



**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS  
ELEKTROS IR ELEKTRONIKOS FAKULTETAS**

Paulius Kazakauskas

**Biomasės santykinio augimo greičio netiesioginio įvertinimo  
algoritmų tyrimas**

Magistro projektas

**Vadovas**

Prof. dr. Vytautas Galvanauskas

**KAUNAS, 2016**

**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS  
ELEKTROS IR ELEKTRONIKOS FAKULTETAS  
AUTOMATIKOS KATEDRA**

**Biomasės santykinio augimo greičio netiesioginio įvertinimo  
algoritmų tyrimas**

Magistro projektas

Valdymo technologijos (kodas 621H66001)

**Vadovas**

(parašas) Prof. dr. Vytautas Galvanauskas

(data)

**Recenzentas**

(parašas) Doc. dr. Kęstutis Brazauskas

(data)

**Projektą atliko**

(parašas) Paulius Kazakauskas

(data)

**KAUNAS, 2016**



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS  
ELEKTROS IR ELEKTRONIKOS

(Fakultetas)

**Paulius Kazakauskas**

(Studento vardas, pavardė)

**621H66001**

(Studijų programos pavadinimas, kodas)

Baigiamojo projekto „Biomasės santykinio augimo greičio  
netiesioginio įvertinimo algoritmų tyrimas“  
**AKADEMINIO SAŽINGUMO DEKLARACIJA**

20 \_\_\_\_ m. \_\_\_\_\_ d.  
Kaunas

Patvirtinu, kad mano **Pauliaus Kazakausko** baigiamasis projektas tema „Biomasės santykinio augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmų tyrimas“ yra parašytas visiškai savarankiškai, o visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

\_\_\_\_\_  
(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

\_\_\_\_\_  
(parašas)

Kazakauskas, P. Biomasės santykinio augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmų tyrimas. Valdymo sistemų magistro baigiamasis projektas / vadovas prof. dr. Vytautas Galvanauskas; Kauno technologijos universitetas, elektros ir elektronikos fakultetas, automatikos katedra.

Kaunas, 2016. 44 psl. Santrauka

### **Santrauka**

Pagrindinis tikslas ruošiant baigiamąjį magistro projektą, yra ištirti biomasės santykinio augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmus. Darbe apžvelgiami bioreaktorių tipai, biotechnologinį procesą veikiantys parametrai, jų matavimo galimybės. Apžvelgiami biotechnologiniuose procesuose taikomi netiesioginiai parametru būsenos įvertinimo algoritmai, naudojant masių balanso lygtis, dirbtinius neuroninius tinklu ir kitus metodus.

Tyrimui atlikti, buvo panaudotas biotechnologinio proceso matematinis modelis pagal literatūroje pateiktas masių balanso lygtis ir kitus duomenis. Šis modelis buvo realizuotas Matlab/simulink aplinkoje. Pagal literatūroje pateiktus duomenis Matlab/simulink aplinkoje realizuojami skirtingi santykinio biomasės augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmai, veikiantys pagal biotechnologinio proceso deguonies sunaudojimo greičio (OUR) dydį.

Tiriant šiuos algoritmus, buvo išsiaiškinta kokią įtaką algoritmo veikimui daro vidiniai modelio parametrai, parinktas diskretizavimo žingsnis. Taip pat buvo tirta, kaip algoritmai veikia, kai deguonies sunaudojimo greičio (OUR) signalas yra veikiamas trikdančiu poveikiu, formuojamu naudojant normalųjį skirstinį.

**Raktiniai žodžiai:** santykinis biomasės augimo greitis, periodinis su pamaitinimu procesas, biotechnologija, netiesioginis būsenos įvertinimas, programiniai jutikliai

Kazakauskas, Paulius. Investigation of Biomass Specific Growth Rate Estimation Algorithms. Master project of control systems / supervisor prof. dr. Vytautas Galvanauskas; Kaunas University of Technology, Faculty of Electrical and Electronics Engineering, department of automation.

Kaunas, 2016. 44 psl.

### Summary

The main idea preparing final master's project, is investigate an algorithms of biomass specific growth rate. The project gives an overview of bioreactor types, biotechnological process operating parameters, measurements possibilities. An overview of state estimation algorithms in biotechnology, using the mass balance equations, artificial neural networks and other methods. Investigation was realized using mass balance equations and other data from literature. This model was realized in Matlab/Simulink environment. Two different algorithms of biomass specific growth rate estimation were realized using data from literature in Matlab/Simulink environment. The main input of estimators was oxygen uptake rate (*OUR*).

During the investigation of these algorithms, it was found out how internal model parameters and various sample times influences estimator working conditions. It was also investigated, how algorithms works, when signal of oxygen uptake rate is affected by disturbances.

**Key words:** specific biomass growth rate, fed-batch process, biotechnology, state estimation, soft-sensors

## Turinys

Turinys .....	6
ĮVADAS .....	7
1. APŽVALGINĖ DALIS .....	9
1.1 Pagrindiniai biotechnologinio proceso parametrai .....	9
1.1.1 Santykinis biomasės augimo greitis .....	9
1.1.2 Deguonies sunaudojimo greitis .....	10
1.2 Bioreaktorių tipai .....	10
1.3 Biotechnologinio proceso parametrų matavimas .....	11
1.3.1 Netiesioginiai matavimo metodai .....	12
1.3.1 Netiesioginis biomasės koncentracijos įvertinimas naudojant OUR matavimą .....	12
1.3.2 Netiesioginis biomasės koncentracijos įvertinimas naudojant BCR matavimą .....	13
1.3.3 Netiesioginis santykinio biomasės augimo greičio ir biomasės koncentracijos įvertinimas naudojant išplėstinį Kalmano filtrą .....	14
1.3.4 Netiesioginis santykinio biomasės augimo greičio ir biomasės koncentracijos įvertinimas naudojant dirbtinius neuroninius tinklus .....	17
2. METODOLIGINĖ DALIS .....	19
2.1 Prielaidos biotechnologinio proceso matematiniam modeliavimui .....	19
2.2 Biotechnologinio proceso matematinis modelis .....	19
2.3 Santykinio biomasės augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmas naudojant OUR modelio parametrų santykį .....	24
2.4 Santykinio biomasės augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmas naudojant OUR modelį .....	26
2.5 Santykinio biomasės augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmų palyginimas .....	27
3. TYRIMO REZULTATŲ DALIS .....	29
3.1. Modelio parametrų įtaka santykinio biomasės augimo greičio įvertinimo algoritmų kokybei .....	29
3.2. Diskretizavimo žingsnio įtaka santykinio biomasės augimo greičio įvertinimo algoritmų kokybei .....	34
3.3. Santykinio biomasės augimo greičio būsenos įvertinimo algoritmo tyrimas, indukcijos metu .....	36
3.4. Santykinio biomasės augimo greičio būsenos įvertinimo algoritmo tyrimas, kai OUR signalas veikiamas trikdančiu poveikiu .....	37
IŠVADOS IR REZULTATAI .....	41
LITERATŪROS SĄRAŠAS .....	42
PRIEDAI .....	44
Priedas 1. Biomasės santykinio augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmo aptarto 2.3 skyriuje kodas .....	44
Priedas 2. Biomasės santykinio augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmo aptarto 2.4 skyriuje kodas .....	44
Priedas 3. Biotechnologinio proceso matematinio modelio funkcinio bloko kodas .....	44
Priedas 4. Biotechnologinio proceso matematinio modelio diferencialinių lygčių blokas .....	46

## IVADAS

Oficialus biotechnologijos apibrėžimas, priimtas 1989 metais Europos Biotechnologijos Federacijos generalinės asamblėjos, yra šis [6]: „Biotechnologija yra gamtos ir technikos mokslų integracija, siekiant panaudoti organizmus, ląsteles, jų dalis ir molekulinis analogus produktų gamybai ir paslaugų tiekimui“.

Biotechnologijos ištakos – biologija, mikrobiologija, biochemija, molekulinė biologija, genetika, chemija, cheminė technologija ir procesų inžinerija. Priešdėlis bio- žodyje biotechnologija reiškia gyvybę ir procesus, vykstančius gyvoje ląstelėje. Žodis technologija yra kilęs iš graikų kalbos žodžių: technē– amatas, menas, meistriškumas, mokėjimas ir logos– mokslas. Technologija– mokslas, nusakantis gamtos mokslų (chemijos, biologijos, fizikos ir kitų) dėsnių taikymą technologiniams procesams efektyviai atlikti.

Biotechnologiniai procesai yra vieni iš sudėtingiausių technologinių procesų. Juose vyksta šimtai biocheminių reakcijų, kurios daro įtaką gamybos sąnaudoms, galutinio produkto kiekiui ir kokybei. Atsižvelgiant į didelę ekonominę šių procesų svarbą, būtina užtikrinti optimalų jų darbą ir pasiekti geriausius kokybės bei ekonominius rodiklius.

Pagrindinis biotechnologinių procesų valdymo tikslas – pagerinti šių procesų stabilumą, saugumą, padidinti gamybos našumą ir produkto išeią, sumažinant gamybos sąnaudas. Biotechnologiniuose procesuose yra didelis kiekis kintamų parametrų, kurių valdymas yra labai svarbus sprendžiant minėtus uždavinius. Kaip pavyzdį galima paminėti ištirpusio deguonies koncentraciją, deguonies sunaudojimo greitį, santykinę biomasės augimo greitį. Patikimi parametrų jutikliai yra svarbus veiksnys darantis poveikį procesų valdymo ir stebėjimo kokybei, tačiau ne visus dydžius įmanoma tiesiogiai išmatuoti arba tiesioginio matavimo kaštai yra per dideli. Dėl šių priežasčių yra kuriami parametrų būsenos įvertinimo algoritmai (estimatoriai), kurie kintamojo reikšmę gauna pasinaudodami tam tikra metodika, paremta dirbtiniais neuroniniais tinklais, hibridiniais procesų modeliais ar sistemoje stebimais kitų realiai išmatuojamų kintamųjų matavimais. Būsenos įvertinimo algoritmai pradėti taikyti dar ganėtinai neseniai, padidėjus kompiuterinės įrangos skaičiavimo pajėgumams. Todėl šių algoritmų taikymo praktikoje galimybės dar nėra iki galo ištytos.

**Darbo tikslas:**

Ištirti santykinio biomasės augimo greičio įvertinimo algoritmų parametrų įtaką, būsenos įvertinimo kokybei ir palyginti jų darbą.

**Darbo uždaviniai:**

Apžvelgti literatūroje siūlomas netiesioginio parametrų būsenos įvertinimo algoritmus. Realizuoti literatūroje [1] pateiktą biotechnologinio proceso matematinį modelį Matlab/Simulink aplinkoje. Naudojant proceso modelį tirti santykinio biomasės augimo greičio netiesioginio būsenos įvertinimo algoritmų veikimo kokybę, keičiant jų vidinius parametrus, algoritmų diskretizavimo žingsnį, paveikiant modeliuojamus išorinius matavimo prietaisus trikdžiais.



## 1. APŽVALGINĖ DALIS

### 1.1 Pagrindiniai biotechnologinio proceso parametrai

#### 1.1.1 Santykinis biomasės augimo greitis

Biomasės santykinis augimo greitis yra vienas iš pagrindinių fiziologinių parametru, charakterizuojančių mikroorganizmų būseną. Daugelio procesų biosintezė glaudžiai susijusi su biomasės santykinio augimo greičiu. Norint pasiekti maksimalią norimo produkto išeigą bei minimalų gamybos proceso laiką, biomasės santykinio augimo greičio reguliavimas turi didelę reikšmę daugeliui procesų. Biomasės santykinio augimo greičio automatiniam valdymui reikalingos sistemos su grįžtamoju ryšiu. To priežastis yra tai, kad šis parametras negali būti išmatuojamas tiesiogiai, naudojant realų jutiklį. Jam įvertinti turi būti taikomi matematiniai modeliai, kurie panaudodami realiai gaunamus duomenis iš kitų proceso parametru, apskaičiuotų santykinio biomasės augimo greičio vertę.

Ketvirtajame dešimtmetyje Mono (Monod) biomasės augimą apibūdino santykinio biomasės augimo greičiu[4]:

$$\mu = \frac{1}{xV} * \frac{d(xV)}{dt} = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} \quad (1.1)$$

Čia: X yra biomasės kiekis, dažniausiai matuojamas [g];  $\mu$  apibrėžiamas kaip santykinis (biomasės vienetui) biomasės padidėjimas per laiko vienetą, o jo dimensija  $[g(X)/(g(X)h)] = [1/h]$ .

Tačiau daug dažniau literatūroje pateikiama santykinio biomasės augimo greičio priklausomybė nuo substrato koncentracijos dažniausiai žymimos s. Mono (Monod) šią priklausomybę pasiūlė modeliuoti naudojant tokią funkciją [13]:

$$\mu = \frac{\mu_{max} * s}{K_s + s} \quad (1.2)$$

Literatūroje galima aptikti ir kitų santykinio biomasės augimo greičio apskaičiavimo variantų [4],[7]:

$$\mu = \mu_{max} \min(1, \frac{s}{2K_s}), \quad (\text{Blackman, 1905}) \quad (1.3)$$

$$\mu = \mu_{max} (1 - \exp(-\frac{s}{K_t})), \quad (\text{Teissier, 1936}) \quad (1.4)$$

$$\mu = \mu_{max} \frac{s^n}{K_s + s^n}, \quad (\text{Moser, 1958}) \quad (1.5)$$

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_C + S}, \quad (\text{Contois, 1959}) \quad (1.6)$$

$$\mu = \mu_{max} \frac{S - K_1 t(s)}{K_S + S - K_1 t(s)}, \quad (\text{Powel, 1967}) \quad (1.7)$$

Tačiau visos aukščiau išvardintos priklausomybės turi vieną esminį trūkumą, jos netinka santykinio biomasės augimo greičio realiu laiku įvertinimui, kadangi realiu laiku nematuojamos substrato koncentracija ir kitų reikiamų parametru vertės. Santykinis biomasės augimo greitis, vykstant biotechnologiniam procesui nėra pastovus. Šis dydis priklauso nuo daugelio kitų proceso parametru tokiu kaip biomasės ir substratų koncentracijų, deguonies sunaudojimo greičio, temperatūros ir kt.

