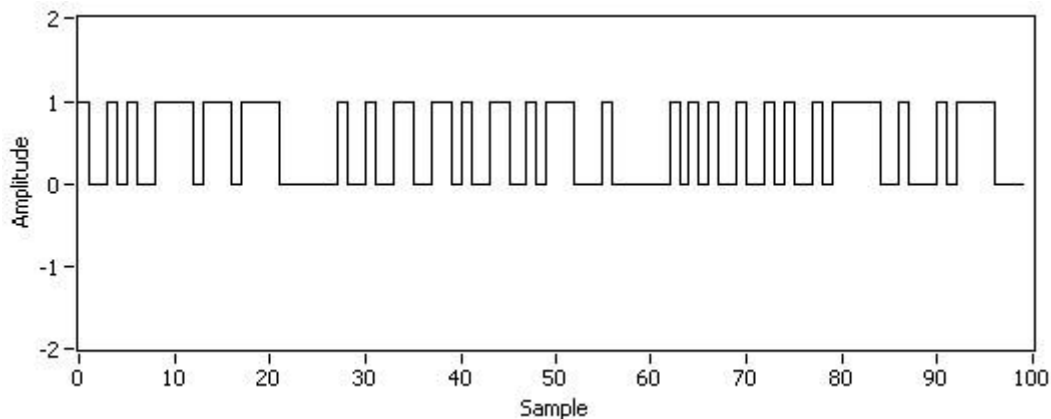


Figura 4-1: Ejemplo de señal PRBS (fuente: www.ni.com).

La señal PRBS se genera mediante registros de desplazamiento con retroalimentación y una suma de módulo 2 como se ve en la figura 4-2. A cada periodo de reloj los registros de desplazamiento van moviendo los dígitos a la salida y a su vez se va produciendo la operación XOR con los dígitos correspondientes para generar un nuevo dígito a la entrada del primer registro, aquí se genera la pseudo aleatoriedad de la señal.

Las propiedades de la PRBS vienen dadas tanto por el periodo del reloj, como por la cantidad de registros que se utilizan para generarla. La señal PRBS es generada por una serie de registros de

desplazamiento, sin embargo la teoría detrás de éstos proviene de la Ecuación 4-1 (donde $rem(x,2)$ es el resto de la división de x por 2), las posiciones de los valores que se les aplica la suma de módulo 2 vienen dados por la Tabla 4-1 donde se retratan cuáles son los coeficientes a_k que deberían tomar el valor 1 (los demás toman valor de 0) para que se obtenga una señal de Máxima Longitud (Maximun Lenght PRBS) para que posea las propiedades de ruido blanco tan deseadas.

$$u(n) = rem(a_1 \cdot u(n-1) + \dots + a_k \cdot (n-k), 2) \tag{4-1}$$

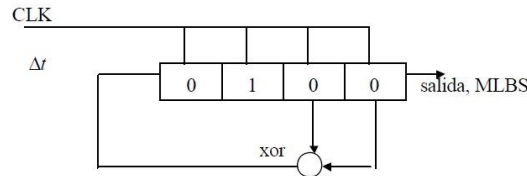


Figura 4-2: Generación de PRBS mediante 4 registros de desplazamiento.

Número de registros	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Longitud de la secuencia	3	7	15	31	63	127	255	511	1023
Bits sumados	1,2	1,3	3,4	3,5	5,6	4,7	2,8	5,9	7,10

Figura 4-3: Tabla para la generación de una PRBS.

Tabla 4-1: Coeficientes para generación de una señal PRBS.

Orden k	$M=2^N-1$	$A_k=1$, para k
2	3	1, 2
3	7	2, 3
4	15	1, 4
5	31	2, 5
6	63	1, 6

Las señales PRBS vienen definidas por una serie de parámetros que son importantes considerar a la hora de diseñar estas señales para los experimentos de identificación, éstos son necesarios adecuarlos de acuerdo a las dinámicas del sistema a tratar. El primer parámetro de importancia es la longitud de la secuencia (M), la cual como bien lo dice su nombre da el largo de la secuencia generada, el periodo máximo puede obtenerse mediante $M=2^{(N-1)}$, donde N es el número de celdas del registro de desplazamiento como puede verse en la Ecuación 4-2.

Otro aspecto importante a considerar es el periodo de conmutación del reloj (Δ) ya que este representa el periodo en el cual se va generando la PRBS., cada cierto periodo los registros de desplazamiento mueven los dígitos a su derecha generando en cada periodo un valor nuevo para la PRBS por ende el periodo de conmutación del reloj directamente nos define el ancho máximo y mínimo de la señal PRBS como se puede ver en la Ecuación 4-3 y 4-4, del mismo modo en conjunto con la longitud máxima de la secuencia (M) generan el periodo de la PRBS (Ecuación 4-5) la cual es el periodo de la PRBS, si bien es una señal supuestamente periódica esta se repite cada cierto periodo, por ello es necesario que se cumpla la condición de longitud máxima de secuencia (M) para que el periodo sea lo suficientemente grande para lograr los objetivos de la señal PRBS:

Un aspecto fundamental a la hora de diseñar una señal PRBS es la elección de la amplitud de esta, en teoría la señal PRBS entrega solo valores de 0 o 1 sin embargo estos pueden ser escalados mediante simples operaciones matemáticas a valores deseados como entrada al sistema, para la elección correcta de este parámetro generalmente es deseado seleccionar un rango de valores acorde a los que se tienen normalmente como entrada al sistema en cuestión.

Finalmente, el último parámetro de interés es el número de celdas del registro de desplazamiento (N), éste es un término fundamental para la señal PRBS ya que la cantidad de registros de desplazamiento ocupados para la generación de la señal PRBS prácticamente define una serie de características importantes de la señal, como lo es la longitud de la secuencia (M) y el máximo ancho de pulso.

$$M = 2^N - 1 \quad (4-2)$$

$$\text{Ancho M\u00ednimo del pulso} = \Delta t \quad (4-3)$$

$$\text{Ancho M\u00e1ximo del pulso} = N \cdot \Delta t \quad (4-4)$$

$$T_{PRBS} = M \cdot \Delta t \quad (4-5)$$

4.2 Experimentos de Identificación del sistema

4.2.1 Primera Experiencia de identificación del sistema

Para la primera experiencia de identificación del sistema fue necesario diseñar la señal PRBS de manera bien cualitativa ya que no se conocían de manera profunda y necesaria la dinámica del sistema, sin embargo, se pudo diseñar una señal tomando referencia trabajos anteriores y el conocimiento de las ecuaciones que rigen del sistema.

Para el diseño de la señal PRBS en esta primera experiencia se seleccionaron los parámetros que se muestran en la Tabla 4-2. Como se mencionó anteriormente para un diseño óptimo se necesita conocer las dinámicas del sistema como lo son los tiempos de asentamiento y frecuencias de interés, pero como éste no es el caso y no se tenía conocimiento de ellas sumado a que no se permitió la posibilidad de hacer pruebas tipo escalón fue necesario considerar una serie de criterios. Para las amplitudes máximas y mínimas de la PRBS se consideraron aperturas máximas y mínimas de las válvulas de oxígeno de 5% y 18% respectivamente considerando que es un rango apreciable para ver cambios y que en experiencias de control sobre la TOD [2] datan aperturas de válvulas de hasta 70%. Para el ancho máximo y mínimo de los pulsos la literatura menciona la necesidad de observar tiempos de asentamiento del sistema, como el proceso tiene duración de 72 horas se consideró un ancho máximo correcto de alrededor de 15 minutos y un ancho mínimo de 2 minutos tomando en consideración respuestas escalón sobre la TOD frente a una entrada de oxígeno provenientes de trabajos anteriores sobre control de TOD [2] considerando que su dinámica no es muy distinta. Como la señal PRBS es periódica, para lograr una buena estimación del sistema la longitud máxima de la secuencia debería ser lo más grande posible, éste valor se calcula en la Ecuación 4-3 con los datos ya elegidos dando un $M=255$, o sea se necesitan aplicar 255 secuencias de la PRBS al sistema lo cual considerando el tiempo de reloj establecido se tendría un tiempo de 510 [minutos], lo cual es sobrepasado de sobremanera ya que el cultivo tiene duración de 72 [horas].

Tabla 4-2: Parámetros de diseño de la primera señal PRBS.

Parámetro	Valor
Amplitud Máxima	18%
Amplitud Mínima	5%
Δt	2 [minutos]
N	8
M	255
Ancho de Pulso Mínimo	2 [minutos]
Ancho de Pulso Máximo	16 [minutos]
TPRBS	510 [minutos]

Los resultados obtenidos de esta primera experiencia de identificación del sistema se pueden ver en la Figura 4-4 y 4-5. Como se puede ver no se obtuvieron los resultados deseados ya se presentaron valores extremadamente altos de la VTO, los valores nominales de VTO deberían rondar el orden de los 20 [$\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$] y en la experiencia con la primera PRBS se obtuvieron

valores que rondaban sobre los $200 \text{ [mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}]$ y $-200 \text{ [mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}]$ lo que provocó que los datos obtenidos no sirvieran para una identificación del sistema.

En la Figura 4-4 se puede observar la señal PRBS ocupada como entrada de porcentaje de oxígeno de las válvulas a lo largo de las 72 horas que duraba el cultivo y en la Figura 4-5 se ve la respuesta de la variable de interés del sistema o sea la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) a esta señal de excitación. Los resultados erróneos hacen suponer que fue producto de que los anchos de pulso mínimos de la señal PRBS eran muy pequeños (demasiado rápidos) por lo que se consideró necesario un nuevo diseño de PRBS tomando en consideración estos resultados. Es importante a destacar que a primera vista no se ve tan diferente el efecto de cambiar de etapa de crecimiento en la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO), sin embargo, surgió la necesidad de hacer otra prueba donde se obtuvieran resultados más convincentes en términos de VTO.

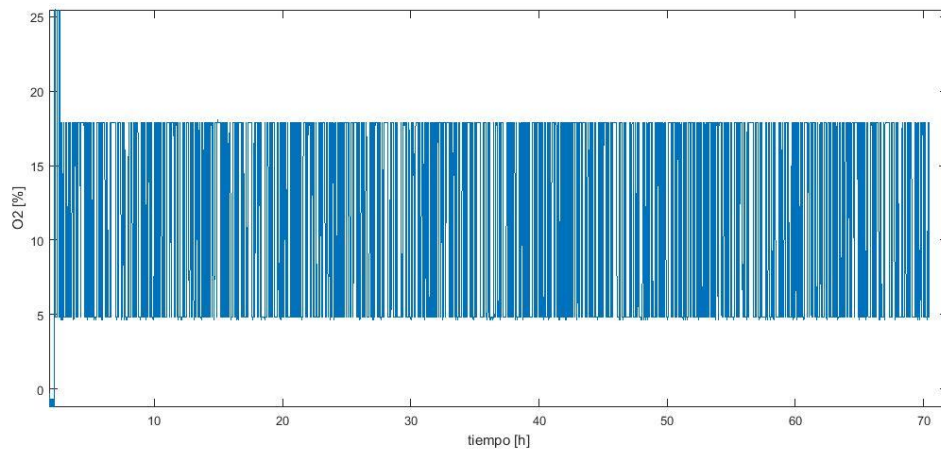


Figura 4-4: Señal PRBS de la primera experiencia de identificación del sistema.

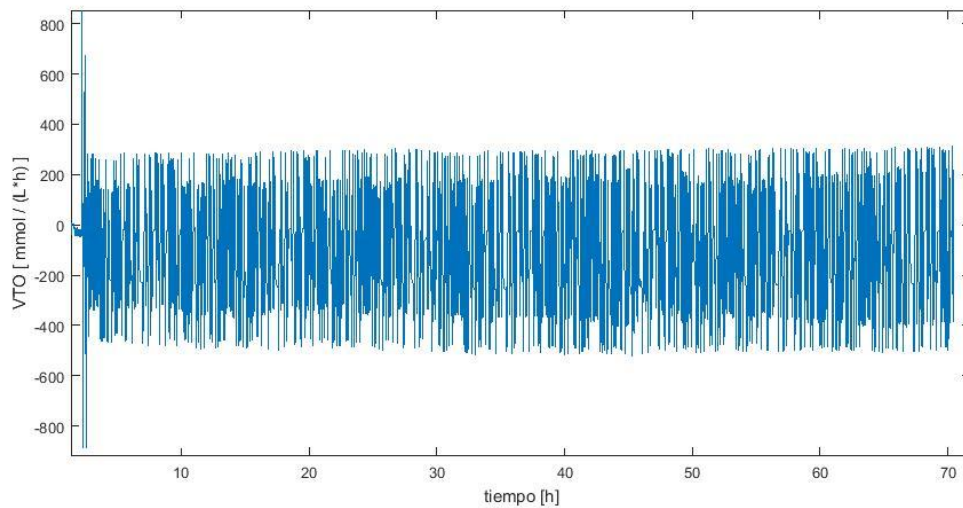


Figura 4-5: Velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) obtenida en experiencia de identificación de sistema.

4.2.2 Segunda experiencia de identificación del sistema

La segunda experiencia de identificación de sistema tomó en consideración los valores altos de la VTO, estos valores se deben al efecto del analizador de gases. La VTO es medida mediante un cálculo instantáneo que hace el programa LABVIEW de acuerdo a la medición de los gases de salida, normalmente se espera que a una cierta entrada (porcentaje de apertura de válvula de oxígeno) el oxígeno de salida debiera ser levemente menor al valor de entrada siendo la diferencia entre ambos una estimación de lo que consume el microorganismo, tomando en consideración esto, cuando hay cambios constantes y rápidos no se tiene esta relación ya que físicamente el analizador de gases va midiendo el gas de oxígeno que lentamente va saliendo del fermentador, de modo ilustrativo si se considera una entrada de 5% de oxígeno que se cambia a 18% producto de la PRBS el analizador de gases en un principio marcará un valor cercano por debajo al 5% pero luego del cambio de entrada este lentamente va aumentando de 5% hasta 18% lo que genera según la Ecuación 3-1 una diferencia muy grande entre el oxígeno de entrada y salida provocando los valores altos de VTO.

Según pruebas realizadas con el analizador de gases para ver su respuesta y los mismos datos recabados en la primera experiencia de identificación del sistema se estimó que la medición de oxígeno de salida se demora alrededor de 7 minutos en estabilizarse luego de un cambio en el oxígeno de entrada, esto será la principal variable a considerar para la segunda señal PRBS diseñada.