### 1.1.2 Deguonies sunaudojimo greitis

Daugelis biotechnologinių procesu negalētu vykti be vieno paprasto elemento– deguonies. Vienas iš parametru parodančiu procesu aprūpinimo deguonimi kokybę yra deguonies sunaudojimo greitis, literatūroje dažnai žymimas kaip „OUR“ (*oxygen uptake rate*). OUR galima išmatuoti realiu laiku. Šis dydis gaunamas analizuojant iš bioreaktoriaus išeinančių duju parametru, išmatuojant iš sistemos išeinančių duju srautą ir tose dujose esančio deguonies santykį. Pasinaudojant šiais matavimais, gaunamas deguonies sunaudojimo greitis[3]:

$$\text{OUR} = Q M_{O_2} (0.21 - Y_{O_2}) v_{mol}, \quad (1.8)$$

Kur OUR yra gauta deguonies sunaudojimo greičio vertė, [g/kg/h];  $M_{O_2}$  – deguonies molinė masė išreikšta [g/mol]; Q- iš bioreaktoriaus išeinančių duju srautas [l/h];  $Y_{O_2}$  yra deguonies kiekis išreikštas procentais lyginant su visu iš bioreaktoriaus išsiskiriančių duju kiekiu.

## 1.2 Bioreaktorių tipai

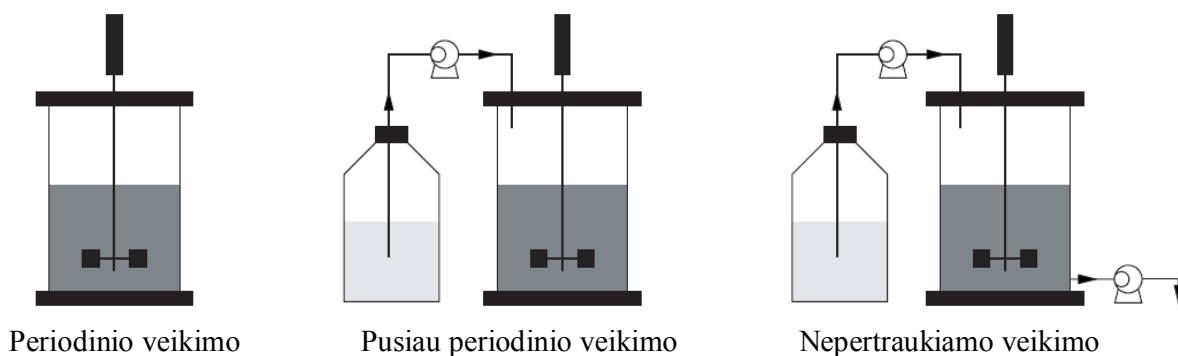
Įrenginys, be kurio negalētu vykti dauguma biotechnologinių procesu yra bioreaktorius. Literatūroje [4] bioreaktorius apibrėžiamas, kaip tam tikro tūrio indas, kuriame vyksta biocheminės reakcijos panaudojant mikroorganizmus arba fermentus. Vykstant minėtiems procesams naudojami įvairūs bioreaktoriai, kuriuos galima suskirstyti pagal įvairius aspektus. Pavyzdžiui ar bioreaktoriuose yra naudojamas deguonis, kaip į įrenginį tiekiamas procesą maitinanti medžiaga (substratai) ir panašiai. Bioreaktorius skirstant, pagal jų veikimo principą, galima išskirti tokias jų grupes: nepertraukiamo veikimo bioreaktoriai, periodinio veikimo sistemos ir pusiau periodinio veikimo bioreaktoriai.

Nepertraukiamo veikimo bioreaktoriams būdinga tai, kad į sistemą patenkančių srautu suma lygi iš jo išeinančių srautu sumai. Naudojant tokio tipo bioreaktorių, medžiagu srautai parenkami taip, kad įrenginio viduje būtų išlaikomas nustatytas santykinis biomasės augimo greitis ir

pagrindinių procese naudojamų medžiagų koncentracijos. Šio tipo bioreaktoriai dažniausiai naudojami praktikoje.

Periodinio veikimo bioreaktoriai išsiskiria tuo, kad viso procesui reikalingos medžiagos į talpą patenka dar neprasidėjus pačiam procesui. Procesu metu į bioreaktorių nepatenka jokie medžiagų srautai, taip pat iš jo nepašalinamos jokios medžiagos (išskyrus atvejį, kai imami mėginiai matavimams atlikti). Tokių bioreaktorių privalumas prieš anksčiau minėtus yra tas, kad naudojant periodinio veikimo bioreaktorių, pasiekiami geresni kokybiniai ir kiekybiniai rodikliai (gaunamos didesnės biomasės ir tikslinio produkto koncentracijos).

Pusiau periodinio veikimo bioreaktoriai turi aukščiau minėtų įrenginių savybių. Jų veikimo principui būdinga tai, kad iš pradžių jis veikia kaip periodinio veikimo bioreaktorius. T.y. proceso pradžioje sistema pilnai užpildoma ir procesas vykdomas tol kol pasiekiamas norimas rezultatas (biomasės koncentracija, tikslinio produkto koncentracija ir pan.). Tada iš bioreaktoriaus ištraukiama didžioji kultivavimo terpės dalis, o į bioreaktorių paduodama nauja procesui reikalingų medžiagų „siunta“. Toliau procesas vyksta tokia pačia eiga, kaip ir pačioje jo pradžioje.



1.1 pav. Bioreaktorių tipai[12]

### 1.3 Biotechnologinio proceso parametrų matavimas

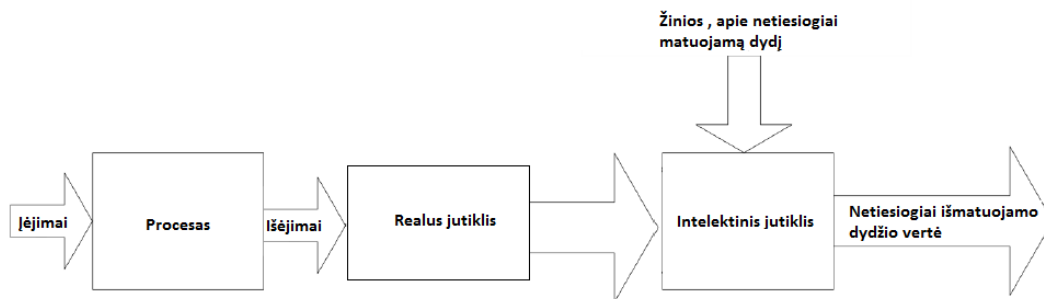
Biotechnologinių procesų stebėjimui ir valdymui, kaip ir kitiems procesams, labai svarbus proceso parametrų matavimas. Šiuos procesuose parametrų matavimas skirstomas į tiesioginius ir netiesioginius matavimus. Tiesioginiais matavimais laikomi tokie matavimai, kai parametro vertė yra gaunama naudojant realų jutiklį (temperatūra, slėgis, pH ir kiti fundamentiniai dydžiai). Pagal montavimo vietą tiesioginio matavimo prietaisai skirstomi į bioreaktoriaus viduje (in-situ) ir bioreaktoriaus išorėje (ex-situ) montuojamus prietaisus[14]. Tačiau biotechnologiniuose procesuose tiesiogiai išmatuoti parametrus ne visada pavyksta. Todėl praktikoje vis dažniau yra taikomi netiesioginio įvertinimo metodai. Taikant šiuos metodus naudojami duomenys gaunami iš

kitų tiesiogiai išmatuojamų parametrų ir naudojant nustatytas parametrų priklausomybes apskaičiuojamas reikiamas dydis. Naudojant netiesioginius įvertinimo metodus galima išmatuoti santykinio biomasės augimo greičio, koncentracijos ir kitus dydžius.

### 1.3.1 Netiesioginiai matavimo metodai

Netiesioginiams proceso matavimams atlikti naudojami vadinamieji intelektiniai arba programiniai jutikliai (*software sensors*). Literatūroje[4] pateikiamas toks intelektinių jutiklių apibrėžimas. Intelektiniai jutikliai- tai virtualūs jutikliai, apskaičiuojantys norimo kintamojo ar parametro dydį pagal susijusių fizikinių matavimų rezultatus. Pagal šį apibrėžimą, norint įvertinti netiesiogiai matuojamą dydį, be programinio jutiklio dar reikalingas ir viską sujungiantis matematinis modelis. Intelektiniai jutikliai gali būti pagrįsti tokių tipų matematiniais modeliais: mažiausių kvadratų metodu, dirbtiniais neuroniniais tinklais, fuzzy logikos sistemomis, mechanistiniais modeliais susidedančiais iš masės balanso lygčių ir t.t.

Programinio jutiklio struktūrinė schema pateikta pirmame paveikslėlyje [11].



1.2pav. Struktūrinė intelektinio jutiklio schema[11]

### 1.3.1 Netiesioginis biomasės koncentracijos įvertinimas naudojant OUR matavimą.

Dar vienas svarbus parametras apibūdinantis biotechnologinio proceso kokybę, kurį realiai išmatuoti yra sunku yra biomasės koncentracija. Vienas iš būdų, kaip naudojant deguonies masės balanso lygtį, gauti minėtą dydį aprašytas literatūroje [9]. Pasinaudojant Luedeking- Piret sąryšiu, kuris teigia, kad vykstat procesui deguonis sunaudojamas biomasės augimui ir jos gyvybinėms funkcijos palaikyti, gaunama deguonies sunaudojimo greičio lygtis.

$$\text{OUR} = \alpha\mu X + \beta X \quad (1.9)$$

Kur  $X$  biomasės kiekis,  $\mu$  biomasės augimo greitis,  $\alpha$  ir  $\beta$  koeficientai. Biomasės koncentracija periodinio veikimo biotechnologiniam procesui aprašoma tokia lygtimi:

$$\frac{dx}{dt} = \mu x - F \frac{x}{w} \quad (1.10)$$

OUR lygtis įrašyta į biomasės koncentracijos lygtį:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{OUR - \beta X}{\alpha} - F \frac{x}{w} = BIR \quad (1.11)$$

Kur BIR yra biomasės koncentracijos prieaugis per laiko vienetą [g/kggh]. Sprendžiant aukščiau užrašytą biomasės koncentracijos diferencialinę lygtį Oilerio metodu galime gauti biomasės koncentracijos vertę bet kuriuo proceso metu[4].

$$x_{OUR}(t_i) = x_{OUR}(t_{i0}) + \sum_{i=1}^n BIR(t_{i-1\Delta})\Delta t_i \quad (1.12)$$

### 1.3.2 Netiesioginis biomasės koncentracijos įvertinimas naudojant BCR matavimą.

Dar vienas metodas, kurį taikant galima gauti biomasės koncentracijos dydį aprašyas literatūroje [9]. Šiam metodui reikalingas buferinio šarmo tirpalo (*base consumption rate arba BCR*) sunaudojimo greičio matavimas. Biotechnologiniuose procesuose šis tirpalas naudojamas išlaikyti pastovų kultyvavimo terpės pH, kuris kinta dėl proceso parametrų (biomasės koncentracijos kitimo, į procesą tiekiamų medžiagų ir kt.). Metodas aprašomas tokiomis lygtimis:

$$BCR = \lambda_1 \mu X + \lambda_2 \frac{FS}{w} \quad (1.13)$$

Čia  $X$  biomasės kiekis,  $\mu$  biomasės augimo greitis,  $\lambda_1$  ir  $\lambda_2$  koeficientai. Biomasės koncentracija periodinio veikimo biotechnologiniam procesui aprašoma tokia lygtimi:

$$\frac{dx}{dt} = \mu x - F \frac{x}{w} \quad (1.14)$$

BCR lygtis įrašyta į biomasės koncentracijos lygtį:

$$\frac{dx}{dt} = \frac{BCR - \lambda_2 \frac{FS}{w}}{\lambda_1} - F \frac{x}{w} = BIR \quad (1.15)$$

Sprendžiant aukščiau užrašytą biomasės koncentracijos diferencialinę lygtį Oilerio metodu galime gauti biomasės koncentracijos vertę bet kuriuo proceso metu[4].

$$x_{BCR}(t_i) = x_{BCR}(t_{i0}) + \sum_{i=1}^n BIR(t_{i-1\Delta})\Delta t_i \quad (1.16)$$

### 1.3.3 Netiesioginis santykinio biomasės augimo greičio ir biomasės koncentracijos įvertinimas naudojant išplėstinį Kalmano filtrą

Literatūroje [8] santykinio biomasės augimo greičio ir biomasės koncentracijos įvertinimui realiu laiku, buvo pasiūlyta naudoti išplėstą Kalmano filtrą (*Extended Kalman Filter, EKF*). Išplėsto Kalmano filtro užduotis yra naudojant proceso modelį ir matavimo duomenis, nuspėti sekančią išėjimo vertę (šiuo atveju santykinio biomasės augimo greičio ir biomasės koncentracijos). Šiame pavyzdyje naudojami tokie realiu laiku gaunami parametrai: deguonies sunaudojimo greitis (OUR), anglies dioksido gamybos greitis (*carbon dioxide production rate, CPR*), buferinio šarmo tirpalo suvartojimo greitis (BCR). Minėtų parametrų sąryšis su ieškomais parametrais aprašomas sekančiomis lygtimis [10]:

$$OUR = Y_{or}\mu X + Y_{om}X, \quad (1.17)$$

$$CPR = Y_{crX}\mu X + Y_{cm}X, \quad (1.18)$$

$$BCR = Y_{brX}\mu XW. \quad (1.19)$$

Kur  $Y_{or}$ ,  $Y_{om}$ ,  $Y_{crX}$ ,  $Y_{cm}$ ,  $Y_{brX}$  yra modelio parametrai. RealIU laiku gaunamų parametrų išraiška visai kultivavimo terpės masei išreiškiama tokiomis lygtimis:

$$OUR_i = \sum_{i=1}^n OUR_i W_i \Delta t_i, \quad (1.20)$$

$$CPR_i = \sum_{i=1}^n CPR_i W_i \Delta t_i, \quad (1.21)$$

$$BASE = Y_{brX}X_i W_i. \quad (1.22)$$

Pateiktam pavyzdžiui reikalingas ir skiedimo greitis (D) aprašomas tokia lygtimi:

$$D_k = \frac{W_k - W_{k-1}}{0.5\Delta t_i(W_k + W_{k-1})}, \quad (1.23)$$

Tarkim, kad biomasės koncentracija (X) ir santykinis biomasės augimo greitis ( $\mu$ ) sudaro vektorių x:

$$x = [X \quad \mu]^T, \quad (1.24)$$

Kaip ir minėta anksčiau, kalmano filtro paskirtis yra pagal turimas matavimų duomenis ir proceso modelį nuspėti įvertinamo parametro vertę sekančiu momentu. Literatūroje[8] pateiktas

išplėstinio Kalmano filtro taikymo pavyzdys aiškinamas biotechnologiniu procesu arpašomu tokia lygtimi:

$$\frac{dx}{dt} = M + w = \frac{d}{dt} \begin{pmatrix} X \\ \mu \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mu X - DX \\ 0 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} W_1 \\ W_2 \end{pmatrix}, \quad (1.25)$$