Para la elección de los nuevos parámetros de la señal PRBS fue necesario más que nada cambiar el ancho mínimo del pulso dado por el Δt , considerando que cambios muy rápidos como en la primera experiencia darían resultados erróneos. Para la selección del nuevo ancho mínimo del pulso se tomó en consideración la respuesta ya mencionada del analizador de gases, para ello el mínimo periodo de tiempo en que puede haber un cambio en la entrada debe ser igual o mayor a los 7 minutos que demora en estabilizar el analizador de gases, por ello se consideró en conjunto a usuarios especializados en los cultivos que el ancho mínimo debería ser de 7 minutos.

Para el ancho máximo como necesariamente por la manera en que se genera la PRBS debe ser un múltiplo de 7, se estimó que tiempos mayores a 30 minutos de duración harían perder el sentido de la identificación del sistema por ser muy largos. Para los valores máximos y mínimos de la señal de entrada se estimaron que serían de 10% y 18% (% de oxígeno) considerando que son valores a los que se trabajarán normalmente y no presentarían valores excesivos de TOD, (condición indeseada). Finalmente actualizando los parámetros de la PRBS en base a las restricciones del sistema y al resultado de la primera experiencia los valores finales se pueden ver en la Tabla 4-3.

Tabla 4-3: Parámetros de diseño de la segunda señal PRBS.

Parámetro	Valor
Amplitud Máxima	18%
Amplitud Mínima	10%
Ancho de Pulso Mínimo	7 [minutos]
Ancho de Pulso Máximo	28 [minutos]

4.2.3 Resultados de la segunda experiencia de identificación del sistema

Los resultados obtenidos con la segunda experiencia de identificación mediante una señal PRBS fueron más convincentes que los anteriores. Aún se presentan valores altos de VTO, pero esto es producto del efecto del cálculo de la VTO y el analizador de gases explicado anteriormente, sin embargo, ahora se ve claramente que luego de un tiempo el valor de la VTO se estabiliza en un valor considerablemente coherente con lo esperado gracias a los cambios realizados en la PRBS diseñada.

Se puede ver que los resultados tanto obtenidos para periodo de latencia en la Figura 4-6 como los del periodo de crecimiento exponencial en la Figura 4-7 y los del periodo de crecimiento estacionario en la Figura 4-8 presentan dinámicas similares, o sea un aumento grande de la VTO frente a un cambio de entrada y luego se estabilizan en un valor pequeño. Como punto importante a mencionar es que se tomó como periodo de latencia los valores dentro del rango de las 0 – 6 [hrs], para periodo de crecimiento exponencial de 6 – 45 [hrs] y periodo estacionario de 45-72 [hrs]. A pesar de la similitud de la respuesta del sistema en cada etapa de crecimiento se analizará en el software IDENT por cada etapa para posteriormente concluir que grado de similitud hay entre cada etapa o si hay diferencias significativas que lleven a tratar el sistema de control por cada etapa en separado.

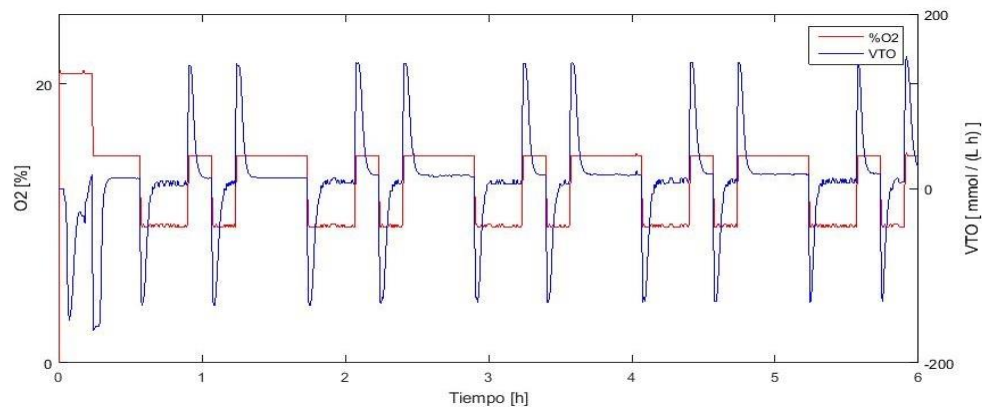


Figura 4-7: Resultado de la segunda experiencia de identificación del sistema para el periodo de latencia.

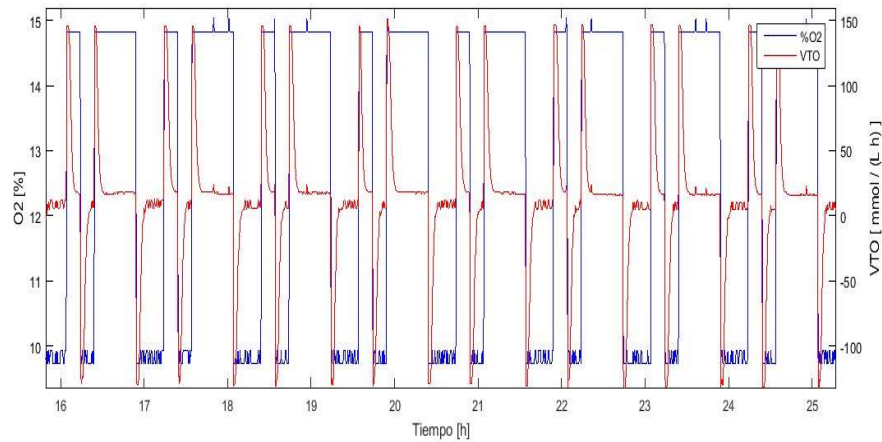


Figura 4-8: Extracto del resultado de la identificación del sistema para el periodo de crecimiento exponencial.

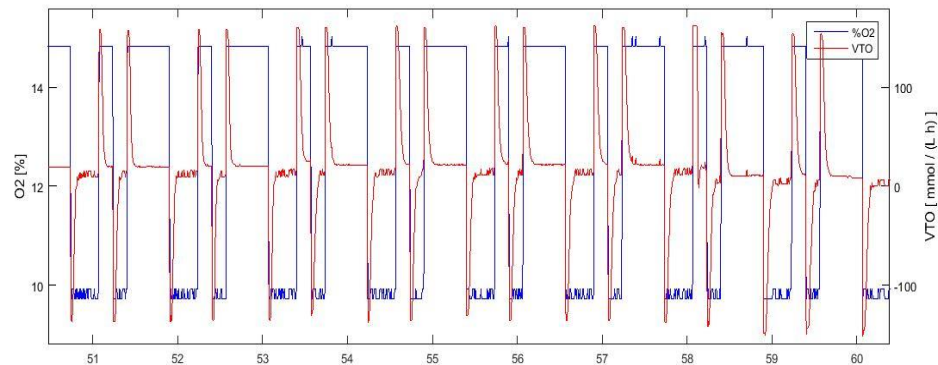


Figura 4-9: Extracto de la identificación del sistema para el periodo de crecimiento estacionario.

4.3 Identificación del sistema mediante System Identification Toolbox

Para la identificación de sistemas se utilizará la herramienta System Identification Toolbox Ident del software MATLAB utilizando los datos recolectados de la segunda experiencia con señal PRBS. El System Identification Toolbox de MATLAB (Figura 4-9) básicamente construye matemáticamente modelos dinámicos de sistemas gracias a datos de entrada y salida, permitiendo obtener una gran variedad de tipos de modelos como los son en el dominio del tiempo, el dominio de la frecuencia, funciones de transferencia, espacios de estados, etc. Para este trabajo se ingresó a MATLAB los datos de entrada ($O_2\%$) y salida (VTO) en conjunto con el tiempo de muestreo utilizado (30 segundos) y el tipo de modelo elegido es de una función de transferencia ya que se considera el más adecuado.

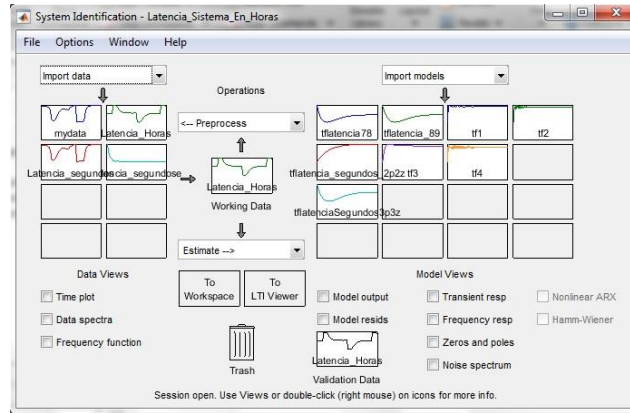


Figura 4-9: System Identification Toolbox de MATLAB

Los modelos fueron estimados mediante el System Identification Toolbox eligiendo dentro del programa el tipo de modelo “Transfer Function Model”, ingresando los datos de entrada (O2%) y salida (VTO) con un periodo de muestreo de 30 segundos, por ello las funciones de transferencias estarán referidas en segundos. Para encontrar la función de transferencia óptima se fueron estimando distintas combinaciones de polos y ceros buscando las que presentarán mayor porcentaje de exactitud. Como punto inicial se quiso encontrar una función de transferencia para cada etapa con el fin de encontrar un conjunto de parámetros específicos para el mejor rendimiento del control PID para cada etapa considerando que la variable a controlar presenta comportamientos diferentes en las distintas etapas de crecimiento bacteriano. Se consideraron los rangos de periodo de latencia los datos entre el periodo de las 0 – 6 [hrs], para periodo exponencial entre 6 – 45 [hrs] y para periodo de crecimiento estacionario entre 45 -72 [hrs], sin embargo, para la identificación del modelo se utilizaron datos considerando cierto margen de error producto que estos rangos pueden variar de cultivo a cultivo.

4.3.1 Modelo estimado para periodo de latencia

Para el periodo de Latencia se consideraron datos entre las 0 y 6 [hrs] dando un margen de error con el objetivo de no tomar datos de otra etapa de crecimiento. La función de transferencia estimada se puede ver en la Ecuación 4-6, la cual es una función de transferencia con 2 polos y dos ceros que se pueden ver en el diagrama de la Figura 4-10. La posición de los polos son $p_1 = -40.6950 + 25.37551i$ y $p_2 = -40.6950 - 25.37551i$ mientras que el de los ceros son $z_1 = -107.4320$ y $z_2 = -0.7206$, debido a que las partes reales de los polos son negativos la función de transferencia es estable. La Función de transferencia estimada presenta un 87,92% de exactitud (Figura 4-11) según la comparación que realiza el propio Ident. La respuesta escalón y diagrama de Bode se pueden ver en las Figura 4-12 y 4-13 respectivamente, las cuáles serán comentadas más adelante en el análisis de resultados y la sintonización respectivamente.

$$G_{latencia}(s) = \frac{26.75 s^2 + 2892 + 2070}{s^2 + 81.39 s + 2300} \quad (4-6)$$

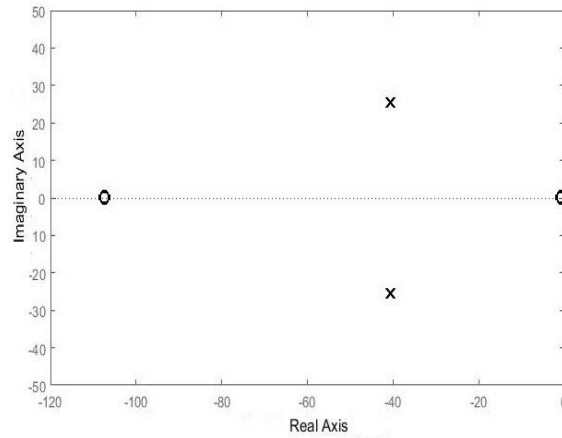


Figura 4-10: Diagrama de polos y ceros de la función de transferencia estimada para el periodo de latencia.

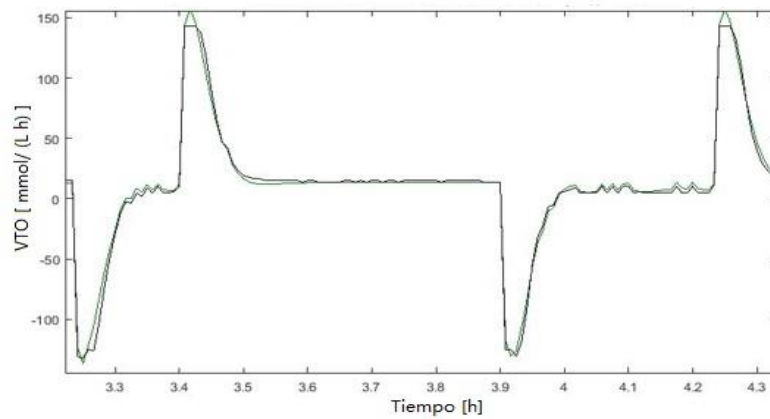


Figura 4-11: Comparación del modelo estimado con datos reales con 89,22% de exactitud en periodo de latencia.

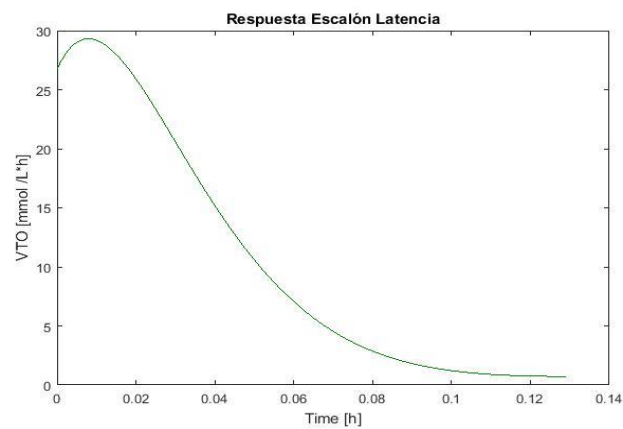


Figura 4-12: Respuesta escalón de la función de transferencia para periodo de latencia.

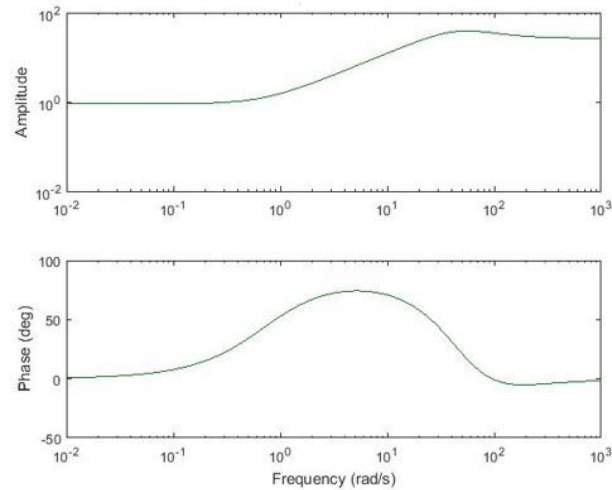
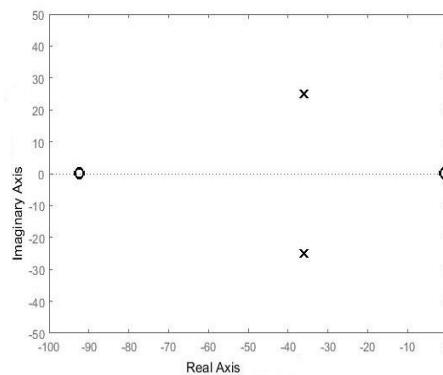


Figura 4-13: Diagrama de bode para función de transferencia en periodo de latencia.