Kur  $M$  yra dešionioji diferencialinės lygties pusė, o  $W_1$  ir  $W_2$ - modeliavimo baltasis triukšmas apibūdinantis modelio netikslumus arba neapibrėžtumus. Išplėstinio Kalmano filtro taikymui pavaizduoti, parinktas biotechnologinis procesas, kurio santykinio biomasės augimo greitis fazės metu nekinta, todėl  $\mu$  išvestinė laiko atžvilgiu yra lygi 0. Kadangi įvertinami dydžiai negali būti arba sunkiai išmatuojami realiu laiku, šie dydžiai susiejami su parametrais, kuriuos galima gauti realiu laiku ir taip sudaromas matavimų modelis:

$$y = N + v = \begin{pmatrix} OUR \\ CPR \\ BASE \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} Y_{or}\mu X + Y_{om}X \\ Y_{crX}\mu X + Y_{om}X \\ Y_{brX}\mu XW \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \end{pmatrix}, \quad (1.26)$$

Čia  $v = [v_1 \ v_2 \ v_3]^T$  yra baltojo triukšmo vektorius. Taip pat priimama sąlyga, kad įvertinamus biomasės koncentracijos ir santykinio biomasės augimo greičio parametrus, pradiniu laiko momentu  $t = 0$  veikia baltasis triukšmas lygus  $p_1$  ir  $p_2$ :

$$x(t = 0) = [X_0 \ \mu_0]^T + [p_1 \ p_2]^T, \quad (1.27)$$

Pirmiausiai išplėstinis Kalmano filtras (EKF) atlieka vektoriaus  $x$  prognozę laiko momentu  $k$ , pažymėtus įvertinamus parametrus  $\mu_{pk}$  ir  $X_{pk}$ , taikydamas anksteniu laiko momentu  $t_{k-1} = t_k - \Delta t$  gautą reikšmę:

$$x_{pk} = x_{k-1} + dtM_D = \begin{pmatrix} X_{pk} \\ \mu_{pk} \end{pmatrix} + dt \begin{pmatrix} (\mu_{k-1} - D_{k-1})X_{k-1} \\ 0 \end{pmatrix}, \quad (1.28)$$

Panaudojant  $x_{pk}$  įvertinimo vertę, prognozuojamas sekantis matavimo rezultatas:

$$y_{pk} = N(x_{pk}) = \begin{pmatrix} OUR_{pk} \\ CPR_{pk} \\ BASE_{pk} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} Y_{or}\mu_{pk}X_{pk} + Y_{om}X_{pk} \\ Y_{crX}\mu_{pk}X_{pk} + Y_{om}X_{pk} \\ Y_{brX}X_{pk}W_{k-1} \end{pmatrix}, \quad (1.29)$$

Aprašius pagrindines algoritmą apibūdinančias lygtis, galima EKF darbą sudėlioti į tokius etapus:

A) Įvertinama proceso modelio kovariacinė matrica

$$P_{pk} = \Phi_{k-1}P_{k-1}\Phi_{k-1}^T, \quad (1.30)$$

Kur  $\Phi_{k-1}$  yra modelio Jakobianas ankstesniu laiko momentu k-1

$$\Phi_{k-1} = \frac{dx_{pk}}{dX_{k-1}} = \begin{pmatrix} 1 + (\mu_{k-1} - D_{k-1})\Delta t & X_{k-1}\Delta t \\ 0 & 1 \end{pmatrix}, \quad (1.31)$$

B) Įvertinama skaičiuojamos reikšmės kovariacinė matrica

$$Q_k = C_k P_{pk} C_k^T + V_k \quad (1.32)$$

$$\text{Kur } C_k = \frac{dN(x_{pk})}{dx_{pk}}, \quad (1.33)$$

C) Kalmano filtro stiprinimas aprašomas sekančia lygtimi:

$$K_k = P_k \frac{1}{Q_k} C_k^T = \frac{P_k C_k^T}{C_k P_k C_k^T + V_k}, \quad (1.34)$$

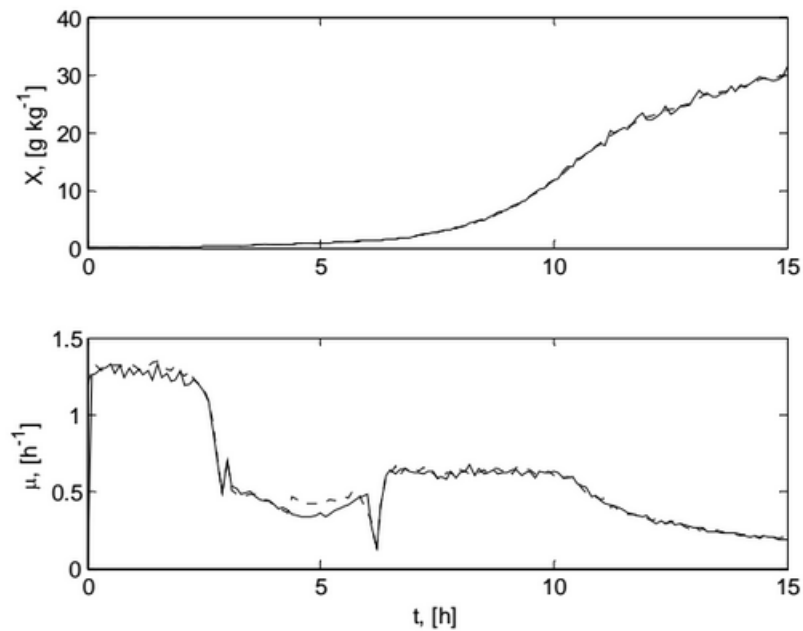
D) Galutinis EKF įvertinimas apibrėžiamas tokia lygtimi:

$$x_k = x_{pk} + K_k (y_k - y_{pk}), \quad (1.35)$$

E) Kai jau žinoma  $x_k$  reikšmė, galima atnaujinti kovariacinę matricą  $P_k$

$$P_k = P_{pk} - K_k C_k^T P_{pk}. \quad (1.36)$$

EKF filtro biomasės koncentracijos ir santykinio biomasės augimo greičio įvertinimo rezultatų pavyzdys pateiktas literatūroje[8]:

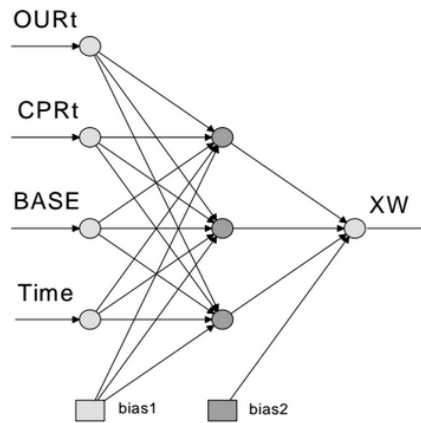


**1.3pav.** EKF taikymo biotechnologiniuose procesuose rezultatų pavyzdys [8]



### 1.3.4 Netiesioginis santykinio biomasės augimo greičio ir biomasės koncentracijos įvertinimas naudojant dirbtinius neuroninius tinklus

Kitas literatūroje [8] aptartas netiesioginis būsenos įvertinimo algoritmas naudoja tiesioginio sklaidimo dirbtinį neuroninį tinklą (*feed-forward artificial neural network, feed-forward ANN*). Dirbtiniai neuroniniai tinklai yra priskiriami juodosios dėžės modelių klasei. Tokių tinklų struktūrą sudaro keli sluoksniai, šie sluoksniai priskiriami tokioms rūšims: įėjimų sluoksnis, paslėptas sluoksnis, išėjimų sluoksnis. Šie sluoksniai yra sudaryti iš mazgų turinčių individualius svorius, visi šie mazgai ir nulemia sąryšį tarp įėjimų ir išėjimų sluoksnio.

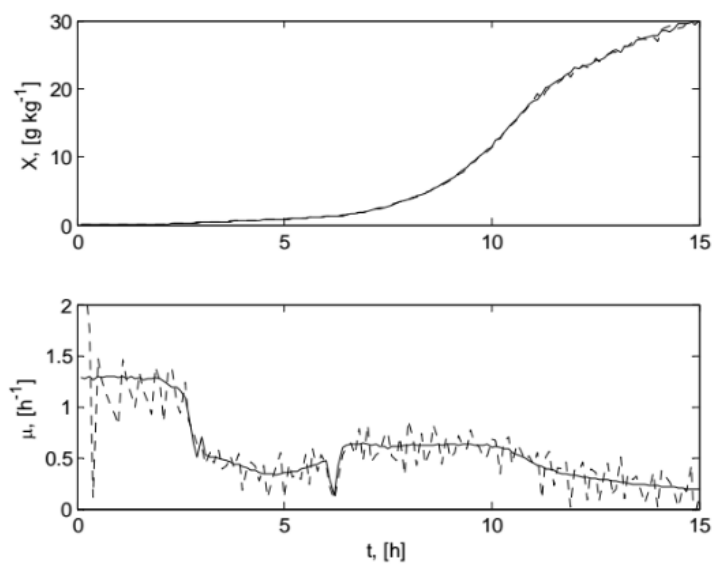


1.4pav. DNT struktūrinės schemos pavyzdys [8]

Literatūroje [8] pateiktame pavyzdyje buvo taikyta 1.4 paveiksle pavaizduota tiesinės sklaidos dirbtinio neuroninio tinklo struktūra, kur įėjimo sluoksnį sudaro deguonies sunaudojimo greičio, anglies dioksido gamybos greičio, bazės ir proceso laiko mazgai. Šio tinklo išėjimas yra biomasės koncentracija išreikšta visai kultivavimo terpės masei. Šio DNT mokymui buvo panaudotas Levenbergo- Marquardto algoritmas, pasižymintis didele sparta ir tikslumu[5]. Norint gauti biomasės koncentraciją, reikia DNT išėjimą padalinti iš realiu laiku išmatuojamos kultivavimo terpės masės. Biomasės santykinio augimo greitis gaunamas naudojant tokią lygtį[8]:

$$\mu = \frac{d(XW)}{dt} \frac{1}{XW} = \frac{\Delta XW}{\Delta t} \frac{1}{XW} = \frac{X_i W_i - X_{i-1} W_{i-1}}{\Delta t} \frac{1}{0.5(X_i W_i - X_{i-1} W_{i-1})}. \quad (1.37)$$

Tiesinės sklaidos DNT biomasės koncentracios ir santykinio biomasės augimo greičio įvertinimo rezultatų pavyzdys pateiktas literatūroje [8]:



**1.5pav.** DNT taikymo biotechnologiniuose procesuose rezultatų pavyzdys [8]

## 2. METODOLIGINĖ DALIS

### 2.1 Prielaidos biotechnologinio proceso matematiniam modeliavimui

Pagrindinę nagrinėjamo biotechnologinio proceso dalį sudaro medžiagų balanso lygtys, aprašytos netiesinėmis diferencialinėmis lygtimis. Pasinaudojant šiomis lygtimis galima modeliuoti biotechnologinio proceso metu kintančias biomasės ir maitinančių substratų koncentracijas, kultivavimo terpės tūrį, svorį ir kitų dominančių parametrų vertes, bet kuriuo proceso momentu.

Kuriant biotechnologinio proceso matematinį modelį sudaroma jo metu kintančių medžiagų balanso lygčių sistema, priimant prielaidą, kad uždaroje sistemoje (biotechnologiniuose procesuose uždara sistema yra bioreaktorius) medžiagos susimaišo idealiai. Tai reiškia, kad kiekviename bioreaktoriaus taške atitinkamu lauko momentu medžiagų koncentracijos yra vienodos, o medžiagų kiekiai sistemoje kinta tik dėl bioreaktoriuje vykstančių biocheminių procesų ir į bioreaktorių tiekiamų medžiagų.

### 2.2 Biotechnologinio proceso matematinis modelis

Šiam tyrimui atlikti, buvo pasinaudotas literatūroje[1] aprašytas biotechnologinis procesas, kuris vyksta naudojant periodinį su pamaitinimu bioreaktorių. Procesu trukmė yra 10 valandų, po aštuonių pasikeičia modelio parametrų  $\alpha$  ir  $\beta$  vertės. Pagrindinis tikslas vykstant šiam procesui-tikslinės medžiagos gamyba, panaudojant atitinkamus substratus ir bakterijų rūšis. Atliekant tyrimą, kokios medžiagos, bakterijų rūšys nėra atsižvelgiama. Pagrindinis darbo tikslas naudojantis matematinio modeliu iširti biomasės santykinio augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmo veikimą, panaudojant skirtingus metodus.

Biotechnologinio proceso matematinio modelio lygtys[1], kurios bus realizuojamos Matlab/Simulink paketu:

Biomasės koncentracijos lygtis:

$$\frac{dx}{dt} = \mu(s, T)x - (u + F1) \frac{x}{w} \quad (2.1)$$

Substrato koncentracijos lygtis:

$$\frac{ds}{dt} = -qs(s)x + u \frac{s}{w} - (u + F1) \frac{s}{w} \quad (2.2)$$

Rekombinuotų baltymų koncentracijos lygtis:

$$\frac{dpx}{dt} = qp_x(\mu, p_x) \quad (2.3)$$

Kultyvavimo terpės tūrio lygtis:

$$\frac{dw}{dt} = U + F1 + F2 \quad (2.4)$$

Santykinio biomasės augimo greičio lygtis:

$$\mu(s, T) = \mu_{\max} \frac{s}{K_s + s} \frac{K_i}{K_i + s} \exp(Kt(T - T_{ref})) \quad (2.5)$$

Substrato santykinio suvartojimo lygtis:

$$q_s(s) = \frac{1}{Y_{xs}} \mu(s, T) + m \quad (2.6)$$

Rekombinuotų baltymų koncentracijos kitimo greičio lygtis:

$$q_{px}(\mu, p_x) = \frac{1}{T_{px}} (p_{\max}(\mu) - p_x) \quad (2.7)$$

Funkcinė priklausomybė parodanti maksimalią pasiekiamo tikslinio produkto koncentraciją stacionariame režime:

$$p_{\max}(\mu) = \frac{\mu K_m}{K_\mu + \mu + \mu^2 / K_i \mu} \quad (2.8)$$

Deguonies sunaudojimo greitį modeliuoti galima pasinaudojant Luedeking- Piret sąryšiu[2]. Tai yra, kad OUR modeliuojamas įvertinant du narius. Deguonies sunaudojimas biomasės gyvybinėms funkcijoms palaikyti ir jos augimui.

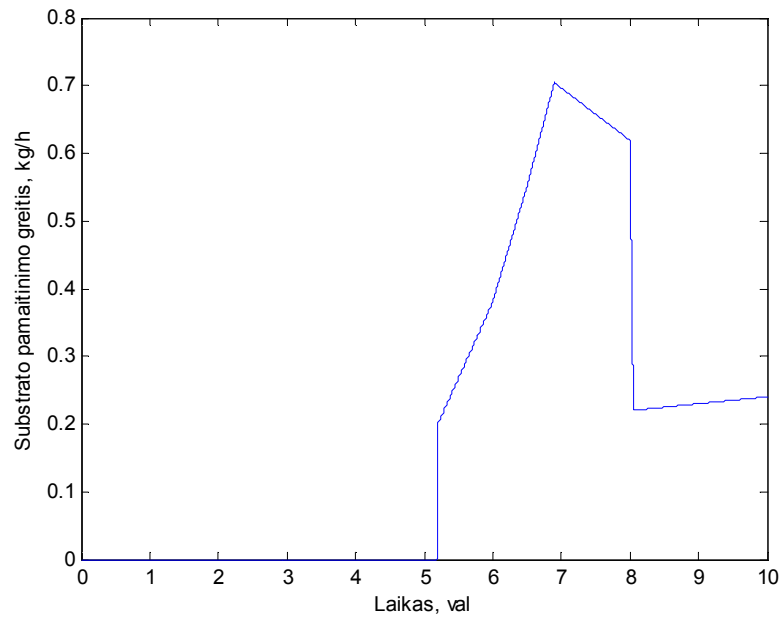
$$\text{OUR} = \alpha \mu x w + \beta x w \quad (2.9)$$

Čia:  $x$  yra biomasės koncentracija [g/kg],  $s$ - substrato koncentracija [g/kg],  $p_x$ - rekombinuotų baltymų koncentracija [U/g],  $w$  yra kultyvavimo terpės masė [kg],  $\mu$ - santykinis biomasės augimo greitis [1/h],  $u$ -substrato maitinimo greitis [kg/h],  $F1$ -patenkančios į bioreaktorių masės srautas [kg/h],  $F2$  yra iš bioreaktoriaus imamų mėginių masės srautas [kg/h],  $T$ - kultyvavimo terpės temperatūra [ $^{\circ}\text{C}$ ],  $\text{OUR}$ - deguonies sunaudojimo greitis [g/kg/h],  $K_i$ ,  $K_s$ ,  $K_m$ ,  $K_\mu$ ,  $K_i \mu$ ,  $K_t$ ,  $Y_{xs}$ ,  $m$ ,  $T_{px}$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\mu_{\max}$ – modelio parametrai.

2.1 lentelė. Pradinės modelio parametru vertės pateiktos literatūroje[1]:

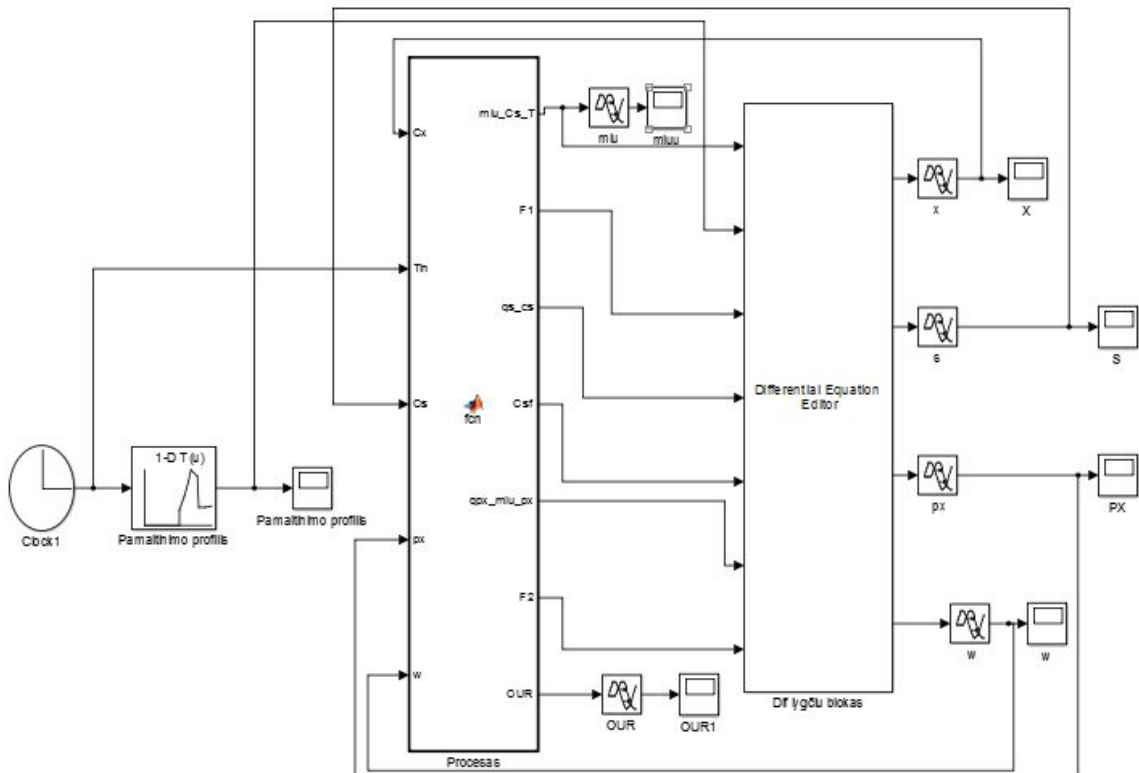
Parametras	Parametro vertė	Matavimo vienetai
$K_i$	0.938	g/kg
$K_{i\mu}$	0.0174	l/h
$K_m$	751	U/g
$K_{\mu}$	0.61	l/h
$K_s$	0.00333	g/kg
$m$	0.0242	g/l
$T_{px}$	1.495	h
$Y_{xs}$	0.46	g/g
$K_t$	0.0495	1/°C
$\mu_{max}$	0.737	1/l
$\alpha$	0.5/0.75	g/g
$\beta$	0.15/0.015	g/g/h
$T$	32	°C
$T_{ref}$	37	°C
$X(0)$	0.116	g/kg
$S(0)$	9.5	g/kg
$W(0)$	5.05	g/kg
$T_{ind}$	8	h
$S_f$	151	g/kg

Aukščiau minėtas matematinis modelis buvo realizuotas naudojant modeliavimui skirtą paketą Matlab/Simulink. Modelyje buvo panaudotas literatūroje[1] nurodytas substrato pamaitinimo greičio profilis :



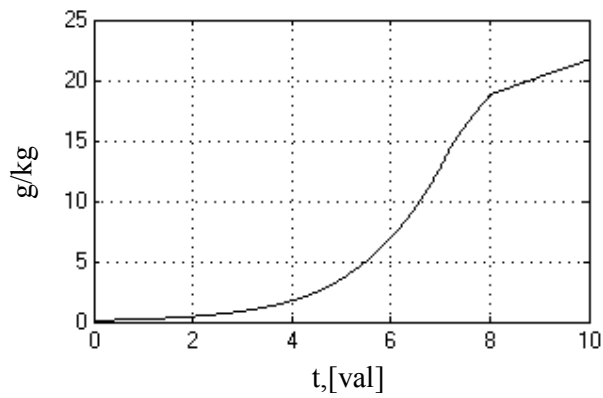
**2.1 pav.** Pamaitynimo greičio profilis

Proceso matematinio modelio schema Matlab/simulink aplinkoje:

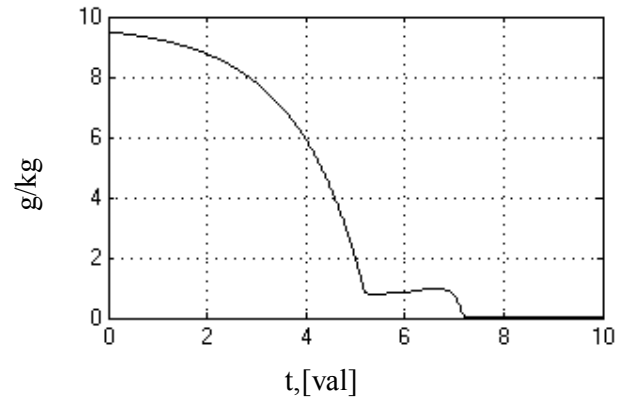


**2.2 pav.** Proceso modelis Matlab/Simulink aplinkoje

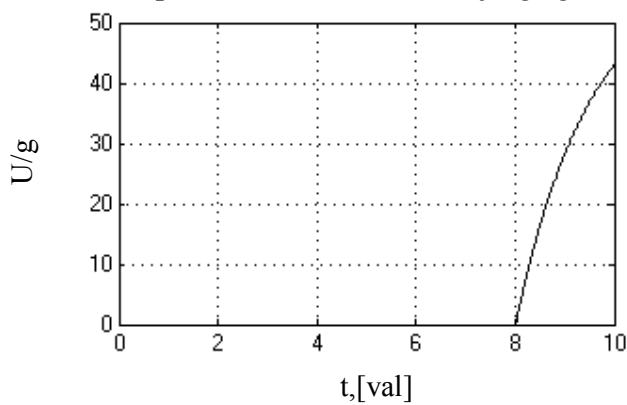
Proceso modeliavimo rezultatai pateikiami 2.3-2.8 paveiksluose:



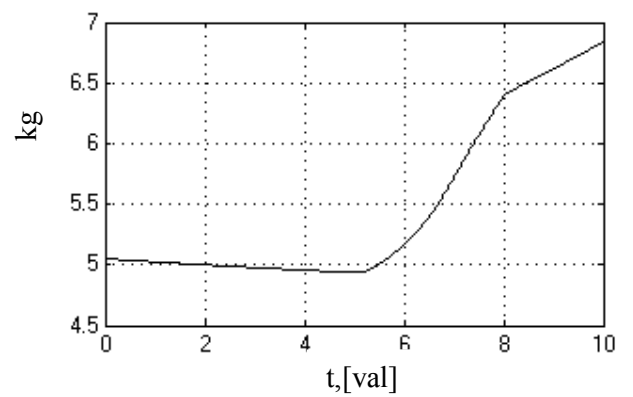
**2.3pav.** Biomosės koncentracija, g/kg



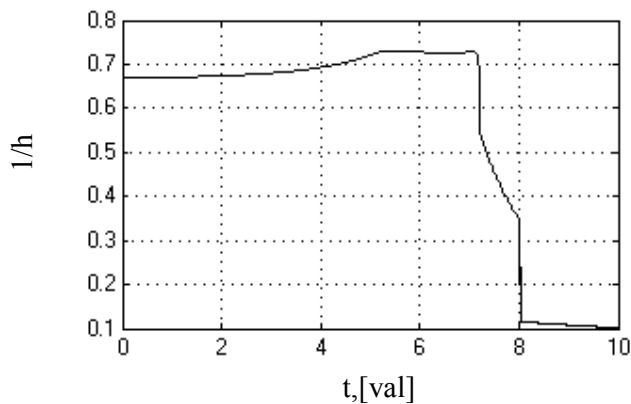
**2.4pav.** Substrato koncentracija, g/kg



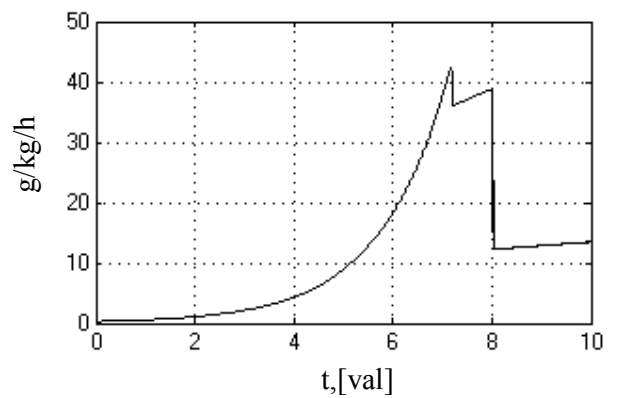
**2.5 pav.** specifinis baltymų aktyvumas, U/g



**2.6pav.** Biomosė, kg



**2.7pav.** Santykinis biomasės augimo greitis, 1/h



**2.8pav.** Deguonies sunaudojimo greitis, g/kg

### 2.3 Santykinio biomasės augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmas naudojant OUR modelio parametrų santykį

Ankstesniame poskyryje pateikto biotechnologinio proceso rezultatai sutapo su nagrinėtoje literatūroje [1] pateiktais rezultatais. Literatūroje pateikti rezultatai buvo gauti, parametrus matuojant ne realiu laiku. Tokie matavimai vykdomi imant mėginius iš proceso tam tikrais laiko intervalais ir juos nagrinėjant laboratorijoje (modelio parametras F2). Toks pagrindinių proceso parametrų įvertinimas yra gana neefektyvus, nes gaunamas didelis vėlavimas. Gali būti nepasiekiamas didžiausias proceso efektyvumas, arba įvykus netikėtai klaidai ir to nepastebėjus laiku, gali būti sugadinamas bioprocetas, ir medžiagos tampa nebenaudojamos.

Tačiau tobulėjant skaičiavimo technikai, pasitelkiant gautus duomenis, balanso lygtis bei matematinius modelius, atsirado galimybė naudoti pagrindinių proceso parametrų netiesioginius būsenos įvertinimo algoritmus (estimatorius). Pastarieji realiuoju laiku gali netiesiogiai įvertinti biomasės koncentracijos, santykinio biomasės augimo greičio ar kitų biotechnologinių parametrų vertes, naudojant įvairius tiesiogiai, realiu laiku matuojamus proceso kintamuosius. Panaudojant literatūroje [2] aprašytą pavyzdį apie santykinio biomasės augimo greičio įvertinimą netiesioginiu būdu, naudojant tiesiogiai išmatuojamą OUR koncentraciją, bus bandoma iširti galimybę naudoti estimatorių anksčiau nagrinėtam biotechnologiniam procesui. Biotechnologinio modelio matematinės lygtys.