4.3.2 Modelo estimado para periodo de crecimiento exponencial

Para el modelo de la etapa de crecimiento exponencial se utilizaron datos entre los tiempos comprendido en el intervalo de 6 – 45 [hrs] considerando cierto margen de error. Al igual que en la etapa anterior se obtuvo una función de transferencia de 2 polos y 2 ceros como se ve en la Ecuación 4-7, los polos complejos conjugados son $p_1 = -36.07 + 24.8989i$ y $p_2 = -36.07 - 24.8989i$ mientras que los ceros tienen las posiciones de $z_1 = -92.4489$ y $z_2 = -0.6904$ como se ve en el diagrama de polos y ceros en la Figura 4-14, por ello claramente se ve que la función de transferencia es estable al no poseer polos positivos. Es importante mencionar que en esta etapa considerando el efecto de las curvas de crecimiento donde se encuentre, su efecto en la VTO no debería ser mucho diferenciándose en gran medida de las otras dos etapas debido a que aquí la VTO en un cultivo normal es máxima ya que el oxígeno disuelto se debiera encontrar en cero. La estimación produjo un porcentaje de 87,92% de exactitud como se ve en la Figura 4-15 y el diagrama de Bode se ve en la Figura 4-16.

$$G_{\text{exponencial}}(s) = \frac{28.86 s^2 + 2688 s + 1842}{s^2 + 72.14 s + 1921} \quad (4-7)$$



4-14: Diagrama de polos y ceros de la función de transferencia en periodo de crecimiento exponencial.

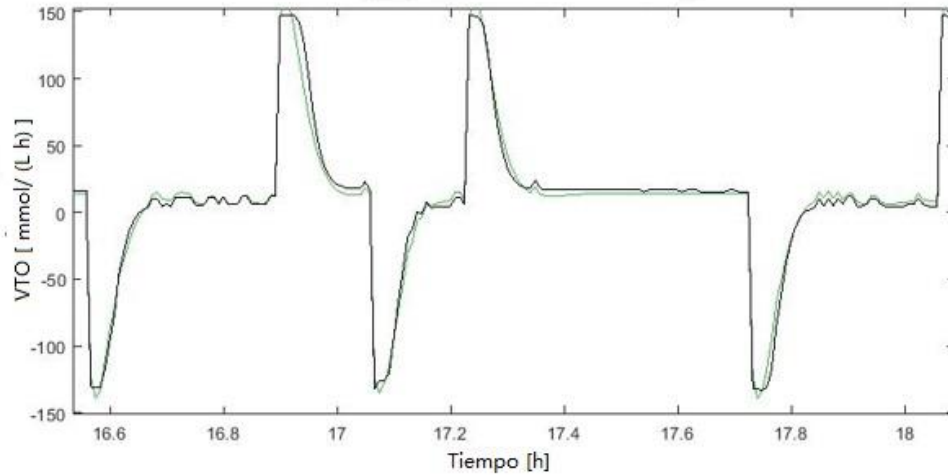


Figura 4-15: Comparación del modelo estimado con datos reales con 87,92% de exactitud en etapa de crecimiento exponencial.

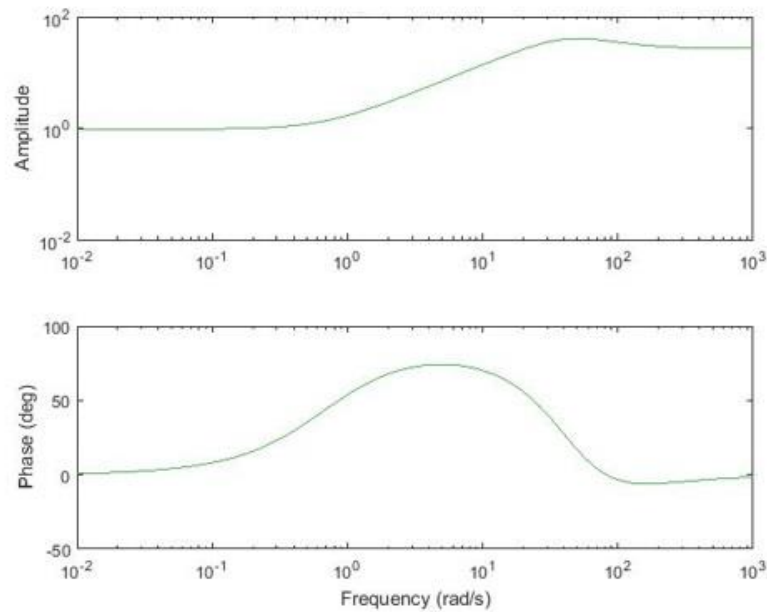


Figura 4-16: Diagrama de bode de la función de transferencia estimada en periodo de crecimiento exponencial.

4.3.3 Modelo estimado para periodo de crecimiento estacionario

Al igual que en los periodos anteriores para la estimación del modelo se usaron datos en este caso dentro del periodo de las 45 – 72 [hrs]. Se obtuvo una función de transferencia de 2 polos y 2 ceros como se puede ver en la Ecuación 4-8 y la Figura 4-17, donde los polos son $p_1 = -33.54 + 23.4961i$ y $p_2 = -33.54 - 23.4961i$ mientras que los ceros son $z_1 = -93.6322$ y $z_2 = -0.4793$. La función estimada tiene una precisión de 85,13% como se ve en la Figura 4-18, para lo cual se comparan a las mismas

entradas el resultado real con el de la función de transferencia estimada, finalmente el diagrama de Bode se muestra en la Figura 4-19.

$$G_{\text{estacionario}}(s) = \frac{28.7 s^2 + 2701 s + 1288}{s^2 + 67.08 s + 1677} \quad (4-8)$$

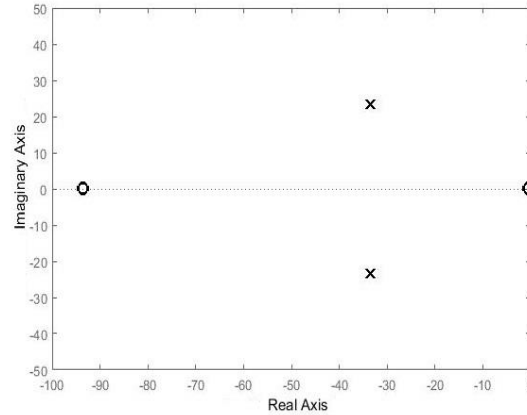


Figura 4-17: Diagrama de polos y ceros de la función de transferencia estimada para periodo de crecimiento estacionario.

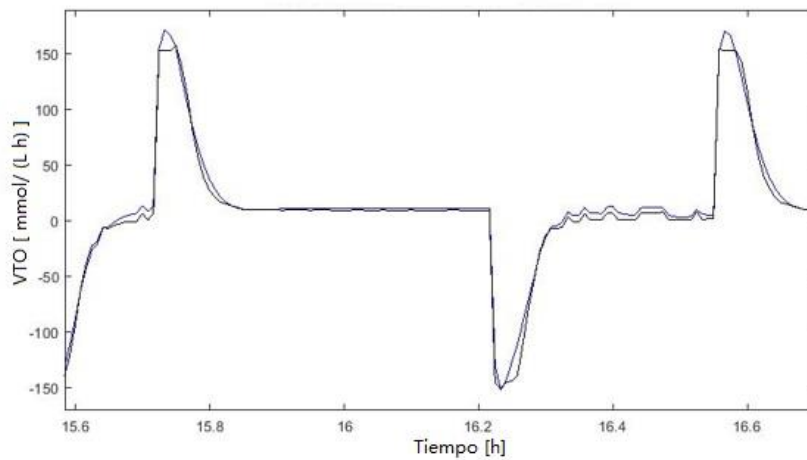


Figura 4-18: Comparación de la función de transferencia estimada con datos reales con una exactitud de 85,13% en periodo de crecimiento estacionario.

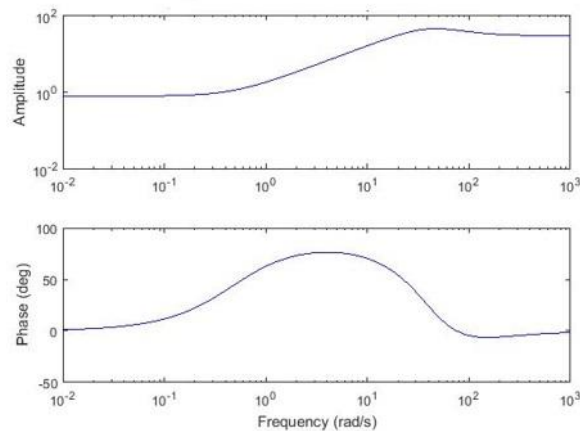


Figura 4-19: Diagrama de Bode de función de transferencia estimada para periodo de crecimiento estacionario.

4.3.4 Análisis de resultados de la estimación de modelos

Si bien con respecto a la primera experiencia de identificación del sistema al tener que cambiar algunos parámetros de la señal PRBS haciéndola que el periodo mínimo de cambio de la entrada fuera más lento perdiendo frecuencias a excitar se estima que se logró una buena identificación del sistema ya que para el propósito para el cual se requiere este sistema de control la señal PRBS se asemeja mucho a lo que se podría esperar en cultivos normales. Otro aspecto a destacar es que los modelos tuvieron un gran porcentaje de exactitud en cada etapa (superior al 80%) lo que significa que son modelos confiables del sistema y un aspecto favorable es que son funciones de transferencia de segundo orden lo cual representa ecuaciones de no tanta complejidad, considerando que para esta identificación también funciones de transferencias de octavo orden mostraban porcentajes de exactitud altos (alrededor del 60% a 70%).

Un aspecto problemático visto en las funciones de transferencia obtenidas radica en el porcentaje de sobrepaso frente a un cambio de la entrada, ya que éstos son muy altos por ejemplo con lo visto en las respuestas escalón para cada etapa en la Figura 4-20, 4-21 y 4-22 frente a una entrada escalón (entrada de 1% de apertura de válvula de oxígeno) la variable a controlar VTO aumenta de sobremanera teniendo un tiempo de estabilización en un valor más pequeño en alrededor de 7 minutos, el problema queda reflejado en la PRBS que al cambiar de un valor de 5% a uno de 18% la VTO alcanza valores de hasta 130 [mmol /L*h] según la fórmula usada para su cálculo. Éstos valores altos provocados por cambios en la entrada producto del analizador de gases como se mencionó anteriormente podría traer problemas en el controlador PID, de manera ejemplificadora si se considerará un setpoint de 18 [mmol/L*h], frente a una apertura de válvula considerable la VTO medida podría tener valores de hasta 130 [mmol/L*h] lo cual generaría errores considerablemente altos, por lo que el controlador tendería a abrir demasiado las válvulas incluso llegando a aperturas y cierres de 0 a 100% en periodos cortos de tiempo, lo que hace pensar en ganancias pequeñas para el controlador PID.

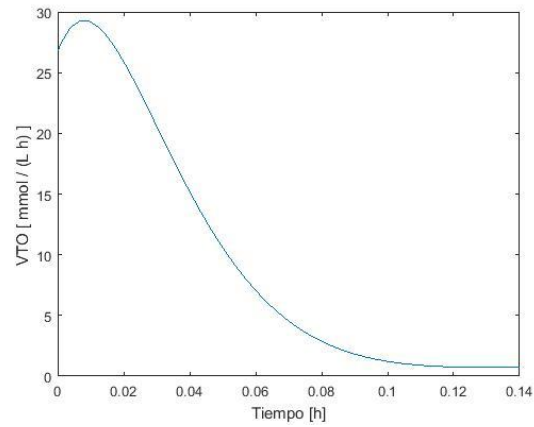


Figura 4-20: Respuesta escalón en periodo de latencia.

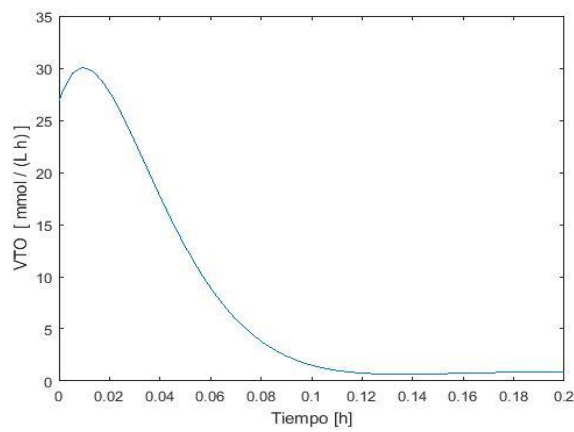


Figura 4-21: Respuesta escalón en periodo de crecimiento exponencial.

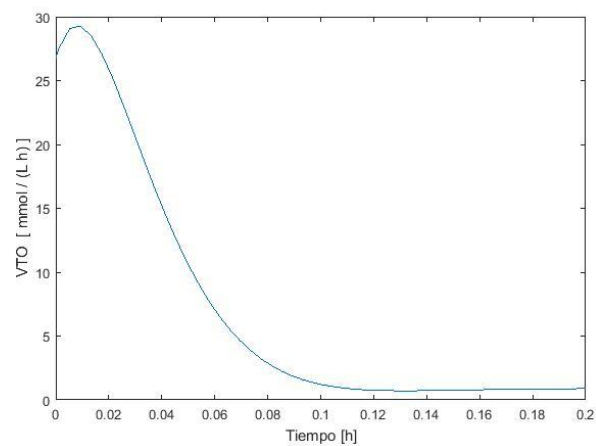


Figura 4-22: Respuesta escalón en periodo de crecimiento estacionario.

5 Sistema de control

Luego de conocer el funcionamiento del sistema, sus variables de interés y poseer un modelo del proceso que en primera instancia parece de fiar, se procede a trabajar en el sistema de control mismo (Figura 5-1). El sistema de control elegido es un controlador PID ya que es uno de los más usados en la industria y considerando las dinámicas del sistema hace parecer una estrategia más que viable. Durante la investigación de este proyecto se tomó en consideración otros trabajos relacionados con control sobre biorreactores [2], [5], [6], [7] en éstos trabajos lo que se buscaba era controlar la Tensión de Oxígeno Disuelto (TOD) sin embargo servía como antecedente de que ya se habían implementado sistemas de control tipo PID, PI y de lógica difusa (Fuzzy Logic) en este tipo de procesos y en variables no tan distantes a lo que es la VTO.