Pagal Luedeking-Piret sąryšį, deguonies sunaudojimo greitis mikrobiologinėje terpėje priklauso nuo biomasės augimo aprašomo tokiomis lygtimis:

$$OUR = \alpha \mu X + \beta X \quad (2.11)$$

Pastarosios lygties išvestinė nuo laiko:

$$\frac{dOUR}{dt} = \alpha \frac{d\mu}{dt} X + OUR * \mu \quad (2.12)$$

Deguonies sunaudojimo greičio kitimas pažymimas R:

$$R = \frac{1}{OUR} \frac{dOUR}{dt} \quad (2.13)$$

Dinaminis ryšys tarp kintamųjų R ir  $\mu$  aprašomas šia lygtimi:

$$R = \frac{1}{\mu + \beta/\alpha} \frac{d\mu}{dt} \quad (2.14)$$



Arba pirmosios eilės perdavimo funkcija:

$$G_{\mu/R} = \frac{\mu(s)}{R(s)} = \frac{1}{Ts+1} \quad (2.15)$$

Kur  $s$ - Laplaso transformacijos operatorius.  $T$ - laiko pastovioji išreikšta santykiniai augimo greičiui:

$$T = \frac{1}{\mu+\beta/\alpha} \quad (2.16)$$

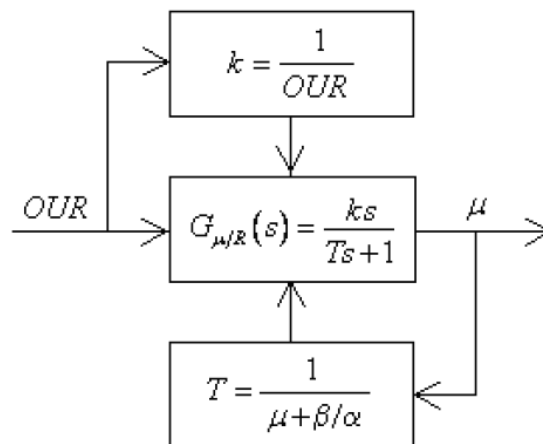
Iš ( $R$ ) lygties gaunamas dinaminis ryšys tarp deguonies sunaudojimo greičio ir  $R$  aprašomas tokia perdavimo funkcija:

$$G_{R/OUR} = \frac{R(s)}{OUR(s)} = ks \quad (2.17)$$

Čia  $k = \frac{1}{OUR}$ . Panaudojant ( $G_{\mu/R}$ ) ir ( $G_{R/OUR}$ ) lygtis, galime netiesiogiai išmatuoti santykinio biomasės augimo greičio dydį, realiai matuojant  $OUR$  vertę. Santykinio biomasės augimo greičio būsenos įvertinimo algoritmas aprašomas sekančia perdavimo funkcija:

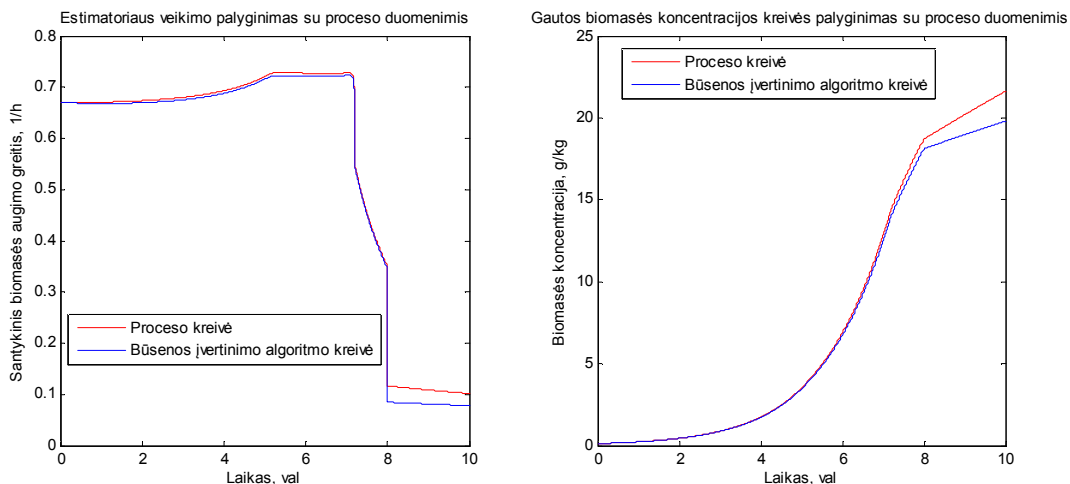
$$G_{\mu/R} = \frac{\mu(s)}{R(s)} = \frac{ks}{Ts+1} \quad (2.18)$$

Blokinė santykinio biomasės augimo greičio algoritmo schema pateikiama 3pav.:



**2.9pav.** Blokinė santykinio biomasės augimo greičio būsenos algoritmo schema [2]

Šis estimatorius buvo realizuotas Matlab/simulink aplinkoje. Jo kodas pateikiamas prieduose, o santykinio biomasės augimo greičio ir biomasės koncentracijos palyginimas su proceso duomenimis 2.10pav.:



**2.10pav.** Būsenos įvertinimo algoritmo išėjimų (santykinio biomasės augimo greičio ir biomasės koncentracijos) palyginimas su proceso duomenimis

## 2.4 Santykinio biomasės augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmas naudojant OUR modelį

Dar vienas būdas, kaip gauti santykinį biomasės augimo greitį yra susijęs su darbe jau minėta sąryšį, kuris teigia deguonies suvartojimas biotechnologiniame procese susideda iš dviejų dalių. T.y. iš deguonies sunaudojimo biomasės gyvybinių funkcijų palaikymui ir jos augimui.

$$OUR = \alpha \mu x w + \beta x w \quad (2.19)$$

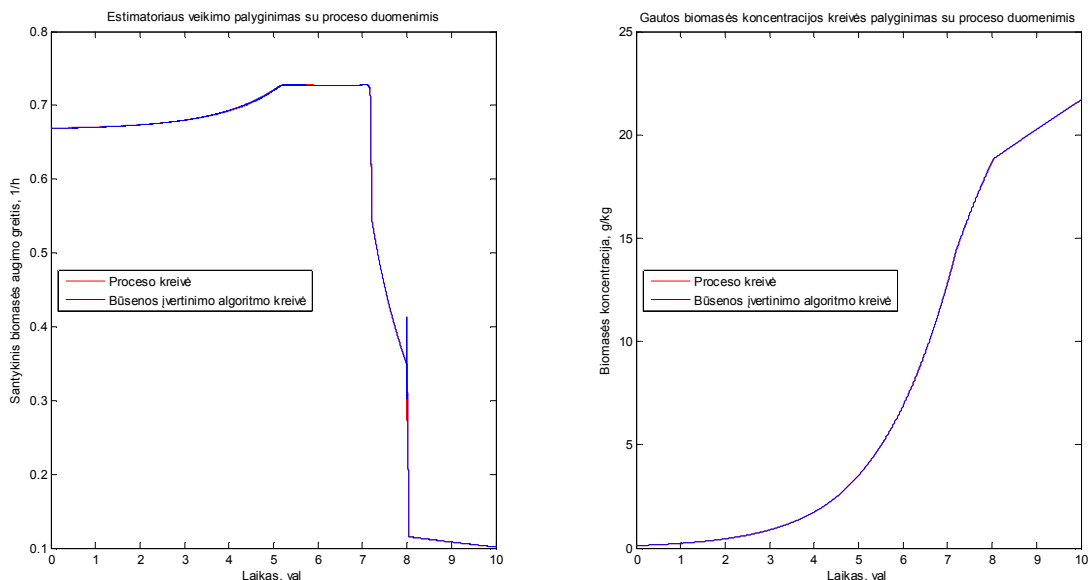
Išreiškime šią lygtį  $\mu$  atžvilgiu:

$$\mu = \frac{OUR - \beta x w}{\alpha x w} \quad (2.20)$$

Deguonies sunaudojimo greitį, kaip ir kitus pastarosios lygties narius galime gauti tiesioginių matavimų arba žinių apie procesą dėka. Vienintelis dydis, kurį sunku išmatuoti realiai yra biomasės koncentracija. Ją galima apskaičiuoti pasinaudodami literatūroje aprašytu pavyzdžiu [1], kuris teigia, kad žinant deguonies sunaudojimo greitį, biomasės koncentraciją bet kuriuo laiko momentu galima apskaičiuoti naudojant tokią lygtį:

$$x(t_i) = x_{OUR}(t_{i0}) + \sum_{i=1}^n BIR(t_{i-1} \Delta) \Delta t_i \quad (2.21)$$

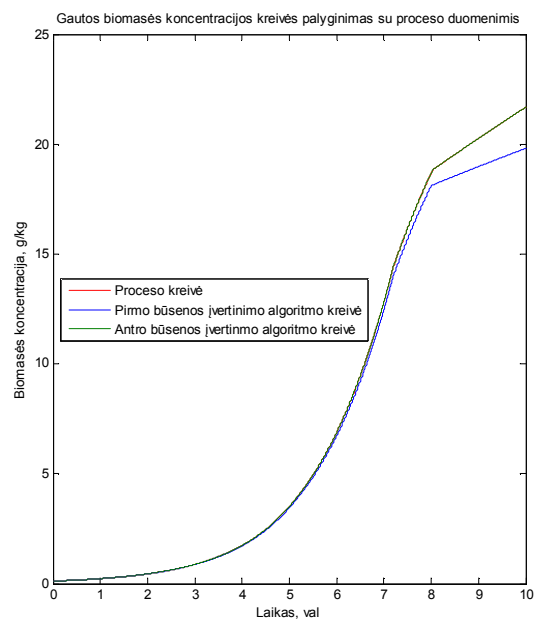
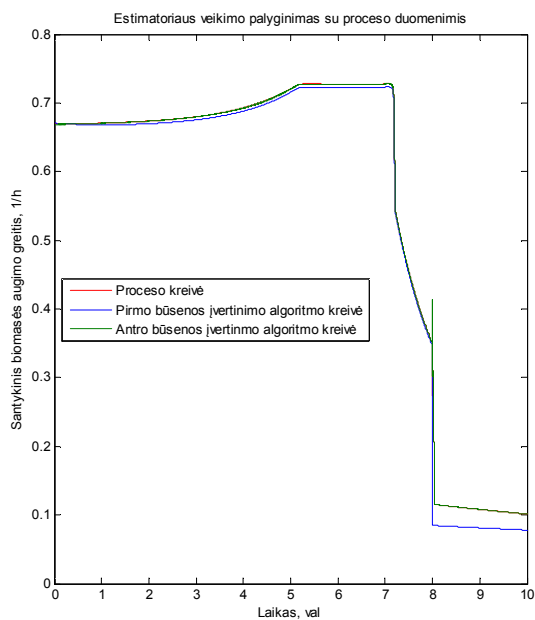
Čia BIR yra biomasės koncentracijos prieaugis per laiko vienetą [g/kg]. Šio estimatorius buvo realizacijos Matlab/simulink aplinkoje. Jo kodas pateikiamas prieduose, o santykinio biomasės augimo greičio ir biomasės koncentracijos palyginimas su proceso duomenimis 2.11 pav.:



**2.11 pav.** Būsenos įvertinimo algoritmo išėjimų (santykinio biomasės augimo greičio ir biomasės koncentracijos) palyginimas su proceso duomenimis

## 2.5 Santykinio biomasės augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmų palyginimas

Atlikus matematinio modeliavimo procedūrą Matlab/simulink aplinkoje paaiškėjo, kad santykinio biomasės augimo greičio netiesioginio būsenos įvertinimo algoritmas apžvelgtas 2.3 skyriuje sugeneravo 1,583% santykinę paklaidą lyginant estimatoriumi gautą kreivę su realia proceso kreive gauta pagal literatūroje aprašytą procesą [1], o sekantis algoritmas 0,017% santykinę paklaidą. Naudojant 2.3 skyriuje aprašytą estimatorių buvo gauta biomasės koncentracija. Palyginus biomasės koncentracijos dydį su koncentracija, kuri turėjo būti pasiekta pagal literatūroje aprašytą procesą paaiškėjo, kad proceso pabaigoje buvo gautas 2,081 g/kg koncentracijų skirtumas. Analogiškai palyginus sekantį būsenos įvertinimo algoritmą buvo gautas 0,0009 g/kg biomasės koncentracijos neatitikimas. Sekančiame skyriuje bus tiriama šiame skyriuje aprašytų santykinio biomasės augimo greičio įvertinimo algoritmų veikimo kokybė pagal intelektinio jutiklio veikimo kokybę galinčius paveikti faktorius. Būsenos įvertinimo algoritmų palyginimas pavaizduotas 2.12 pav:



**2.12pav.** Būsenos įvertinimo algoritmo išėjimų (santykinio biomasės augimo greičio ir biomasės koncentracijos) palyginimas su proceso duomenimis

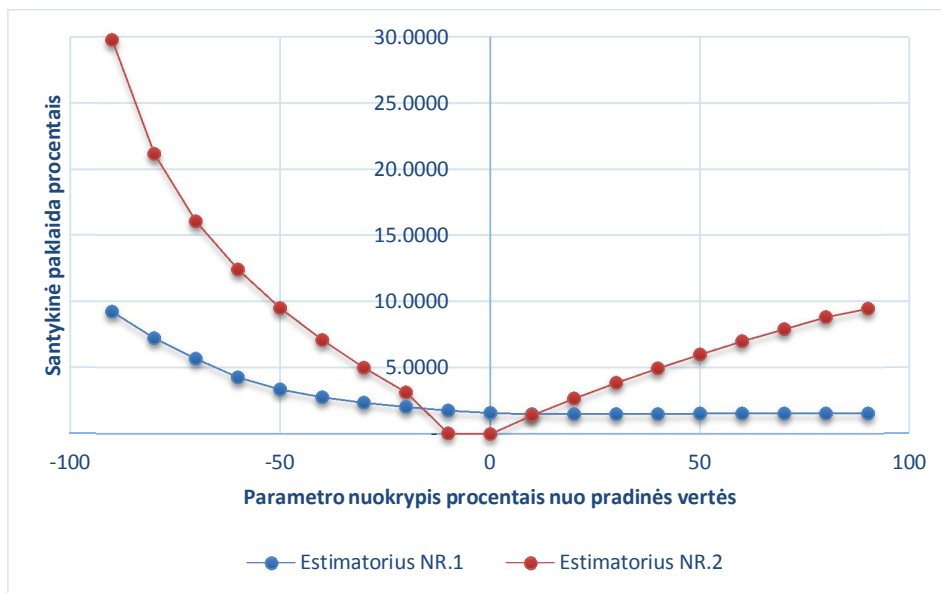
### 3. TYRIMO REZULTATŲ DALIS

#### 3.1. Modelio parametrų įtaka santykinio biomasės augimo greičio įvertinimo algoritmu kokybei

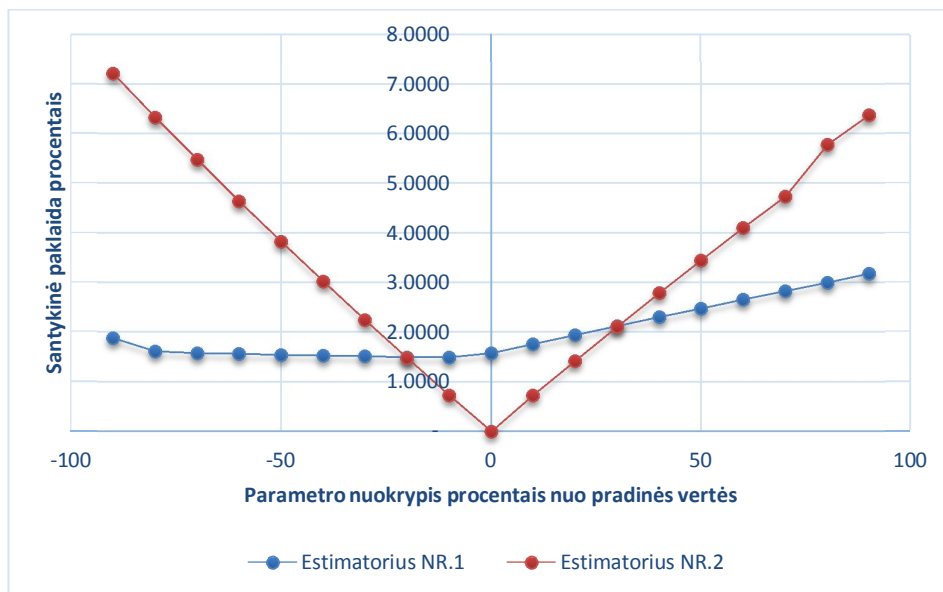
Pastarajame skyriuje pateikti grafikai buvo gauti naudojant visiškai tikslius modelio parametrus. Tačiau visiškai tiksliai identifikuoti modelio parametrus ne visuomet pavyksta. Todėl buvo atliktas tyrimas, kaip 2 skyriuje aprašyti būsenos įvertinimo algoritmai veikia, kai modelio parametrai nesutampa su intelektiniame jutiklyje įrašytais parametrais. Buvo pasirinkti modelio parametrai  $\alpha$  ir  $\beta$ . Naudojant modeliavimo paketą Matlab/simulink buvo keičiama  $\alpha$  ir  $\beta$  parametrų vertės (bandymai buvo atskiri, keičiant tik vieną ir parametrų, kitą paliekant pastovų) su kiekvienu bandymu vis pridėdant po 10 procentų nuo pradinės parametro vertės. Atliekant šiuos bandymus, kiekvienu atveju buvo skaičiuojama santykinio biomasės augimo greičio santykinė paklaida, lyginant su santykinio biomasės augimo greičiu pateiktu literatūroje [1].

Taip pat buvo skaičiuojamas biomasės koncentracijų skirtumas proceso pabaigoje tarp literatūroje pateiktų duomenų ir biomasės koncentracijos gautos taikant atitinkamą būsenos įvertinimo algoritmą. Dėl patogumo santykinio biomasės augimo greičio būsenos įvertinimo algoritmą aprašytą 2.3 skyriuje pavadinkime estimatorius nr.1, o 2.4 skyriuje- estimatorius nr.2.

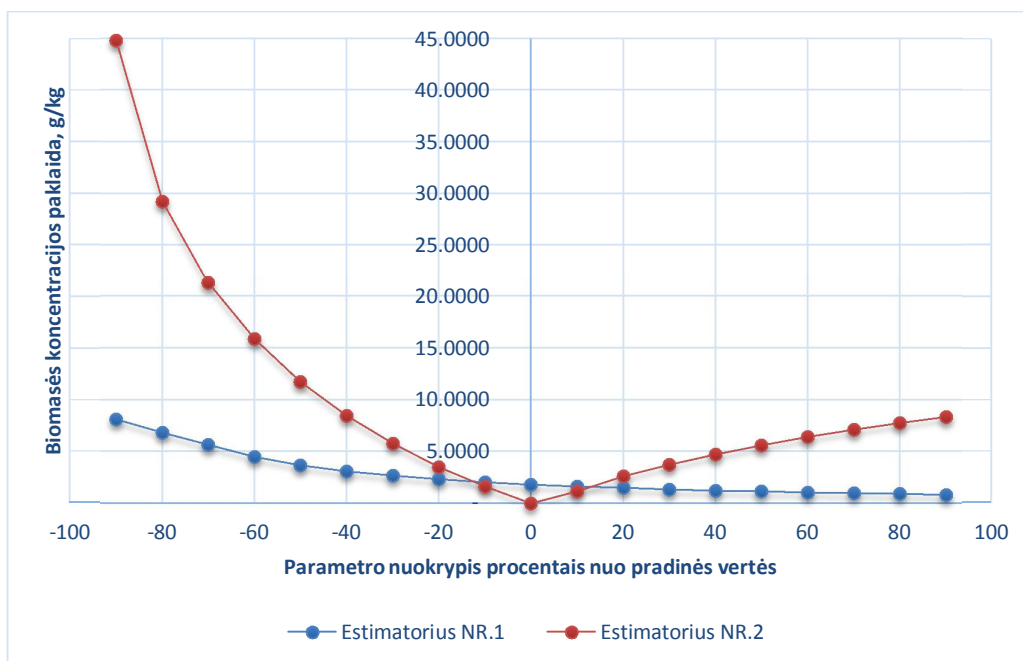
3.1-3.4 pav. pateikiami tyrimo grafikai.



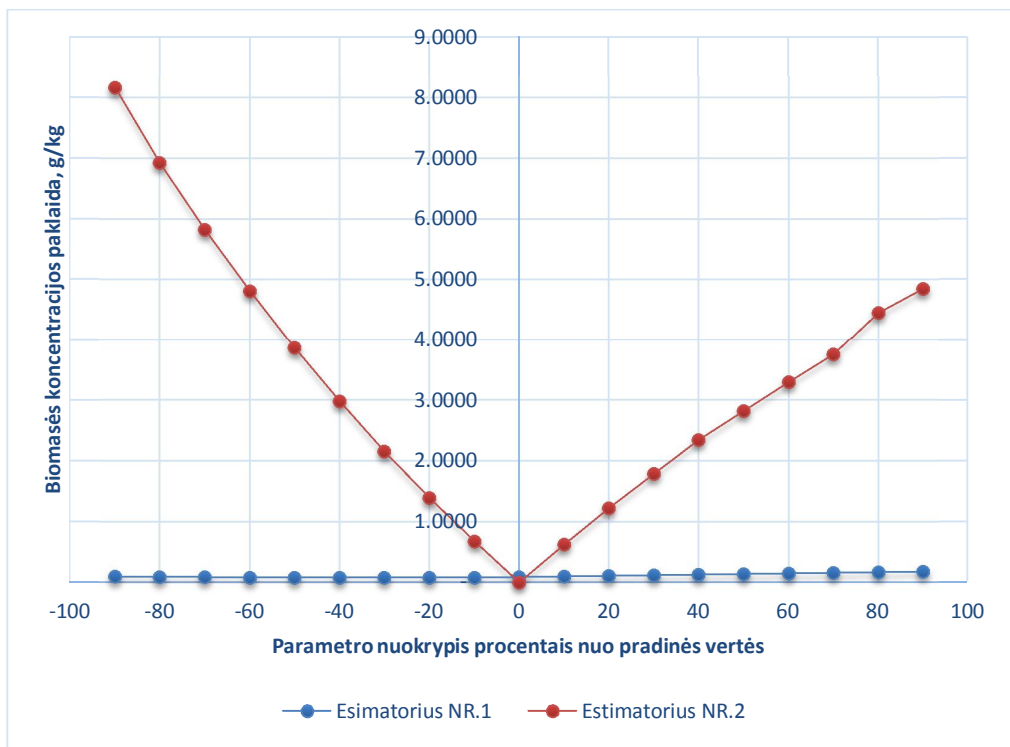
3.1pav. Būsenos įvertimo algoritmų palyginimas, kai keičiamas  $\alpha$  parametras



3.2pav. Būsenos įvertimo algoritmų palyginimas, kai keičiamas  $\beta$  parametras



3.3pav. Biomasės koncentracijų palyginimas proceso pabaigoje, kai keičiamas  $\alpha$  parametras



**3.4pav.** Biomės koncentracijų palyginimas proceso pabaigoje, kai keičiamas  $\beta$  parametras

Atsižvelgiant į 3.1-3.4 pav. galima teigti, kad santykinio biomasės augimo greičio būsenos įvertinimo algoritmas, aptartas 2.3 skyriuje veikia geriau už kitą algoritmą, atveju kai modelio parametrai  $\alpha$  ir  $\beta$  nėra tiksliai identifikuoti, kadangi naudojant estimatorių nr.1 gaunamos mažesnės santykinės paklaidos beveik visame bandymų diapazone. 3.1 ir 3.2 lentelėse pateikiami atliktų bandymų duomenys.

3.1 lentelė. Bandymų rezultatai, kai keičiamas modelio parametras  $\alpha$  nuo -90 iki 80 procentų nuo tikslios parametro vertės.

Nuokrypa procentais	-90	-80	-70	-60	-50	-40	-30	-20	-10	0	10	20	30	40	50	60	70	80
$\alpha$ prieš indukciją, g/g	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5	0,55	0,6	0,65	0,7	0,75	0,8	0,85	0,9
$\alpha$ po indukcijos, g/g	0,075	0,15	0,225	0,3	0,375	0,45	0,525	0,6	0,675	0,75	0,825	0,9	0,975	1,05	1,125	1,20	1,275	1,35
Estimatorius NR.1																		
Santykinė paklaida, %	9,224	7,225	5,666	4,252	3,359	2,775	2,355	2,036	1,785	1,583	1,490	1,498	1,505	1,512	1,518	1,525	1,530	1,534
Biomosės koncentracijos paklaida, g/kg	8,136	6,835	5,686	4,501	3,692	3,108	2,669	2,328	2,055	1,833	1,648	1,492	1,358	1,243	1,142	1,054	0,975	0,905
Estimatorius NR.2																		
Santykinė paklaida, %	29,790	21,15	16,06	12,41	9,511	7,091	4,997	3,149	0,028	0,017	1,398	2,674	3,862	4,972	6,014	6,996	7,924	8,804
Biomosės koncentracijos paklaida, g/kg	44,780	29,24	21,29	15,84	11,71	8,433	5,755	3,522	1,628	0,000 1	1,141	2,652	3,748	4,724	5,598	6,387	7,101	7,751



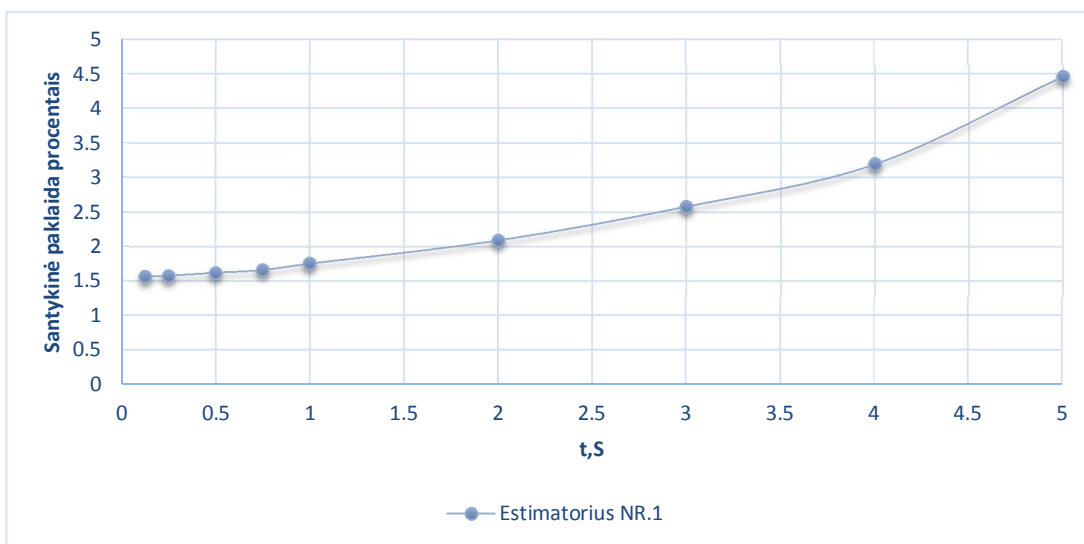
3.2 lentelė. Bandymų rezultatai, kai keičiamas modelio parametras  $\beta$  nuo -90 iki 80 procentų nuo tikslios parametro vertės.

Nuokrypa procentais	-90	-80	-70	-60	-50	-40	-30	-20	-10	0	10	20	30	40	50	60	70	80
$\beta$ prieš indukciją, g/g/h	0,015	0,03	0,045	0,06	0,075	0,09	0,105	0,12	0,135	0,15	0,165	0,18	0,195	0,21	0,225	0,24	0,255	0,27
$\beta$ po indukcijos, g/g/h	0,001 <sub>5</sub>	0,003	0,004 <sub>5</sub>	0,006	0,007 <sub>5</sub>	0,009	0,010 <sub>5</sub>	0,012	0,013 <sub>5</sub>	0,015	0,016 <sub>5</sub>	0,018	0,019 <sub>5</sub>	0,021	0,022 <sub>5</sub>	0,024	0,025 <sub>5</sub>	0,027
Estimatorius NR.1																		
Santykinė paklaida, %	1,886	1,620	1,584	1,563	1,545	1,528	1,514	1,500	1,491	1,583	1,765	1,947	2,126	2,305	2,483	2,658	2,832	3,006
Biomasės koncentracijos paklaida, g/kg	0,100	0,125	0,347	0,567	0,785	1,000	1,213	1,422	1,629	1,833	2,033	2,231	2,425	2,615	2,803	2,987	3,168	3,346
Estimatorius NR.2																		
Santykinė paklaida, %	7,211	6,335	5,478	4,641	3,823	3,024	2,242	1,477	0,728	0,017	0,724	1,427	2,117	2,793	3,456	4,107	4,745	5,783
Biomasės koncentracijos paklaida, g/kg	8,177	6,927	5,828	4,810	3,864	2,983	2,162	1,395	0,675	0,000 <sub>1</sub>	0,633	1,230	1,793	2,353	2,828	3,304	3,756	4,459

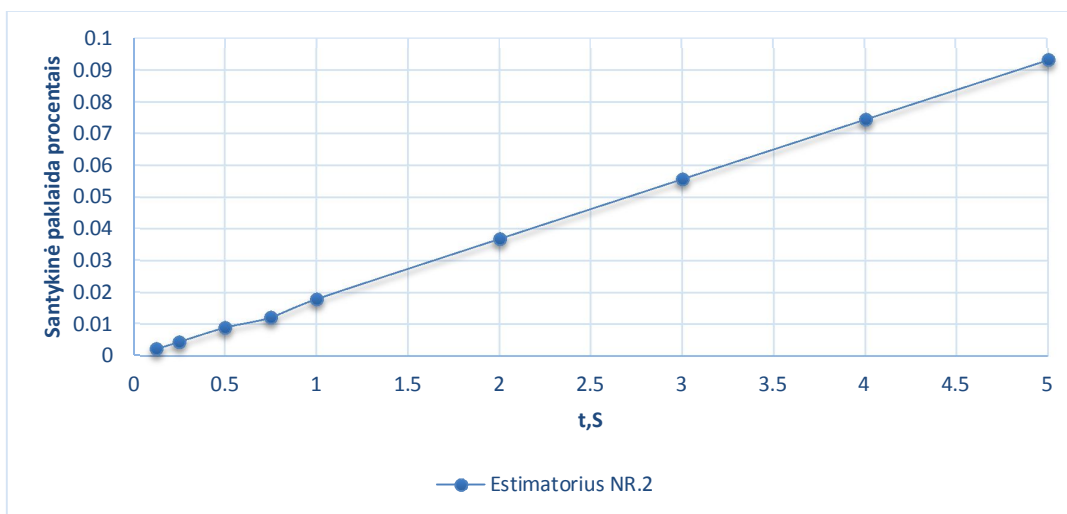
### 3.2. Diskretizavimo žingsnio įtaka santykinio biomasės augimo greičio įvertinimo algoritmų kokybei

Eksperimentuojant su santykinio biomasės augimo greičio būsenos įvertinimo algoritmu aprašytu 2.3 skyriuje, buvo pastebėta, kad algoritmo diskretizavimo žingsnio mažinimas žymiai pagerina algoritmo veikimą po indukcijos (kai pasikeičia modelio parametrų  $\alpha$  ir  $\beta$  vertės). Todėl buvo nutarta ištirti diskretizavimo žingsnio parinkimo įtaką darbe nagrinėjamų algoritmų darbo kokybei.