Como antecedente del sistema de control se tienen las Ecuaciones 5-1 y 5-2 las cuáles hacen parecer que hay una relación lineal entre la entrada ($O_2\%$) y la salida (VTO), donde el porcentaje de oxígeno es proporcional a la presión del oxígeno de entrada ($P_{O_2}^{IN}$) que a su vez al aumentar o disminuir afecta directamente al oxígeno en equilibrio (C^*) aumentando la VTO, sin embargo al ser un sistema en el que se involucran una serie de factores como respiración celular, etapas de crecimiento de la bacteria se sabe que es un sistema no lineal como se ve en la Figura 5-2, donde a una entrada constante de 20.9% de oxígeno se tiene una respuesta cambiante a lo largo de las 72 horas del cultivo.

$$VTO = kla \cdot (C^* - C) \quad (5-1)$$

$$P_{O_2}^{IN} = \frac{C^*}{H} \quad (5-2)$$

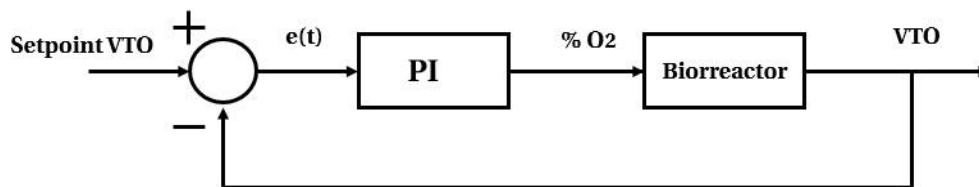


Figura 5-1: Esquema de control para el control de VTO.

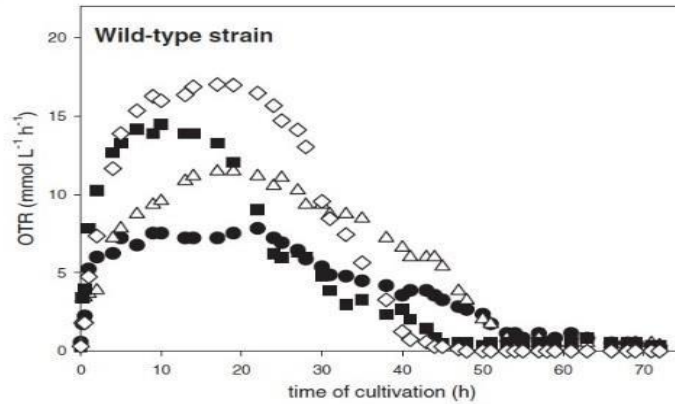


Figura 5-2: Velocidad de transferencia de oxígeno (OTR) a una entrada constante [5].

5.1 Sistema de control PI

La estrategia de control elegida es un controlador PI (Figura 5-3), su nombre proviene de las acciones proporcional e integral que contiene. Este tipo de controladores es uno de los más utilizados en la industria y generalmente son suficientes para muchos problemas de control. Está basado en un sistema de control de lazo realimentado, el cual consiste en una constante comparación de la señal de salida del sistema con el valor de referencia estipulado, con lo cual permite ejercer un control continuamente dependiendo del error o diferencia entre los que se quiere y lo que se está midiendo instantáneamente. Fue desechada la opción de la parte derivativa (controlador PID) por el hecho de que considerando trabajos anteriores [2] y los resultados obtenidos en los cuáles se espera pequeñas aperturas de válvulas para compensar los grandes sobresaltos en la variable a controlar, la acción derivativa ocasionaría más problemas que solución ya que es conocida por agregar ruido a la señal de control.

La importancia de este tipo de controlador radica en las funciones que posee, tiene una acción proporcional encargada de actuar sobre un error instantáneo, una acción integral encargada del error en estado estacionario. Cada una de estas acciones está relacionada con sus respectivos parámetros los cuales deben ser ajustados para que el controlador PI corrija de manera eficaz y en mínimo tiempo los efectos de perturbaciones o las mismas dinámicas del sistema.

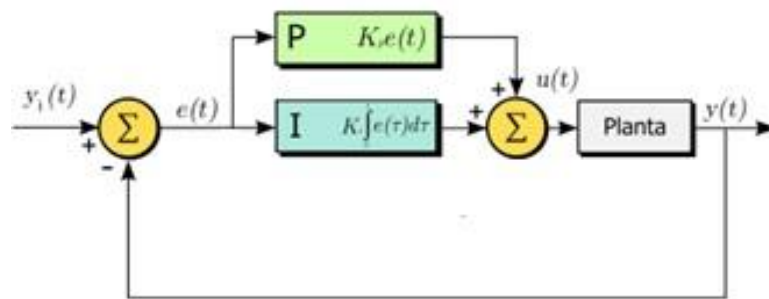


Figura 5-2: Diagrama de bloques de un sistema controlado mediante PI.

La ecuación que rige a los controladores PID se muestra en la Ecuación 5-3, donde se puede apreciar cada acción por separado. Donde $e(t)$ es la señal de error, $u(t)$ es la señal de control, K_p es la constante proporcional, T_i es el tiempo integral.

$$u(t) = K_p \cdot e(t) + \frac{K_p}{T_i} \cdot \int e(\tau) d\tau \quad (5-3)$$

Dentro de la familia de los controladores PID se incluyen los controladores P, I, PI, PD y PID donde varían de acuerdo a la inclusión o no de cada una de las acciones de control: Proporcional (P), Integral (I) y Derivativa (D). Cada acción del controlador tiene una función específica dentro del sistema de control. Como el controlador elegido es un PI éste solo contiene las acciones P e I.

La Acción Proporcional (P) actúa en forma proporcional al error instantáneo, la magnitud de su aporte dependerá de que tan grande o pequeño sea el error actual. Viene definida por una ganancia proporcional ajustable K_p . Dentro de sus características se puede decir que posee un desempeño limitado y posee por si solo error en régimen permanente (off-set).

La acción Integral (I) principalmente busca contribuir con valores proporcionales al error acumulado o errores pasado, lo cual es representado por la integral, busca forzar el error en estado estacionario a cero (eliminación del off-set), es caracterizado por ser un modo de reacción lenta. Viene representada fundamentalmente por el Tiempo Integral (T_i), el cual es el encargado de ajustar la acción integral en conjunto con la constante K_p como se ven en la Ecuación 5-3. Al aumentar el valor de T_i en un sistema el sistema tiende a estabilizarse, pero tiene una velocidad de reacción más lenta, pero su principal virtud es eliminar el error en estado estacionario. Muchos controladores industriales solo tienen acción PI ya que las características del controlador proporcional y derivativo es adecuado para gran cantidad de procesos.

5.2 Sintonización del controlador PI

Para la sintonización del PI se utilizaron las funciones de transferencias estimadas en la identificación del sistema para cada etapa de crecimiento. En primera instancia lo que se buscó fue hacer una sintonización por Ziegler-Nichols ya sea por el método de la respuesta escalón o el método de oscilación sostenida, pero ambas no rindieron frutos. La primera sintonización por respuesta escalón no fue posible porque según la dinámica de la respuesta a un escalón ésta no era posible aproximar a un modelo de primer orden, para realizar el segundo método de oscilación sostenida hay que encontrar gráficamente mediante el diagrama de Bode de ganancia los cruces por 0 y como se ve en las Figuras 4-13, 4-16 y 4-19 eso no sucede.

Como solución a este problema y en conjunto con el conocimiento de la peculiar dinámica encontrada tanto en los resultados de la señal PRBS como en la estimación de la función de transferencia en la identificación de sistemas se procedió a realizar una sintonía empírica basada en reglas, en donde mediante simulación y el conocimiento de cada acción del controlador se buscó un conjunto de parámetros que presente un resultado óptimo.

El método seleccionado de una sintonía empírica basada en reglas es básicamente un método de sintonía manual que busca obtener propiedades razonables en lazo cerrado mediante la

simulación y los modelos que se identificaron. Se aplicará un escalón que represente el punto de consigna y se observará la respuesta en lazo cerrado a medida que se varían los parámetros del controlador PI. Los ajustes se basan en conceptos simples que dan pautas para cambiar los parámetros como que el sistema, por ejemplo, el sistema puede ser menos oscilatorio si se reduce la ganancia, si se aumenta el tiempo integral y se aumenta el tiempo derivativo. Un conjunto simple de reglas viene dado por:

- Aumentar la ganancia proporcional K_p disminuye la estabilidad.
- El error decae más rápidamente si se disminuye la estabilidad.
- Disminuyendo el tiempo de integración (T_i) disminuye la estabilidad.
- Aumentando el tiempo derivativo (T_d) mejora la estabilidad.

También se apoya este método en el efecto que provoca cada acción por separado. El efecto de la acción proporcional teóricamente se ve en la Figura 5-4, los cuales pueden ejemplificarse en tres puntos.

- Aumento de K_p provoca disminución de error en estado estacionario.
- Aumento de K_p aumenta la velocidad de respuesta del sistema.
- Aumento de K_p aumenta oscilaciones del sistema pudiendo llegar a la inestabilidad.

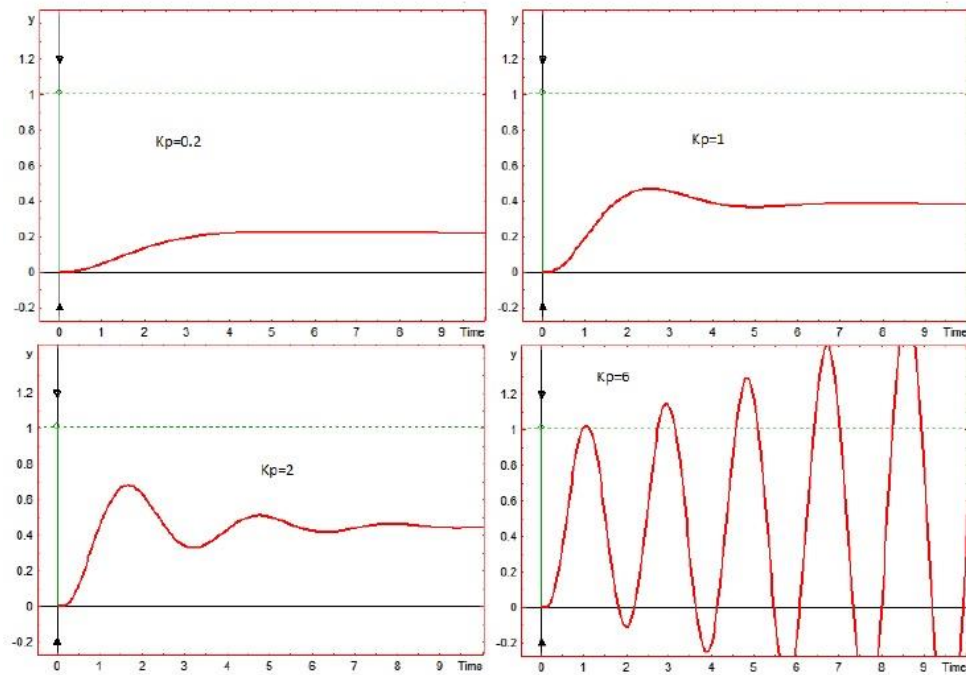


Figura 5-4: Efecto teórico de la acción proporcional en un sistema [2].

Por otra parte, el efecto de la acción integral dominada por el Tiempo Integral (T_i) se puede ver en la Figura 5-5, donde su efecto se caracteriza por:

- Disminución de T_i hace que la acción de control sea mayor provocando un sistema más oscilatorio.
- Aumento de T_i provoca una respuesta más suave pero lenta.
- Al tender a T_i al infinito provoca que la acción de control sea nula, por el hecho de ir en una división, por ende, entre mayor T_i menor acción de control integral.

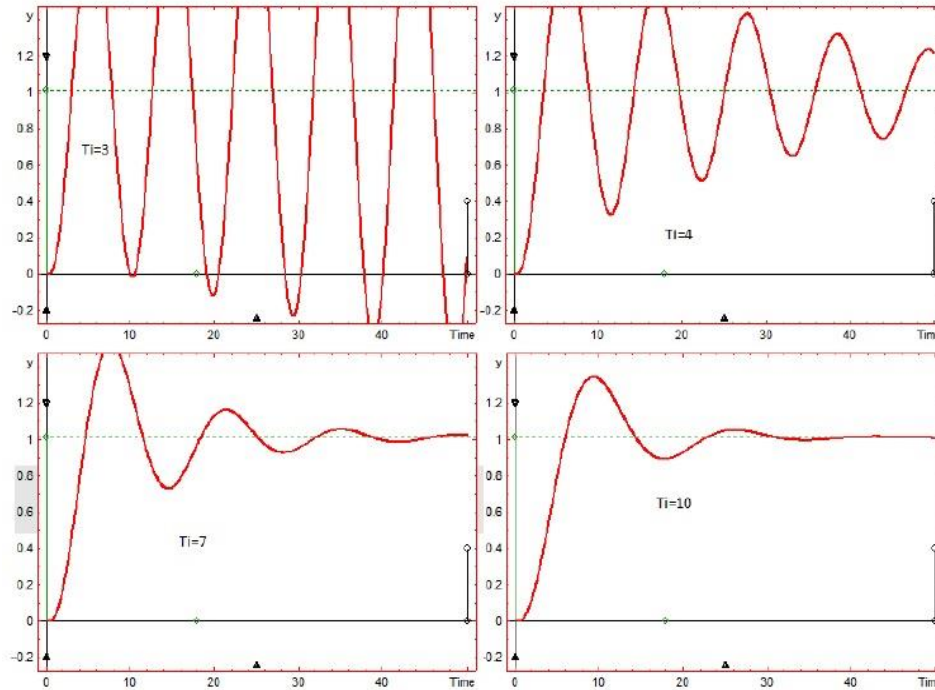


Figura 5-5: Efecto teórico de la acción de control integral en un sistema [2].

Hay que tener en cuenta que estas relaciones se cumplan con las funciones de transferencia dadas ya que hay situaciones en que estas reglas no se cumplen, como es el caso de funciones de transferencia del proceso con integradores puros. Sin embargo, finalmente lo que se busca es una adecuada combinación de ambas acciones que proporcionen una respuesta adecuada del sistema.

Un aspecto importante que se consideró antes de la sintonización manual simulada fue el análisis de las respuestas escalones de cada función de transferencia, ya que éstas proporcionan una idea de que es lo que pasa al generar un cambio en la entrada. Las respuestas escalón se pueden ver en las Figuras 5-6, 5-7 y 5-8 donde la principal dinámica vista es el gran porcentaje de sobrepaso que presenta la variable a una entrada unitaria, efecto ya comentado anteriormente, para luego estabilizarse en un valor más consecuente. En la Tabla 5-1 se puede ver la comparación entre las tres funciones de transferencia estimadas. Con respecto a la sintonización el gran peak que presenta la variable a una entrada hace pensar que la acción proporcional debería ser pequeña, lo cual sirve como punto de partida para la sintonización manual simulada.

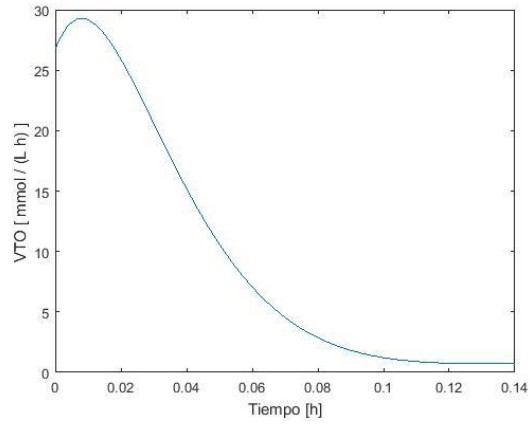


Figura 5-6: Respuesta escalón para función de transferencia estimada para periodo de latencia.

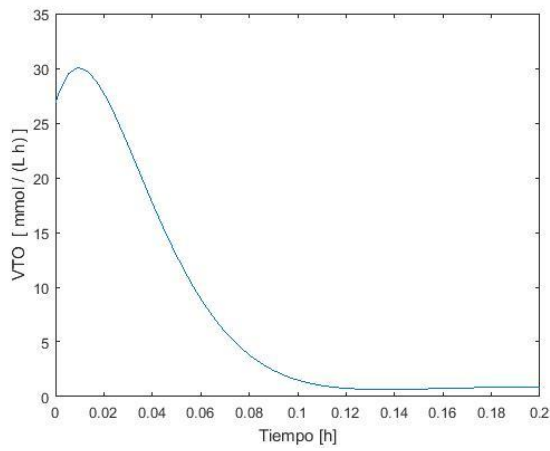


Figura 5-7: Respuesta escalón para función de transferencia estimada para periodo de crecimiento exponencial.

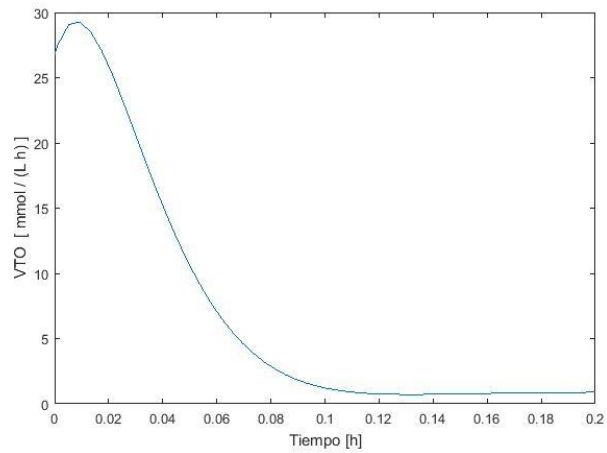


Figura 5-8: Respuesta escalón para función de transferencia estimada para periodo de crecimiento estacionario.

Tabla 5-1: Parámetros importantes de la respuesta escalón de cada función de transferencia estimada.

Etapa Crecimiento	Peak Máximo	Valor Estacionario
Latencia	29.31	0.748
Exponencial	30.08	0.717
Estacionario	32.31	0.4121

5.3 Sintonización mediante simulación en SIMULINK

Como punto de partida se utilizó la función de transferencia estimada para periodo de Latencia dada por la Ecuación 4-7. Como primera instancia se ocupó el sistema de sintonización automática de SIMULINK en el bloque del controlador PID dando valores de $K_p=0$, $K_i=0.000187428585604869$ [1/s] y $K_d=0$. Éstos valores se consideraron no aplicables ya que consideran solo la constante K_i y no la acción proporcional la cual actúa frente al error instantáneo en conjunto que la apertura de válvulas en cada minuto es demasiado pequeña (décimas y centésimas), lo cual la válvula real no puede realizar (resolución). Sin embargo, es destacable que el valor tan pequeño de la constante debe provenir del análisis de las respuestas escalón señaladas anteriormente porque frente a un cambio de 1 unidad en la entrada (% de oxígeno) hay un cambio instantáneo enorme en la VTO, por lo que estos cambios en decimales o centésimas provocarían pequeños cambios instantáneos en la VTO.

Seguido de esto se procedieron a probar parámetros del controlador PI de acuerdo a la parte teórica antes mencionada y ver su desempeño en la simulación, considerando ciertos aspectos:

- La auto sintonización arrojó sólo el parámetro integral despreciando el término derivativo en conjunto con el hecho de que muchos trabajos en biorreactores solo utilizan controladores PI, es que se desestimó el uso de la parte derivativa. También entro en consideración que la parte derivativa como es conocido produce mucho ruido y como la variable a controlar es afectada fácilmente por sutiles cambios en la entrada ayudo a desestimar en primera instancia la parte derivativa.
- Considerando las respuestas escalón obtenidas, a primera vista se esperaría una constante proporcional pequeña producto de las grandes variaciones que sufre la variable a controlar al aumentar o disminuir la entrada.
- Se verificará en simulación la apertura de válvulas. Éstas no deben sobrepasar el 100% de apertura o ser menor al 0%, a su vez considerar que aperturas demasiado pequeñas de las válvulas tampoco son posibles hablando en términos de decimales producto de la resolución propia de la válvula.

Producto de las consideraciones planteadas anteriormente y una gran cantidad de simulaciones se llegó a dos conjuntos de valores que se presentan en la tabla 4-2. En primera instancia se realizó el mismo procedimiento para cada función de transferencia estimada (para cada periodo de

crecimiento), encontrados esos parámetros y considerando la similitud de los modelos en cada etapa se comprobó mediante simulación si el mismo conjunto de parámetros funcionan de manera correcta para cada etapa de crecimiento.

Se seleccionaron dos conjuntos de parámetros que dieran buenos resultados producto de que como siempre algo puede fallar, como por ejemplo un aspecto totalmente indeseado como aperturas de válvulas demasiado grandes en cortos periodos de tiempo.

Tabla 5-2: Conjunto de parámetros estimados para el controlador PI mediante simulación.

Parámetro	Primer Conjunto	Segundo Conjunto
K_p [-]	0.5	0.01
K_i [1/s]	45	45
K_d [s]	0	0

Primero se seleccionó un $K_p=0.5$ ya que presentaba un buen comportamiento en la simulación, prácticamente no poseía oscilaciones y lograba controlar de manera perfecta la VTO, sin embargo, éste resultado provoco dudas, ya que después de un periodo de horas la válvula se mantenía constante y aun así lograba controlar la VTO. El resultado para el periodo de Latencia se puede apreciar en la Figura 5-10, para el periodo de crecimiento exponencial en la Figura 5-11 y finalmente para periodo estacionario en la Figura 5-12.

En la Figura 5-13 se presentan los resultados de la simulación con una acción proporcional de $K_p=0.01$ y acción integral de $K_i=45$ para el periodo de latencia. Se visualiza que la apertura de válvulas se abre hasta un 20%, aspecto positivo considerando que aperturas más grandes implicaría grandes cantidades de TOD. En la Figura 5-14 se observa el comportamiento del sistema con los mismos parámetros, pero con la función de transferencia del periodo de crecimiento exponencial, se ve que la apertura de válvulas llega hasta un máximo de alrededor de 18% de oxígeno. Finalmente, en la Figura 5-14 se aprecia el resultado con los mismos parámetros con el modelo para periodo de crecimiento estacionario llegando a una apertura de válvulas de hasta un 23%. De acuerdo a los resultados se puede ver que no hay demasiada diferencia entre las aperturas máximas de las válvulas lo que afirma que un solo conjunto de parámetros funcionaría para el sistema en todos sus periodos de crecimiento.

En la Figura 5-14 y 5-15 se pueden ver los resultados de la simulación del sistema de control con $K_p=0.01$ y $K_i=45$. Se aprecia de mejor manera que las válvulas abren y cierran en porcentajes muy pequeños y que hay una pequeña variación u oscilación de la VTO en torno al valor de setpoint.

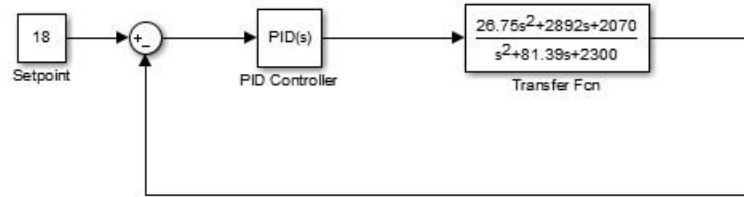


Figura 5-9: Diagrama de bloques para simulación en periodo de latencia en SIMULINK

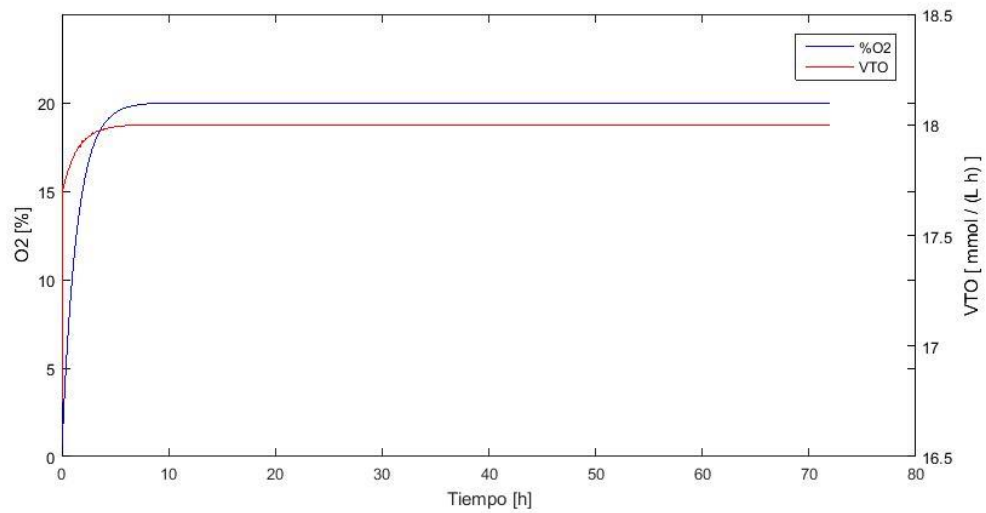


Figura 5-10: Simulación del sistema de control PI con $K_p=0.5$ y $K_i=45$ para modelo del periodo de latencia.

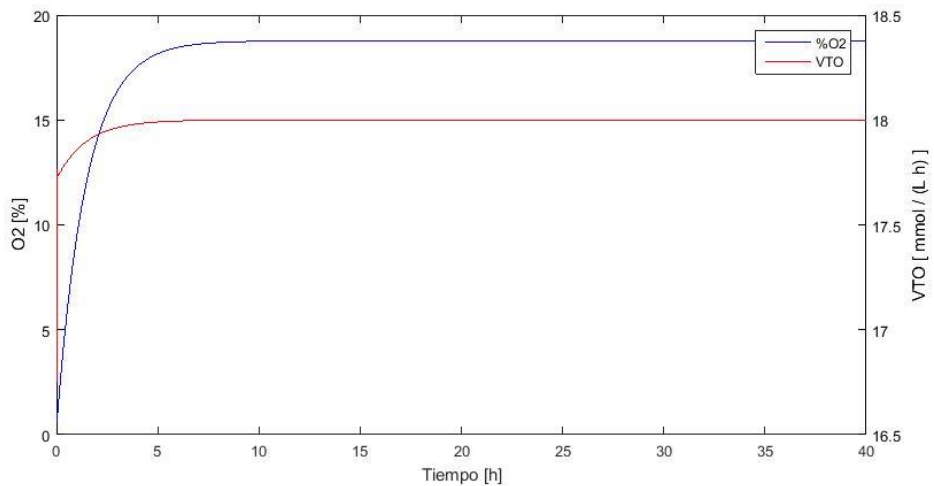


Figura 5-11: Simulación del sistema de control PI con $K_p=0.5$ y $K_i=45$ para modelo del periodo de crecimiento exponencial.

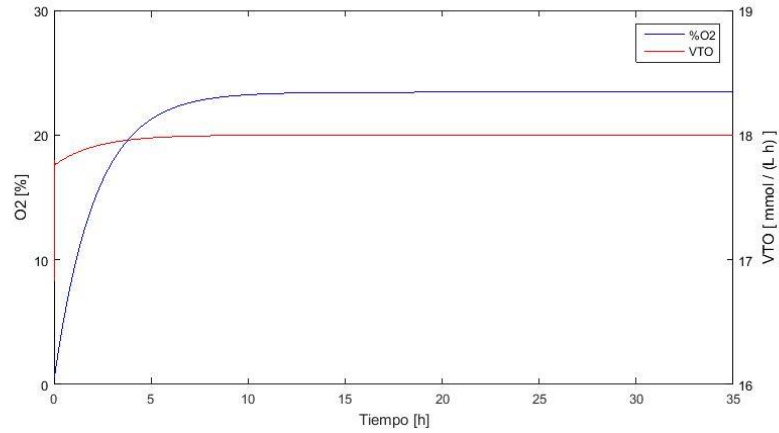


Figura 5-12: Simulación del sistema de control PI con $K_p=0.5$ y $K_i=45$ para modelo del periodo de crecimiento estacionario.