3.5-3.6 pav. pateikiami tyrimo grafikai.



3.5pav. Diskretizavimo žingsnio įtaka, estimatoriaus nr.1 tikslumui



3.6pav. Diskretizavimo žingsnio įtaka, estimatoriaus nr.2 tikslumui

3.3 lentelė. Bandymų rezultatai, kai keičiamas santykinio biomasės augimo greičio būsenos įvertinimo algoritmo diskretizavimo dažnis.

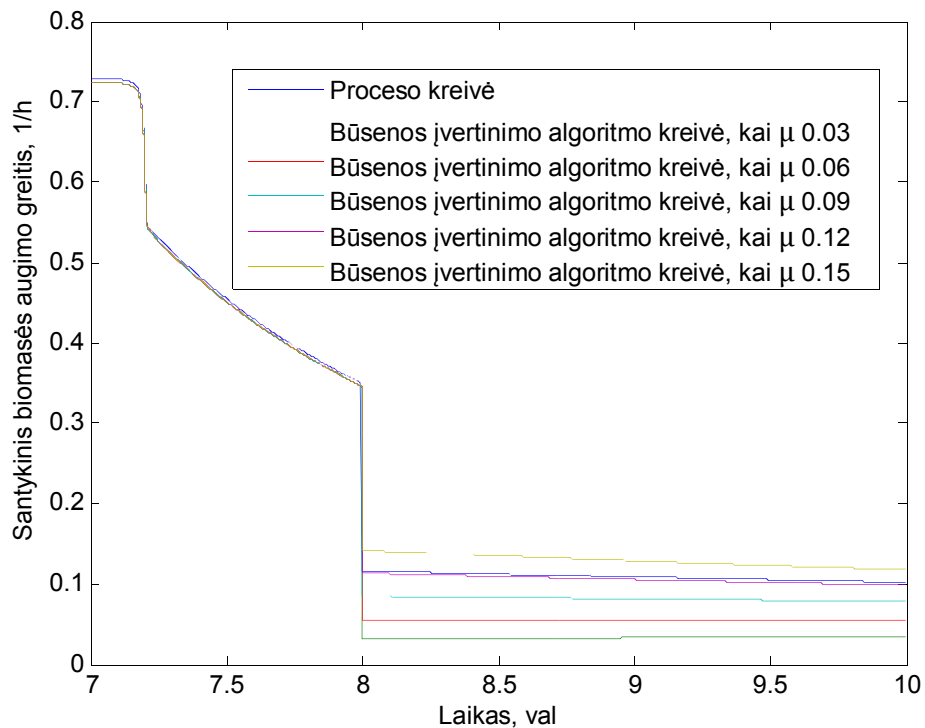
Diskretizavimo žingsnis, s	0,125	0,25	0,5	0,75	1	2	3	4	5
Estimatorius NR.1									
Santykinė paklaida, %	1,572	1,585	1,628	1,667	1,759	2,095	2,584	3,198	4,468
Biomasės koncentracijos paklaida, g/kg	1,8050	1,8200	1,8700	1,9140	2,0180	2,3900	2,9160	3,5530	4,7970
Estimatorius NR.2									
Santykinė paklaida, %	0,002	0,004	0,009	0,012	0,017	0,037	0,056	0,074	0,0093
Biomasės koncentracijos paklaida, g/kg	0,0001	0,0002	0,0004	0,0006	0,0009	0,0017	0,0025	0,0033	0,0041

Atsižvelgiant į 3.5-3.6 pav. ir 3.3 lentelę galima teigti, kad santykinio biomasės augimo greičio būsenos įvertinimo algoritmo, aptarto 2.4 skyriuje tikslumui, parinktas diskretizavimo žingsnis yra mažiau svarbus, lyginant su poveikiu daromo 2.3 skyriuje aprašytam algoritmui.

### 3.3. Santykinio biomasės augimo greičio būsenos įvertinimo algoritmo tyrimas, indukcijos metu.

Kaip matyti 2.10 paveiksle, būsenos įvertinimo algoritmas žymiai geriau „seka“ procesą iki 8 valandos, nei po jos. Procesui, kurį naudojame tyrimui šis laiko tarpas svarbus tuo, kad 8 valandą keičiasi proceso parametų  $\alpha$  ir  $\beta$  dydžiai, taip pat bioreaktoriaus pamaitinimas tuo momentu sumažėja daugiau nei 2 kartus. Tačiau būsenos įvertinimo algoritmas nespėja įvertinti visų šių faktorių, todėl susidaro statinė santykinio biomasės augimo greičio paklaida proceso laikotarpiu po indukcijos.

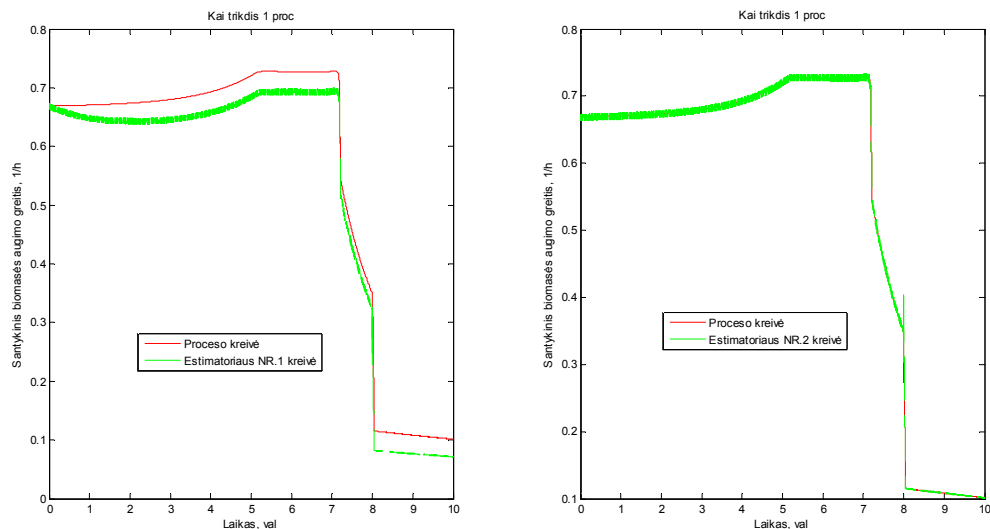
Todėl buvo pabandyta biotechnologinį procesą simuliuoti iki indukcijos ir po indukcijos, koreguojant santykinio biomasės augimo greičio vertę indukcijos metu. Literatūroje [1] teigiama, kad  $\mu$  vertė indukcijos metu lygi 0,12 [1/h]. Pabandžius skirtingas santykinio augimo greičio vertes indukcijos momentu paaiškėjo, kad naudojant literatūroje nurodytą  $\mu$  vertę, gaunama mažiausia paklaida lyginant su literatūroje[1] pateiktu santykinio biomasės augimo greičio kitimo grafiku. Bandymų rezultatai pateikti 3.7 paveikslėlyje.



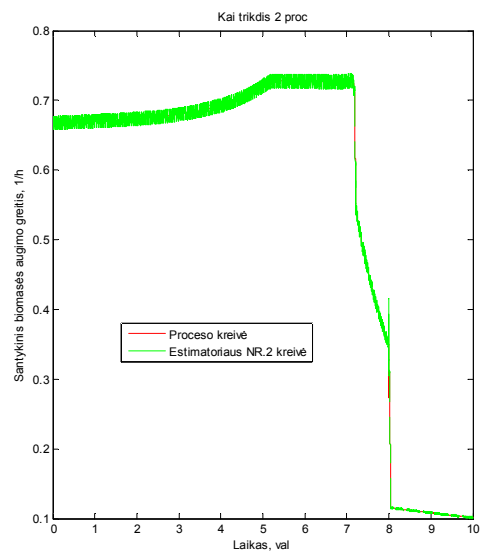
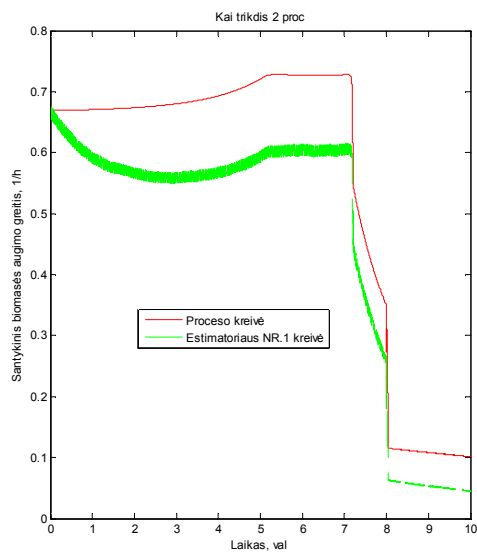
3.7pav. Estimatoriaus nr.1 palyginimas su proceso duomenimis, keičiant santykinį biomasės augimo greitį indukcijos momentu (8 valandą)

### 3.4. Santykinio biomasės augimo greičio būsenos įvertinimo algoritmo tyrimas, kai OUR signalas veikiamas trikdančiu poveikiu.

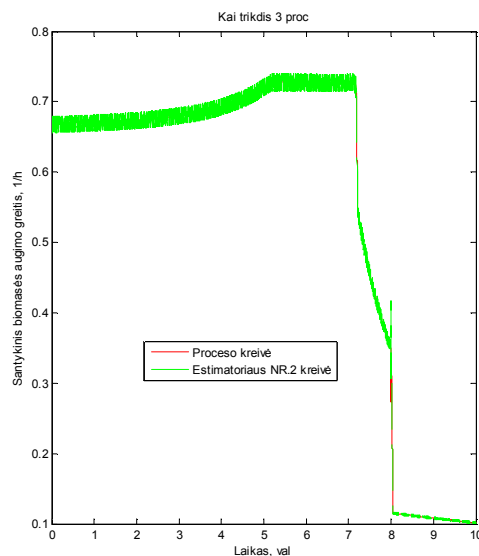
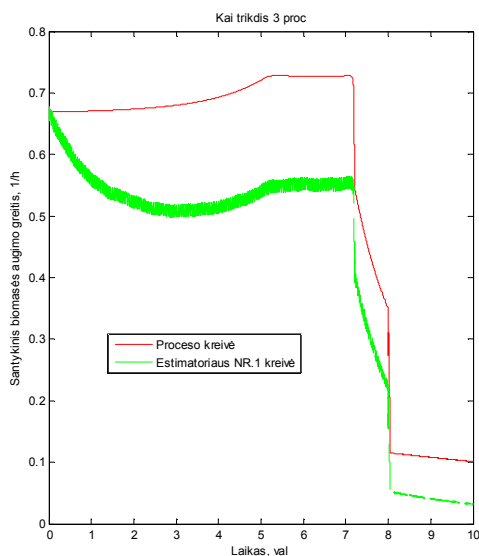
Kitas aspektas, kuriuo tikrinama darbe aptartų būsenos įvertinimo algoritmų kokybė, yra pagrindinio intelektinio jutiklio veikimą nulemiančio įėjimo paveikimas trikdančiu poveikiu. Abiem tirtiems algoritmams, toks parametras yra deguonies sunaudojimo greitis (OUR). Pasinaudodami atsitiktinių skaičių generatoriumi, šį signalą paveiksim skirtingo dydžio trikdžiais ir stebėsime, kaip algoritmai veikia tokiu atveju. Trikdančio poveikio formavimui buvo panaudota Matlab/simulink funkcija „*randn()*“ realizuojanti normalųjį skirstinį, kurią naudojant buvo generuojamas atitinkamos amplitudės deguonies sunaudojimo greičio trikdantysis poveikis. Toliau pateikiami bandymų rezultatai:



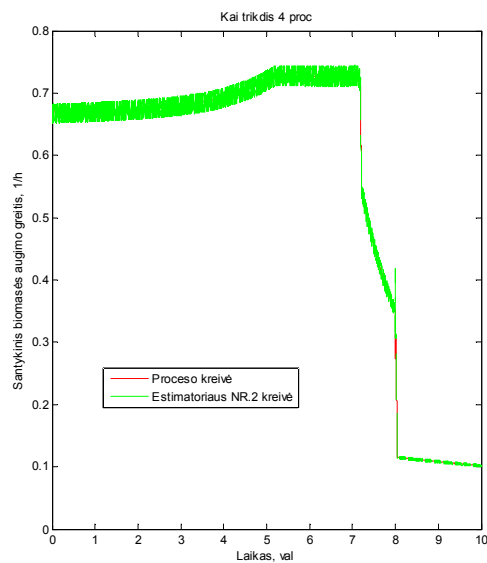
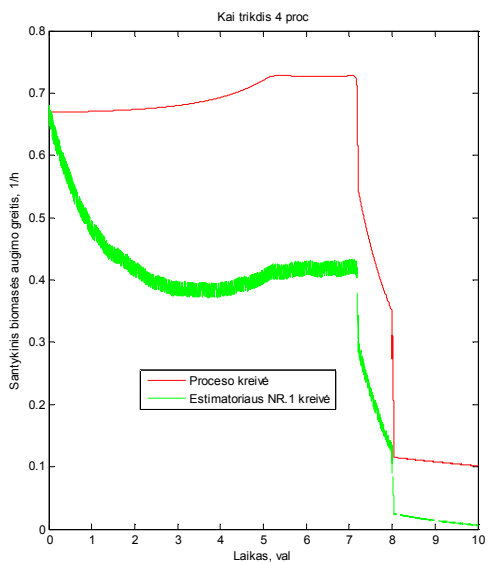
**3.8pav.** Estimatorių veikimo palyginimas su proceso duomenimis, kai OUR veikiamas 1 procento trikdančiu poveikiu