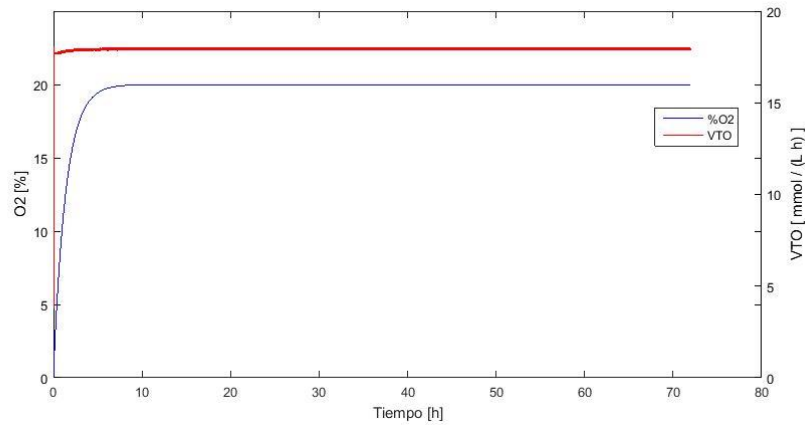


Figura 5-13: Simulación del sistema de control PI con $K_p=0.01$ y $K_i=45$ para modelo del periodo de latencia

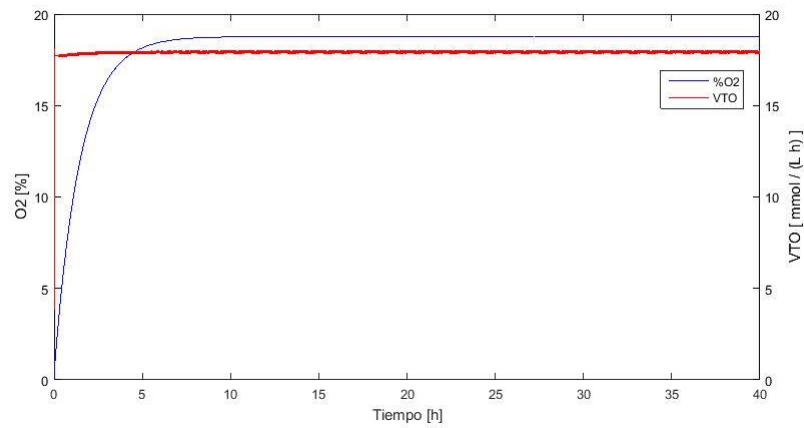


Figura 5-14: Simulación del sistema de control PI con $K_p=0.01$ y $K_i=45$ para modelo del periodo de crecimiento exponencial.

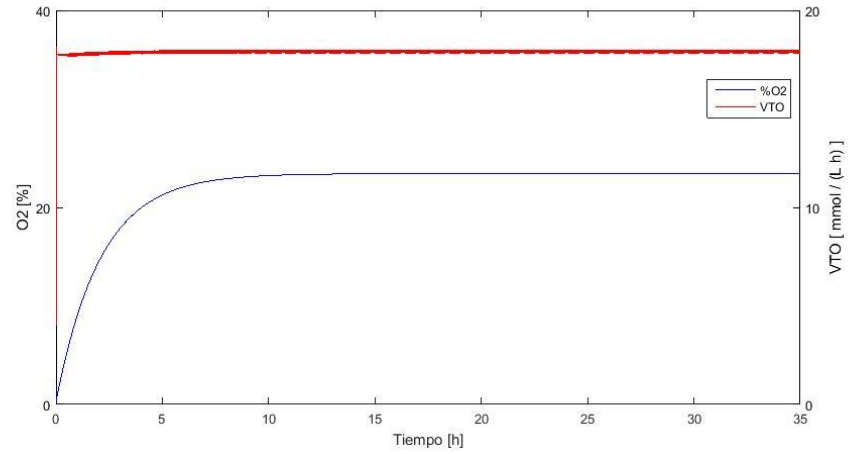


Figura 5-15: Simulación del sistema de control PI con $K_p=0.01$ y $K_i=45$ para modelo del periodo de crecimiento estacionario

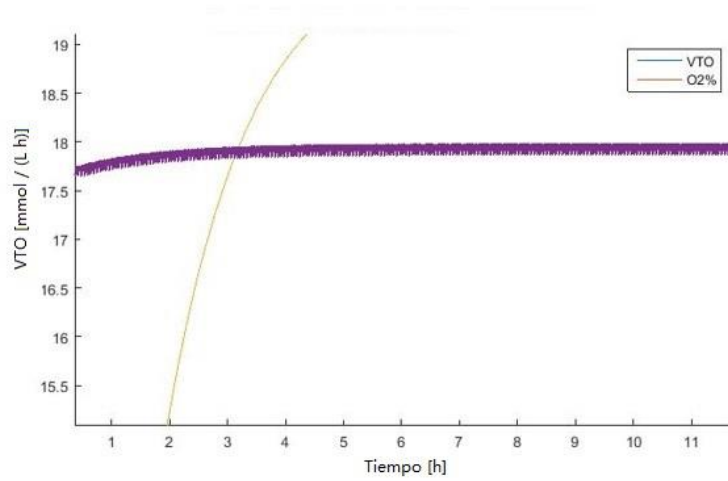


Figura 5-16: Simulación de sistema de control PI con $K_p=0.01$ y $K_i=45$, vista cercana a la variable VTO.

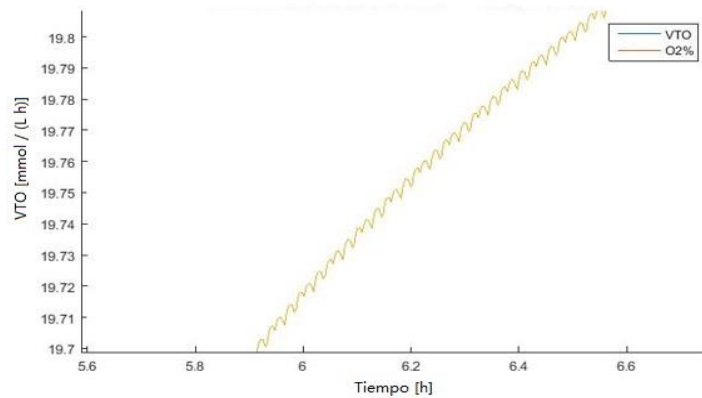


Figura 5-17: Simulación de sistema de control PI con $K_p=0.01$ y $K_i=45$, vista cercana a la variable %O2.

5.4 Diseño de control PI en software LABVIEW

Como ya se mencionó anteriormente el software utilizado para implementar el sistema de control es LABVIEW. Prácticamente se tomó la aplicación creada en el trabajo de tesis de John Cardoch [2] ya que los alumnos de la Escuela de Bioquímica ya se encuentran familiarizados con la aplicación creada. Los cambios más notorios en comparación con la aplicación realizada por John Cardoch es que esta incluye la medición de VTO en conjunto con su gráfica.

Como LABVIEW contiene una gran cantidad de VI's a su disposición es importante destacar el uso del "PID Advanced VI" mostrado en la Figura 5-18, ya que es el encargado de realizar el control PID dentro del programa desarrollado. La VI en cuestión implementa un controlador usando un algoritmo PID con una gran cantidad de opciones avanzadas como cambio de modo manual a automático mediante anti-bumpless, la opción de poder realizar control manual, métodos de anti-windup para saturación del actuador, etc.

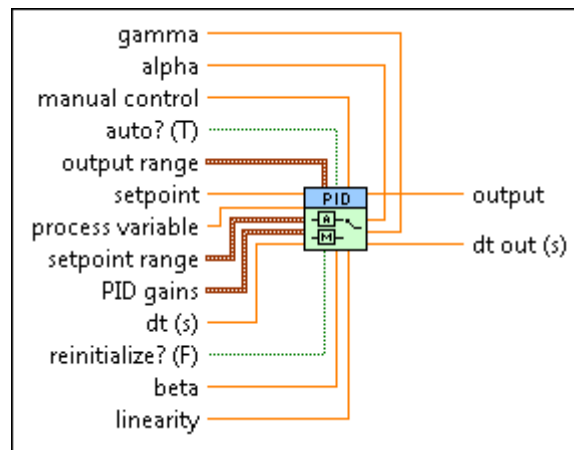


Figura 5-18: PID Advanced VI (fuente: <http://zone.ni.com>)

En términos de programación por LABVIEW cabe mencionar que se encuentra habilitada la opción de realizar control manual, permitiendo pasar de control manual a control automático, pero no vis reversa. Dentro de los parámetros del rango de salida del PID (output range) se estableció en el primer experimento una apertura máxima de 100 y una mínima de 0 cambiando para la segunda experiencia de control a un máximo de 25%, valores que están referidos en el porcentaje de apertura de válvula de oxígeno. Se programó para que cada 60 segundos realizara la operación de control y no se estableció un rango para el setpoint. Con respecto a las ganancias del controlador hay que mencionar que el programa pide ingresar el tiempo integral (Ti) en minutos, por lo que se realizó la transformación correspondiente del parámetro Ki a Ti encontrado en la simulación mediante SIMULINK.

6 Resultados de experiencias de control

La primera prueba de control se llevó a cabo mediante un control PI con los parámetros de $K_p=0.01$ y $T_i=0.8$ [seg], el cultivo tuvo una duración de 72 horas de la bacteria *Azotobacter Vinelandii*. Como punto de partida se eligió un Setpoint o referencia de 20 [mmol / (L·h)], y dentro del experimento hubo variaciones de la referencia a valores de 18 [mmol / (L·h)] y 15 [mmol / (L·h)], cabe mencionar que todos estos valores se encuentran en el rango que se trabajarían en cultivos con el objetivo de medición de alginato.

6.1 Resultados experimentales

A continuación, se mostrarán los resultados obtenidos de la primera experiencia de control, se presentan los resultados durante las 72 horas y luego una serie de gráficos en cada etapa de crecimiento de la bacteria. En la Figura 6-1 se presenta el gráfico de la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) durante el cultivo completo (72 horas), debido a la cantidad de horas del proceso y la cantidad de datos muestreados en la Figura 6.2 se muestra la VTO para las primeras 22 horas con el fin de poder apreciar más de cerca el comportamiento de la variable a controlar, también se agregó la referencia para saber a qué setpoint se estaba controlando.

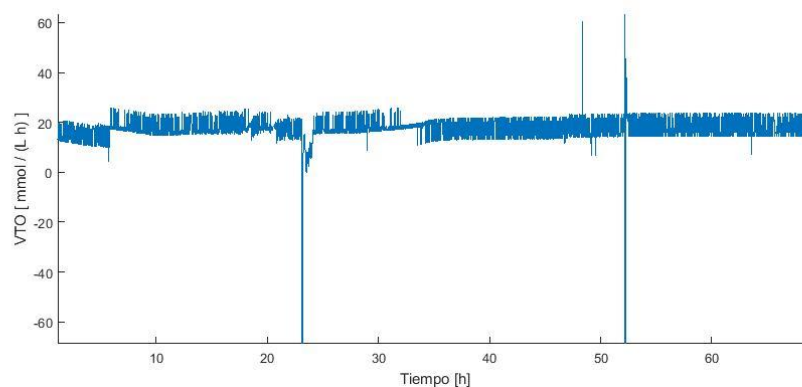


Figura 6-1: Control de la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) durante el cultivo (72 horas).

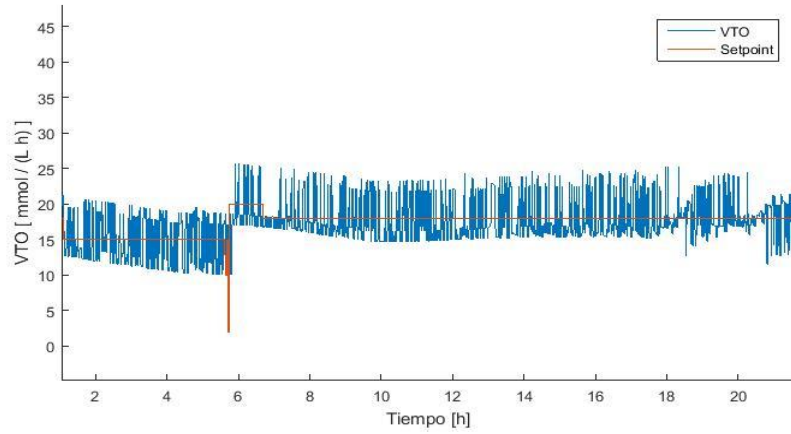


Figura 6.2: Velocidad de transferencia de oxígeno durante las 22 primeras horas.

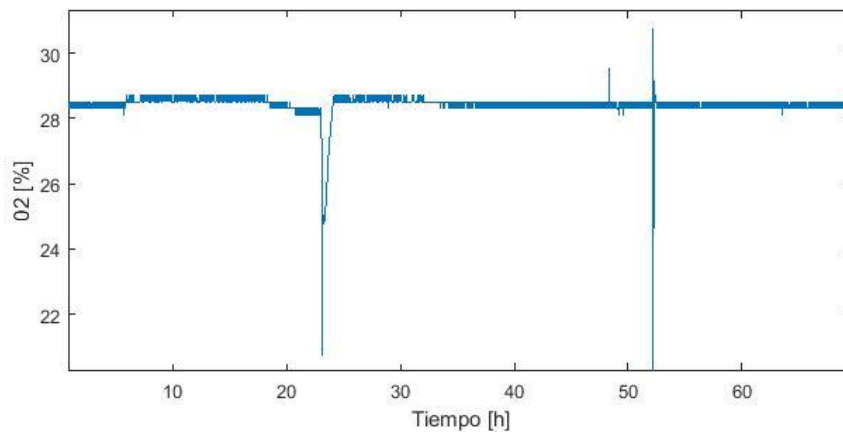


Figura 6-3: Señal de control (porcentaje de apertura de válvulas de oxígeno) en las 72 horas.

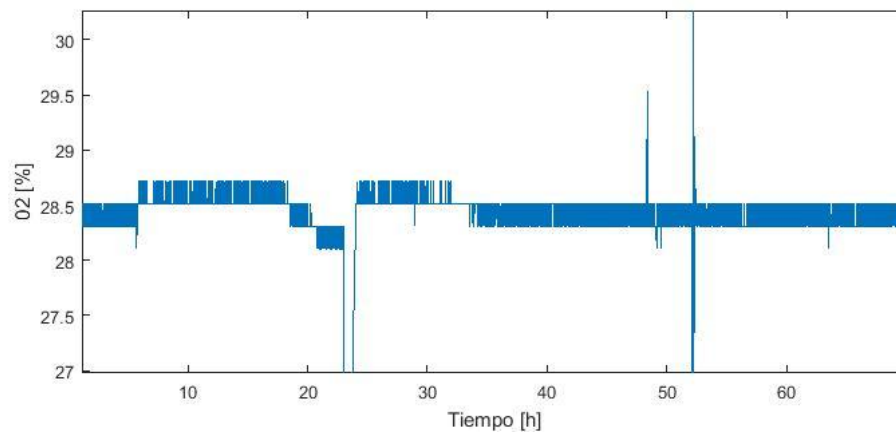


Figura 6-4: Señal de control (porcentaje de apertura de válvulas de oxígeno) en las 72 horas (Eje Y en el rango 25-31 [%]).