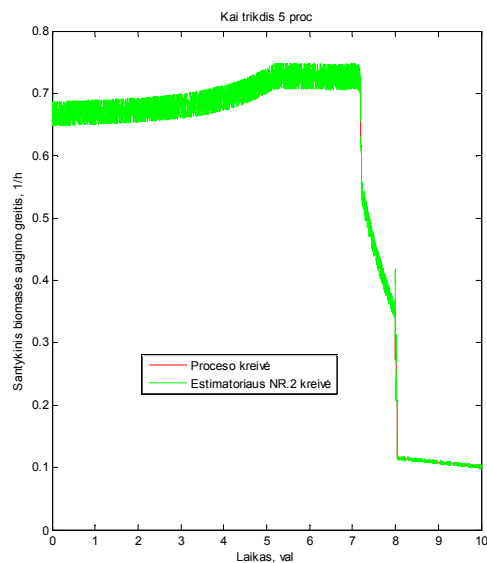
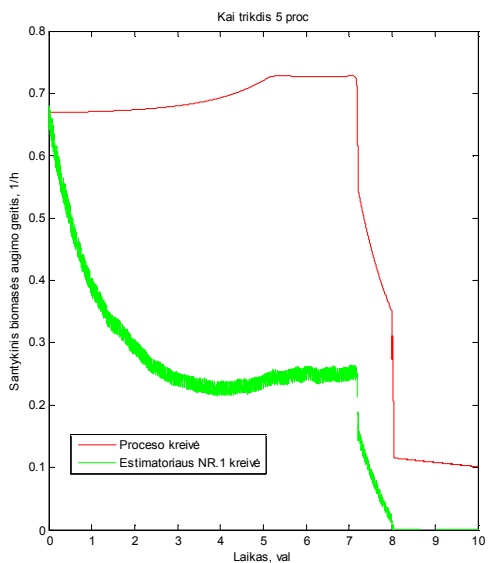
**3.9pav.** Estimatorių veikimo palyginimas su proceso duomenimis, kai OUR veikiamas 2 procentų trikdančiu poveikiu



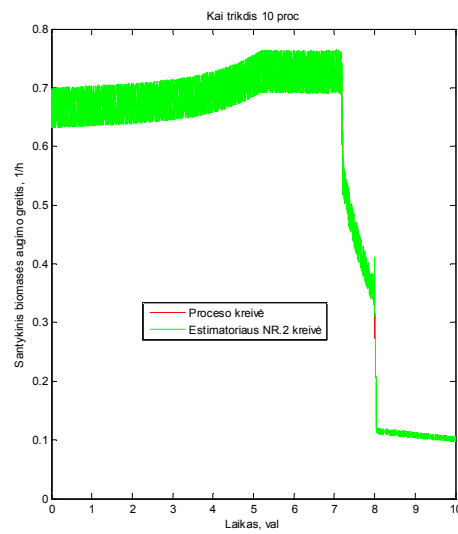
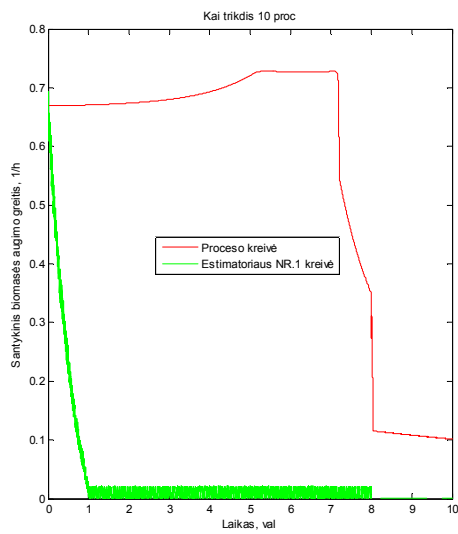
**3.10pav.** Estimatorių veikimo palyginimas su proceso duomenimis, kai OUR veikiamas 3 procentų trikdančiu poveikiu



**3.11 pav.** Estimatorių veikimo palyginimas su proceso duomenimis, kai OUR veikiamas 4 procentų trikdančiu poveikiu



**3.12 pav.** Estimatorių veikimo palyginimas su proceso duomenimis, kai OUR veikiamas 5 procentų trikdančiu poveikiu



**3.13 pav.** Estimatorių veikimo palyginimas su proceso duomenimis, kai OUR veikiamas 10 procentų trikdančiu poveikiu

Kaip matyti iš 3.8-3.13 paveiksluose pateiktų grafikų, santykinio biomāsės augimo greičio būsenos įvertinimo algoritmas aptartas 2.4 skyriuje (estimatorius nr.2) žymiai geriau veikia, kai OUR signalas paveikiamas trikdančiu poveikiu, lyginant šį algoritmą su 2.3 skyriuje aprašytu algoritmu.



## IŠVADOS IR REZULTATAI

1. Atlikus literatūros analizę, buvo išsiaiškinta, kokiais netiesioginiais būsenos įvertinimo algoritmais, galima matuoti biotechnologinius parametrus, kuriuos tiesiogiai išmatuoti negalėtume
2. Naudojant Matlab/Simulink modeliavimo paketą buvo realizuotas pasirinktas biotechnologinio proceso matematinis modelis. Naudojant šį modelį buvo tiriami du skirtingi biomasės santykinio augimo greičio netiesioginio būsenos įvertinimo algoritmai. Rezultatai parodė, kad algoritmas aptartas 2.4 skyriuje veikia geriau, kai algoritmo modelio parametrai yra tiksliai identifikuoti. Kadangi naudojant 2.3 skyriuje aptartą algoritmą buvo gauta 1,583% santykinė paklaida lyginant algoritmo gautą kreivę su realia proceso kreive gauta pagal literatūroje aprašytą procesą [1]. Analogiškai lyginant 2.4 skyriuje aptartą netiesioginio įvertinimo algoritmą buvo gauta 0,017% santykinė paklaida.
3. Tiriant algoritmų parametrų įtaką 2.3 ir 2.4 skyriuose aptartiems biomasės santykinio augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmams nustatyta, kad 2.3 skyriuje pateiktas algoritmas veikia geriau, kai parametrai  $\alpha$  ir  $\beta$  nėra tiksliai identifikuoti už 2.4 skyriuje pateiktą algoritmą, nes santykinės paklaidos buvo mažesnės daugumoje tyrimo taškų.
4. Tiriant diskretizavimo žingsnio parinkimo įtaką 2.3 ir 2.4 skyriuose aptartiems biomasės santykinio augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmams nustatyta, kad 2.4 skyriuje aptartam algoritmui parinktas diskretizavimo dažnis daro mažesnę poveikį, nei 2.3 skyriuje aptartam algoritmui, kadangi santykinės paklaidos naudojant tokius pat parametrus abiem algoritmams gaunamos mažesnės.
5. Tiriant atvejį, kai algoritmų įėjimai yra paveikiami trikdančiu poveikiu nustatyta, kad 2.3 skyriuje aptartas algoritmas neveikia korektiškai, kai algoritmo įėjimas paveikiamas didesniu nei 1% trikdančiu poveikiu.

## LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. **D.Levišauskas, V. Galvanauskas, S.Hendrich, K.Wilhelm, N. Volk, A. Lubbert.** Model-based optimization of viral capsid protein production in fed-batch culture of recombinant *Escherichia coli*. *Bioprocess Biosyst Eng* 25 (2003) 255–262;
2. **Vytautas Galvanauskas, Rimvydas Simutis, Donatas Levišauskas, Jolanta Repšytė.** Inferential Control System for Tracking Desired Trajectory of Biomass Growth in Fed-batch Cultivation proces. *Mokslinis straipsnis*.
3. **Donatas Levišauskas.** Inferential control of the specific growth rate in fed-batch cultivation processes. *Biotechnology Letters* 23: 1189–1195, 2001;
4. **Vytautas Galvanauskas, Donatas Levišauskas.** Biotechnologinių procesų modeliavimas, optimizavimas ir valdymas. *Vilniaus Pedagoginio Universiteto leidykla*, 2008m.;
5. **Vytautas Galvanauskas, Donatas Levišauskas.** Biotechnologinių procesų modeliavimas, optimizavimas ir valdymas. *Praktikumai ir uždaviniai. Vilniaus Pedagoginio Universiteto leidykla*, 2008m.;
6. **Lina Skeberdytė.** Mokslo ir verslo organizacijų tinklaveika: Lietuvos biotechnologijų sektoriaus atvejis. *Vilnius*, 2013m.;
7. **Moira Monika Schuler.** Real-time monitoring and control of the specific growth rate in yeast fed-batch cultures based on Process Analytical Technology monitoring tools such as biocalorimetry and spectroscopy. *Mokomoji knyga. Prieiga per internetą: [http://doras.dcu.ie/17518/1/thesis\\_mmSchuler\\_vf.pdf](http://doras.dcu.ie/17518/1/thesis_mmSchuler_vf.pdf)*
8. **Vytautas GALVANAUSKAS, Rimvydas SIMUTIS, Donatas LEVIŠAUSKAS, Jolanta REPŠYTĖ, Andreas LÜBBERT.** Comparison of state estimation techniques for biotechnological. *The 8th International Conference on Electrical and Control Technologies May 2–3, 2013, Kaunas, Lithuania*
9. **Vytautas GALVANAUSKAS, Rimvydas SIMUTIS, Andreas LÜBBERT.** Direct comparison of four different biomass estimation techniques against conventional dry weight measurements. *Process Control and Quality*, Vol. 11, No. 2, pp. 119–124 (1998);
10. **V. Galvanauskas, R. Simutis, N. Volk, A. Lübbert.** Model Based Design of a Biochemical Cultivation Process. *Bioprocess Engineering* 18 (1998) 227±234;

11. **Dan Paulsson, Robert Gustavsson and Carl-Fredrik Mandenius.** A Soft Sensor for Bioprocess Control Based on Sequential Filtering of Metabolic Heat Signals. *Sensors* **2014**, *14*;
12. **Denis Dochain.** Automatic control of bioprocesses. 2008m.;
13. **M. Nelson.** Bioreactors: Models based upon monod kinetics. 2014 m.;
14. **Bernard Sonnleitner.** Instrumentation of Biotechnological processes. 1999 m.;
15. **Rimvydas Simutis, Vytautas Galvanauskas, Donatas Levisauskas, Jolanta Repsyte, and Vygandas Vaitkus.** Comparative Study of Intelligent Soft-Sensors for Bioprocess State Estimation. Mokslinis straipsnis.
16. **R. Simutis, V. Galvanauskas, D. Levisauskas, J. Repsyte, V. Grincas.** State Estimation of a Biotechnological Process Using Extended Kalman Filter and Particle Filter. Mokslinis straipsnis. Journal of Life Sciences and Technologies Vol. 1, No. 3, September 2013;

## PRIEDAI

### Priedas 1. Biomės santykinio augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmo aptarto 2.3 skyriuje kodas.

```
Estimatorius nr1
function [mu_est, X_est] = fcn (mu_n1,OUR_n,OUR_n1, V_n1, F_n1,t,X_est_n1)
dt=1/3600;
tind=8;
if t<=tind
    alpha=0.5;
    beta=0.15;
else
    alpha=0.75;
    beta=0.015;
end
R_n=2*(OUR_n-OUR_n1)/dt/(OUR_n+OUR_n1);
T_n=1/(mu_n1+beta/alpha);
mu_n=mu_n1*T_n/(T_n+dt)+R_n*dt/(T_n+dt);
mu_est=max([mu_n 1.e-12]);
X_est=X_est_n1+dt*((mu_est-F_n1/V_n1)*X_est_n1);
```

### Priedas 2. Biomės santykinio augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmo aptarto 2.4 skyriuje kodas.

```
function [mu_est, X_est] = fcn (mu_est_n1,OUR_n, V_n1,
F_n1,t,X_est_n1)
dt=1/3600;
tind=8;
if t<=tind
    alpha=0.5;
    beta=0.15;
else
    alpha=0.75;
    beta=0.015;
end
X_est=X_est_n1;
mu_est=(OUR_n-(beta*X_est_n1*V_n1))/(alpha*X_est_n1*V_n1);
X_est=X_est_n1+dt*((mu_est-(F_n1/V_n1))*X_est_n1);
mu_est=(OUR_n-(beta*X_est*V_n1))/(alpha*X_est*V_n1);
```

### Priedas 3. Biotechnologinio proceso matematinio modelio funkcinio bloko kodas.

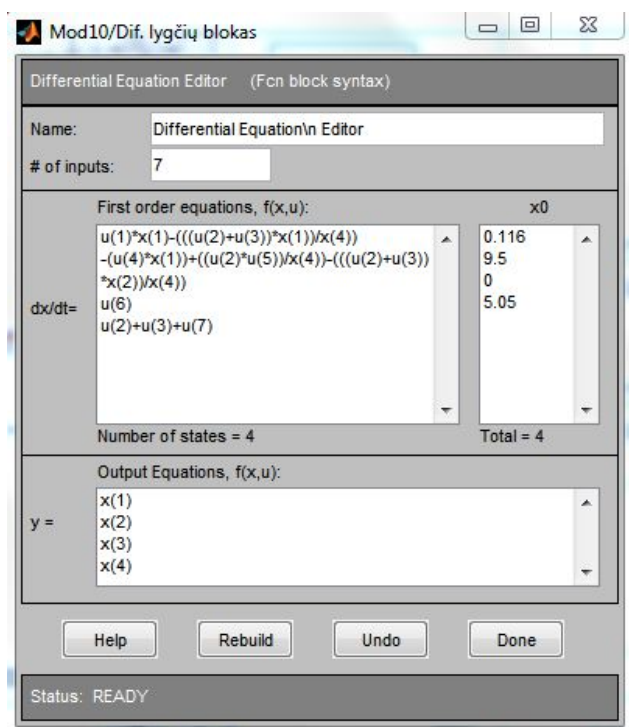
```
function [miu_Cs_T, F1, qs_cs, Csf, qpx_miu_px, F2,OUR] = fcn
(Cx,Tin,Cs,px, w)
Ki=93.8; % Konstanta
Kimi=0.0174; % Konstanta
Km=751; % Konstanta
Kmiu=0.61; % Konstanta
Ks=0.00333; % Konstanta
Kt=0.0495; % Konstanta
```

```

m=0.0242;      % Konstanta
Csf=151.0;    % Konstanta
Tpx=1.495;    % Konstanta
Yxs=0.46;     % Konstanta
miu_max=0.737; % Konstanta
Tref=37;
if (Tin) <= 8.0
    alfa=0.5;
    beta=0.15;
    T=37;
    Yox=0.5;
    mox=0.15;
else
    alfa=0.75;
    beta=0.015;
    T=32;
    Yox=0.75;
    mox=0.015;
end
miu_Cs_T=miu_max*(Cs/(Ks+Cs))*(Ki/(Ki+Cs))*exp(Kt*(T-Tref));
qs_cs=(miu_Cs_T/Yxs)+m;
pmax=(Km*miu_Cs_T)/(Kmiu+miu_Cs_T+((miu_Cs_T^2)/Kimi));
F1=0.0008*miu_Cs_T*Cx*w;
F2=-0.025;
if (Tin) < 8.0
    qpx_miu_px = 0;
else
    qpx_miu_px=(1/Tpx)*(pmax-px);
end
OUR=Yox*miu_Cs_T*Cx*w+mox*Cx*w;

```

#### Priedas 4. Biotechnologinio proceso matematinio modelio diferencialinių lygčių blokas.



**Priedas 5. Biotechnologinio proceso matematinio modelio ir biomasės santykinio augimo greičio netiesioginio įvertinimo algoritmų struktūrinė schema Matlab/Simulink aplinkoje.**