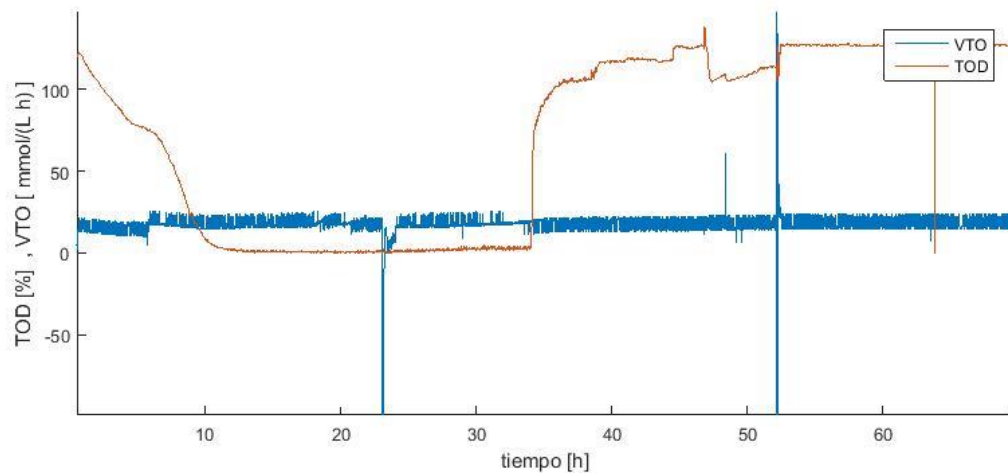


Figura 6-5: Velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) y tensión de oxígeno disuelto (TOD) durante las 72 horas.

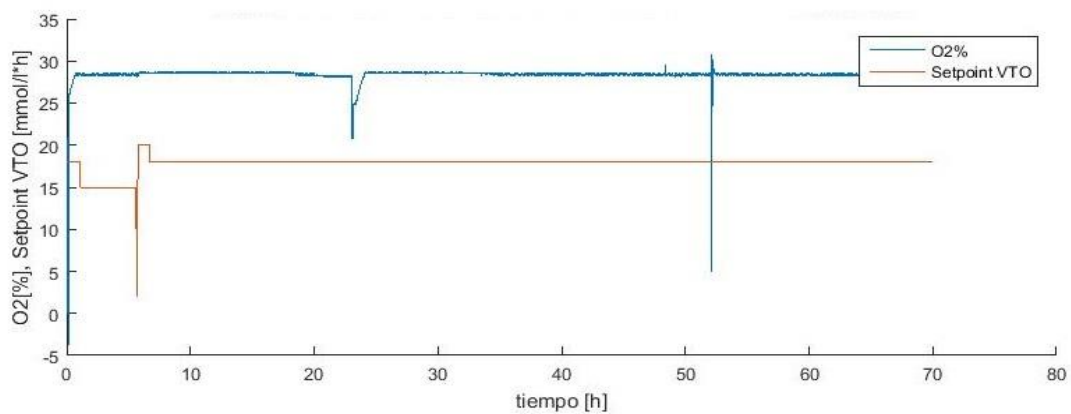


Figura 6-6: Comparación de la referencia (setpoint) con respecto al porcentaje de apertura de válvulas (variable manipulable).

6.2 Análisis de resultados

En el resultado global de la experiencia efectivamente se logró controlar la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) como se puede ver en la figura 6-1, se llegó a ésta conclusión debido a que la VTO en un cultivo normal (entrada constante de 20.9% de oxígeno) durante las primeras 6 horas aproximadamente va incrementando hasta quedar estable en un valor para luego durante la hora 45 aproximadamente (cese de crecimiento de la bacteria) disminuye hasta llegar a 0, dicho esto se ve claramente que en periodo de latencia si bien la variable oscila mucho, esta intenta mantenerse alrededor del valor de setpoint, en crecimiento exponencial la variable tiene el mismo comportamiento y finalmente en el periodo más importante (por la complejidad que teóricamente se espera para controlar la VTO) igualmente oscila de la misma manera alrededor del setpoint elegido. Todo esto se puede ver en la Figura 6-1 de manera global y en más

detalle en la Figura 6-7 para latencia, en la Figura 6-8 para crecimiento exponencial y 6-9 para estacionario.

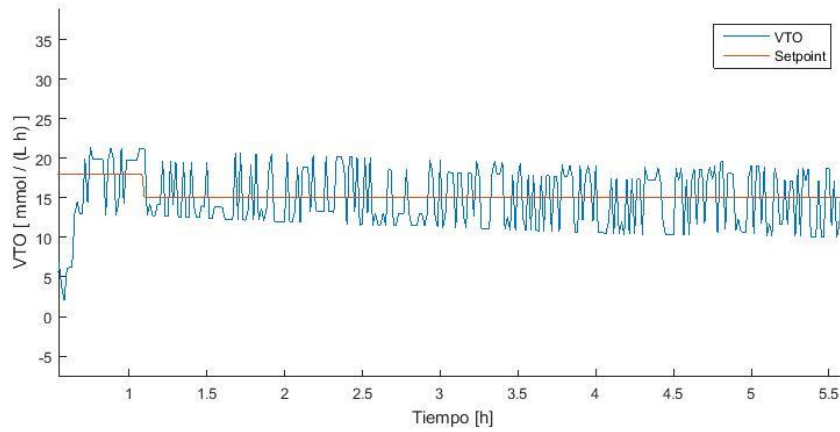


Figura 6-7: VTO en periodo de latencia.

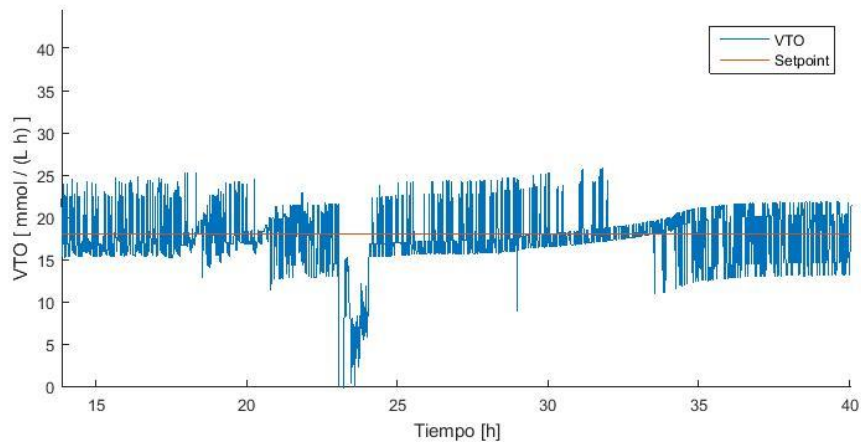


Figura 6-8: VTO en periodo de crecimiento exponencial.

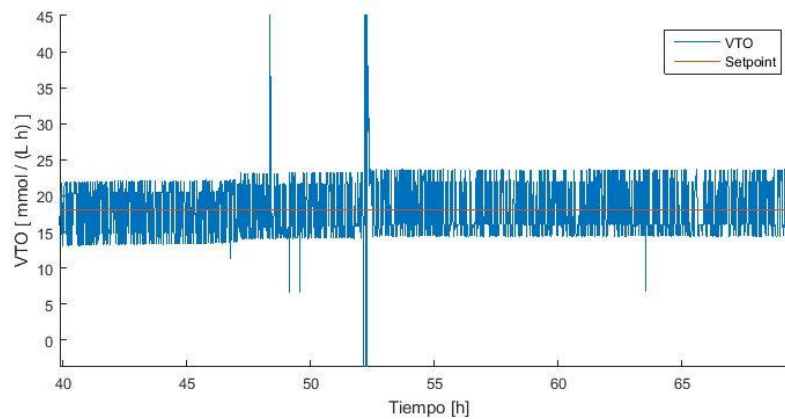


Figura 6-9: VTO en periodo de crecimiento estacionario.

El siguiente aspecto a analizar es que tan bien se controló la variable, se puede ver en la Figura 6-2 que se presenta una oscilación grande de la variable (VTO) en torno al valor deseado. La oscilación es producto de la dinámica identificada en el capítulo anterior, la cual consiste en que a una pequeña variación en la entrada se produce un valor muy alto en la salida como se aprecia tanto en la respuesta escalón de los modelos identificados y la respuesta a la señal PRBS. Para poder controlar éste efecto se necesitan ganancias pequeñas como la utilizada en la primera experiencia ($K_p=0.01$) ya que la única forma de aumentar o disminuir la VTO es mediante aperturas muy pequeñas de la válvula de oxígeno, sin embargo aunque computacionalmente el PID calculaba una apertura de válvula del orden de décimas o centésimas el controlador de flujo másico encargado de la apertura de válvulas de oxígeno no entregaba la resolución suficiente aparentemente aproximando el valor que el controlador PID le entregaba generando una apertura de válvula mayor de la estimada por el programa provocando una mayor aumento en la VTO generando las oscilaciones en torno al valor de setpoint. En la Tabla 6-1 se pueden apreciar los valores máximos y mínimos en los que oscilaba la VTO para cada etapa de crecimiento.

Tabla 6-1: Valores máximos y mínimos de la VTO.-

Etapa de crecimiento	Valor máximo de VTO	Valor mínimo de VTO
Latencia	20.72	14.38
Exponencial	24.29	14.77
Estacionario	23.61	12.87

La VTO presenta un comportamiento diferente dependiendo en qué etapa de crecimiento se encuentra, según las funciones de transferencias estimadas mediante la identificación del sistema se vio que la respuesta del sistema no variaba tan considerablemente entre cada etapa de crecimiento por lo que con solo un conjunto de parámetros del PI se esperaba que controlara el sistema en cada etapa de crecimiento. Analizando los resultados el controlador efectivamente controló en sistema en sin mayores problemas como se aprecia globalmente en la Figura 6-1 y las Figuras 6-7, 6-8 y 6-9 de cada etapa respectivamente. Sin embargo observando la Figura 5-5 podemos ver que al observar la Tensión de Oxígeno disuelto (TOD) con respecto a la VTO hay cambios en el comportamiento del control de la VTO, este análisis se provoca debido a que la TOD es la principal variable que afecta la VTO, de hecho esta es la variable que cambia dependiendo de la etapa de crecimiento de la bacteria, entre menor sea la TOD al aumentar es oxígeno de entrada es más fácil incrementar la VTO, como se ve en la figura 6-5 cuando la TOD incrementa seguramente por el cese del crecimiento de la bacteria la VTO oscila a valores más pequeños en contraparte de en periodo exponencial.

Como forma de cuantificar el rendimiento del controlador en la Tabla 6-2 se muestran el promedio y desviación estándar de la VTO controlada para cada etapa de crecimiento. Se puede observar que en todos los periodos y para cada setpoint respectivo el promedio es prácticamente

igual al valor de Setpoint determinado, sin embargo, la desviación estándar tiene un aumento considerable en la etapa de crecimiento estacionario, lo es consistente ya que en esta etapa es donde se preveía la mayor dificultad para realizar el control sobre la VTO.

Tabla 6-2: Promedio y desviación estándar de la VTO controlada a lo largo del cultivo.

	Latencia	Exponencial (Setpoint=18%)	Exponencial (Setpoint=20%)	Estacionario
Setpoint	15	18	20	18
Promedio	14.84232	17.24392	19.51267	17.88769
Desviación estándar	4.499222	11.3205	3.23685	23.36481

6.2.1 Consideración de la medición del analizador de gases

Como ya se ha mencionado anteriormente la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO) es medida mediante una fórmula que utiliza los valores del analizador de gases. Según los datos ya expuesto se puede ver que la apertura de válvulas llega hasta una apertura de válvulas de 28% como se ve en la Figura 6-6, lo cual significa que el oxígeno de salida debiera rondar el 28% menos lo que respira la célula, sin embargo, el analizador de gases mide en teoría como máximo hasta un 25% de oxígeno de salida. Ocurre que el sistema a pesar de superar el rango del analizador de gases aún indicaba el valor oxígeno de salida de hasta un 28%, poniendo en duda si éste es un valor real.

Como solución propuesta se realizó una segunda experiencia incluyendo esta limitación. Para la segunda experiencia fue necesario limitar la apertura de válvulas hasta un máximo de 25% ya que eso provocaría que en el oxígeno de salida idealmente no debiera sobrepasarse de ese 25% producto de la relación existente entre el oxígeno de entrada y el de salida. La limitación inicialmente hace suponer colocar problemas al sistema de control ya que como se visualizó en la primera experiencia para controlar la VTO a los setpoints requeridos se necesitó rondar la apertura de la válvula de oxígeno hasta un 28%.

6.3 Segunda experiencia de control con limitación de válvulas

Para la segunda experiencia de control se limitó la apertura de válvula hasta un 25% con el propósito de que el analizador de gases no superará el rango máximo para el oxígeno de salida. Se utilizaron los mismos parámetros del controlador PI sin embargo se utilizó un setpoint menor ya que a los setpoints experimentados anteriormente presentaban aperturas de válvulas superiores al 25%.

Los resultados de la segunda experiencia de control se pueden ver en la Figura 6-10. El sistema de control no funcionó con la limitación de control ya que cuando la apertura de válvulas llegó a su límite de 25% se perdió el control de la VTO (Figura 6-11).

La principal razón de la falla en el sistema de control de este sistema se le puede delegar a la limitación de las válvulas, ya que en el momento que la apertura llegó a su límite alrededor del 25%, el programa estimaba pequeñas variaciones rondando décimas o centésimas bajo el 25%, sin embargo, la válvula no mostró respuesta a estos cambios haciendo que la VTO empiece a disminuir hasta llegar a 0. También se presentaron mayor cantidad de oscilaciones luego de cambiar el setpoint a valores más bajos. En conclusión, el sistema de control con los parámetros establecidos y mediante la limitación de 25% de oxígeno no dio resultados, esto era de suponer porque es difícil poder controlar la variable con una limitante tan importante como lo es la entrada. Como modo de comparación en experiencias de control de TOD (variable de estrecha relación con la VTO) se llegaban a aperturas de válvula de hasta 80% y sumándole al hecho de que en setpoint relativamente bajos aparte de ser difícil de controlar por las grandes variaciones de VTO son inservibles para los fines de investigación en la producción de alginato.

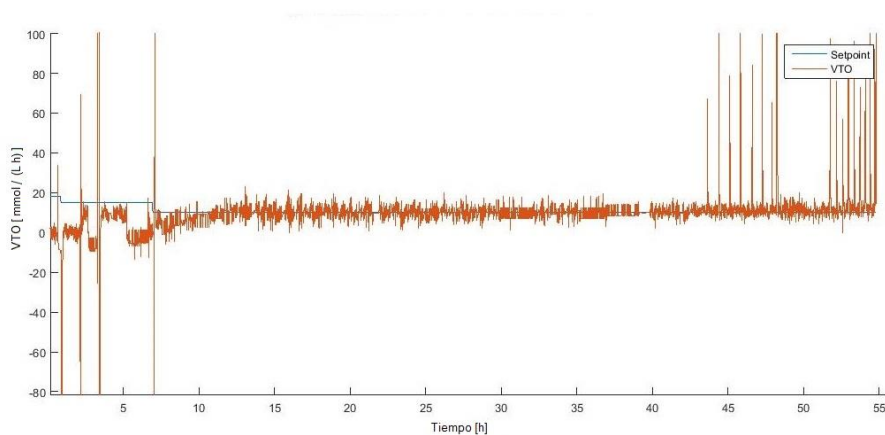


Figura 6-10: Resultado de control de la VTO en la segunda experiencia de control.

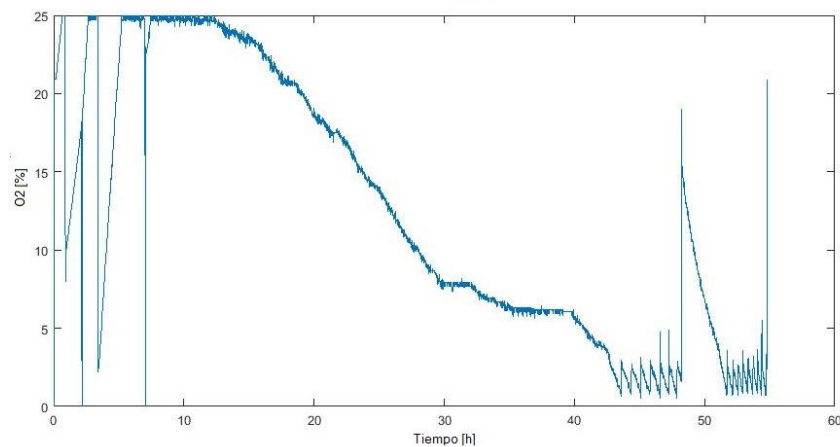


Figura 6-11: Porcentaje de apertura de oxígeno para segunda experiencia de control.

Discusión y conclusiones

Las virtudes del trabajo realizado se pueden ver al considerar las etapas que lo constituyeron. El punto de partida fue esencial ya que consideró todo lo que era el marco teórico del proceso biológico, adentrarse en estos temas no fue lo más sencillo, pero finalmente sirvió para entender el sistema y estar mejor preparado para el posterior trabajo de control y a su vez poder desenvolverse de buena manera con el personal de la Escuela de Bioquímica de la PUCV para un fructífero trabajo en conjunto. Gracias al marco teórico del proceso es que surgieron ideas como la evaluación de la variable a controlar con respecto a las etapas de crecimiento, surgió la mejor interpretación de los resultados obtenidos de las experiencias de control y también a visualizar las limitaciones que producía las ecuaciones del sistema lo que llevó a implementar una identificación del sistema mediante PRBS.

Gran parte del trabajo consistió en experiencias de laboratorio, por ello una de las principales dificultades que se tuvo fue la larga duración de ellas. Una experiencia normal tenía una duración de 72 horas, lo que significa que son alrededor de 4 días con el cultivo en funcionamiento, por ello todo el proceso desde el momento en que empieza la preparación para el cultivo y se obtienen los datos del experimento duraba alrededor de 1 semana. Otra dificultad que fue necesario conllevar fue que las experiencias no se podían realizar siempre que se estimara, era necesaria la coordinación con las personas encargadas en bioquímica ya que era necesario la disponibilidad tanto del operario, del biorreactor, y de los gases a utilizar. Éste hecho fue una gran limitante para el avance del trabajo ya que durante el inicio del trabajo hubo demasiado tiempo en que no autorizaron el uso del biorreactor por parte de la escuela de bioquímica debido a una serie de factores.

Un aspecto fundamental a destacar en la implementación de sistemas de control en bioprocesos es la complejidad de trabajar con microorganismo vivos, el trabajar con una bacteria generalmente provoca muchas veces respuestas que no son fácilmente previstas, como sucede con la respiración celular, no siempre se obtienen las respuestas debido a la influencia de una gran cantidad de factores. Este tipo de procesos está caracterizado también por la gran cantidad de variables estrechamente relacionadas por lo que la manipulación de una genera una cadena de reacciones que no es fácil de visualizar por ello es fundamental tener una clara noción teórica de este tipo de sistemas y apoyarse de la posterior identificación del sistema.

La identificación del sistema nació producto de que las ecuaciones diferenciales que se tienen del biorreactor no son lo suficientemente rigurosas para diseñar el sistema de control, ya que no

toman en consideración una gran cantidad de factores como por ejemplo la variabilidad del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_{la}). La identificación del sistema ayudó a conocer la dinámica del proceso sobre todo del efecto que se produce de la variación de la variable manipulable sobre la Velocidad de Transferencia de Oxígeno (VTO). Esta fue realizada mediante una técnica ampliamente usada como lo es la señal PRBS, si bien el propio sistema pone muchas limitaciones a la señal PRBS se considera que los modelos estimados representan de buena manera la peculiar dinámica del sistema. Un aspecto a destacar es la limitación que exige este tipo de bioprocesos frente a señales PRBS ya que esta se caracteriza por los constantes cambios de la variable de entrada lo que puede provocar cambios de entrada demasiado bruscos que sobre exigen al microorganismo de una manera indeseada, principalmente por el hecho de que se está forzando al microorganismo con temas de respiración celular propios de un organismo vivo.

La variable a controlar posee una gran dificultad para ser controlada, por una serie de hechos como lo son la manera de medirla y la dinámica que presenta. La Velocidad de Transferencia de oxígeno (VTO) no es una variable que se obtenga directamente de un sensor, sino que se estima mediante una fórmula que ocupa tanto medidas de los gases de entrada y salida en conjunto con una serie de constantes de carácter operacional, este método inherentemente conlleva un cierto margen de error sobre el valor exacto de la variable en cuestión, pero se considera como una estimación viable. Uno de los principales problemas del método de medición usado es que la velocidad en que los gases de salida varían frente a constantes cambios en la entrada, como ya se ha mencionado hay una relación clara entre el porcentaje de oxígeno de entrada y el de salida, ya que éstos deberían ser parecidos para estimar cuanto consume el microorganismo y así calcular la velocidad de transferencia de oxígeno, sin embargo, cuando se tienen continuos cambios en la entrada los gases de oxígeno de salida no tienen una rápida reacción frente a ellos ya que físicamente hay un tiempo en que se demora el gas de oxígeno en salir del biorreactor no es un cambio instantáneo como si puede suceder en la entrada. Este efecto provoca que haya una gran diferencia entre el oxígeno que sale y el que entra generando valores extremadamente altos de VTO (o extremadamente bajos) durante cierto periodo.

La dificultad presentada por la dinámica misma de la VTO radica en el gran porcentaje de sobrepaso que presenta frente a un cambio en la entrada, como modo ilustrativo se puede ver la respuesta escalón en la cual nos dice que frente a un aumento de 1 unidad en la entrada (porcentaje de apertura de válvula de oxígeno) la VTO puede llegar a aumentar hasta un valor de 30 mmol / (L·h) considerando que un valor nominal de VTO puede rondar los 19 mmol / (L·h), incluso esto se demuestra en los resultados con la señal PRBS que a un cambio más grande en la entrada de 10% a 18% de Oxígeno la VTO puede tomar valores de hasta 130 mmol / (L·h). Ésta dinámica hizo presupuestar valores pequeños en los parámetros del controlador PI, sin embargo, como se vio en los resultados obtenidos tanto en la simulación como en los experimentales las aperturas constantes de válvulas deberían ser muy pequeñas para un control óptimo pero que físicamente las válvulas reales no daban con la resolución solicitada para el cumplimiento del controlador generando las oscilaciones en torno al valor de setpoint esperado.

En un principio se estimó que era necesario estimar un modelo para cada etapa de crecimiento producto de las etapas de crecimiento de la bacteria y el efecto que éste provocaba en la variable a controlar generando claramente el comportamiento de un sistema no lineal, para mitigar este problema se había planteado un sistema de control de ganancia programada (Gain Scheduling)

sintonizando el PI para cada etapa de crecimiento, sin embargo luego de la estimación del modelo se encontró dinámicas parecidas para cada etapa de crecimiento, quedó demostrado que tanto en las simulaciones como en la experiencia de control real el controlador PI pudo controlar el sistema de la misma manera sin verse afectado de sobremanera por la etapa de crecimiento bacterial donde se encuentre.

La primera experiencia aparentemente mostró un resultado que, si bien presentaba oscilaciones grandes en torno al setpoint de VTO vislumbrada un gran avance, ya que se logró mantener la VTO oscilando en torno al valor requerido en momentos que debería ser nula. Las oscilaciones fueron producidas porque el controlador con los parámetros estimados calculaba aperturas de válvulas demasiado pequeñas del orden de décimas o centésimas a lo cual la válvula no poseía la resolución necesaria. La VTO se logró controlar con un mismo conjunto de parámetros como se estableció luego del análisis de la identificación del sistema al contrario de lo que se pensó inicialmente.

Las limitaciones impuestas al sistema de control son un factor importante y hasta determinantes, ya que estas fueron aumentando a medida que incrementaba el número de experiencias. Si bien en la primera experiencia se obtuvieron resultados esperanzadores se solicitó limitar la entrada de oxígeno hasta un máximo de 25% para obtener un máximo de oxígeno de salida de un 25% con el propósito de no superar el rango máximo del analizador de gases de salida (encargado de la medición de VTO), esta restricción luego de analizar los resultados de las dos experiencias con y sin limitación fueron demasiado contundentes ya que tanto en simulación y la primera experiencia para controlar el sistema de estimaban entradas de hasta 28%. Analizando los resultados obtenidos se ve muy difícil controlar la VTO con una entrada máxima de 25% de oxígeno por lo anteriormente mencionado de hecho en trabajos de control de TOD que es una variable de características y dificultades similares se llegaban a entradas de hasta 80% de oxígeno en los lugares de mayor dificultad de control lo que hace vislumbrar que frente a VTO entre los 10-18 [mmol / (L h)] no sería posible controlar con solo una entrada de hasta 25%.

Si bien el sistema no se logró controlar de manera perfecta se lograron buenos avances en temas como la identificación del sistema, marco teórico del mismo, experiencias de control e incluso en la identificación de las restricciones pensando en futuros trabajos para la mejora. Como trabajo a corto plazo en busca posibles mejoras se estima como opciones buscar otro tipo de sintonización para el sistema y principalmente planificar una experiencia donde se pueda obtener un resultado de control óptimo tomando en consideración la relación entre setpoint de VTO con respecto a la limitación de entrada. Finalmente se cree que para obtener realmente un sistema de control robusto sobre la VTO es necesario estudiar técnicas de estimadores de tiempo real de la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) como el presentado en [9], ya que el efecto de la lentitud del analizador de gases con respecto al oxígeno de salida puede ser contrarrestado con un estudio de una mejor fórmula que estime en tiempo real la VTO. Estudios datan de estimadores de la VTO pero en cultivos de *E. coli* [6] en el cual se consideran temas como la dilución del espacio de cabeza (head space) y el lag de las mediciones de sensores de gases de salida, sin embargo ello conlleva un conocimiento más profundo del microorganismo en cuestión y todo lo relativo a respiración celular.

Bibliografía

- [1] P. B. Beronio, «Optimization of 2,3-Butanediol Production by *Klebsiella oxytoca* Through Oxygen Transfer Rate Control,» 1993.
- [2] J. Cardoch, «Modelado, Simulación y Control de la Tensión de Oxígeno Disuelto en un bioproceso,» 2014.
- [3] Á. Díaz, *Proposed Research 2017 FONDECYT Regular Competition*, 2016.
- [4] A. Díaz-Barrera, C. Peña y G. Galindo, «The oxygen transfer rate influences the molecular mass of the alginate produced by *Azotobacter vinelandii*,» 2007.
- [5] F. García-Ochoa y E. Gómez, «Biorreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview,» Dept. Ingeniería Química Facultad Químicas. Universidad Complutense, Madrid, Spain, 2009.
- [6] S. Ertunc, B. Akay, H. Boyacioglu y H. Hapoglu, «Self-tuning control of dissolved oxygen concentration in a batch bioreactor,» Ankara University, Faculty of Engineering, Department of Chemical Engineering, Ankara, Turkey, 2009.
- [7] T. Mete, G. Ozkan, H. Hapoglu y M. Alpbaz, «Control of Dissolved Oxygen Concentration Using Neural Network in a Batch Bioreactor,» Faculty of Engineering, Department of Chemical Engineering, Ankara University, 2010.
- [8] A. Díaz-Barrera, R. Andler, I. Martínez y C. Peña, «Poly-3-hidroxybutyrate production by *Azotobacter vinelandii* strains in batch cultures at different oxygen transfer rates,» 2015.
- [9] L. Wang, «Design and Implementation of a Real-time Adaptive Oxygen Transfer Rate Estimator,» Clemson University, 2014.

-
- [10] D. Montoya y M. Bermúdez, «Modelamiento de la Transferencia de Oxígeno para el cultivo de microorganismos en un biorreactor de columna de burbujeo,» Universidad Nacional de Colombia, Manizales, 2003.
- [11] G. Marchante González, D. Piedra Puerta, Y. d. I. C. Díaz Puebla y A. I. González Santos, «Identificación y sintonía de un controlador PID para el proceso de oxígeno disuelto en un fermentador,» RIELAC, Revista de Ingeniería Electrónica, Automática y Comunicaciones, 2016.
- [12] M. B. H. Husin, «Application of Pseudo Random Binary Sequence (PRBS) Sygnal in System Identification,» 2008.
- [13] K. J. Åström y T. Hägglund, PID Controllers: Theory, Design and Tuning, Instrument Society of America, Research Triangle Park,, 1994.
- [14] J. Kane, «BioProcces International,» [En línea]. Available: <http://www.bioprocessintl.com/upstream-processing/bioreactors/measuring-kla-for-better-bioreactor-performance-328029/>.
- [15] K. J. Aström y T. Hägglund, Control PID Avanzado, Pearson Prentice Hall, 2009.
- [16] C. Kunuch, «Identificación de Sistema Dinámicos,» 2003.
- [17] D. Levisauskas, «An Aalgorithm For Adaptative Control Of Dissolved Oxygen Concentration In Batch Culture,» Process Control Department, Kaunas University of Technology, 1995.
- [18] M. Akesson y P. Hagander, «Control of Dissolved Oxygen in Stirred Biorreactors,» Department of Automatic Control, Lund Institute of Technolog.
- [19] M. Mayyan, «On-Line Estimation of Oxygen Transfer Rate with Oxygen Enriched Air using Off-Gas Sensor for Escherichia coli,» Clemson University, 2017.
- [20] N. Aros, M. Cifuentes y J. Mardones, «Modelación, Simulación y Control de procesos de fermentación,» *Ingeniare, Revista chilena de Ingeniería*, pp. pp.210-218, 2011.
- [21] V. Bobanac, M. Brekalo, M. Vasak y N. Peric, «Laboratory of Renewable Energy Sourcees and Identification on the Laboratory Wind Turbine Model,» 2011.