



Kauno technologijos universitetas

Elektros ir elektronikos fakultetas

**Programinio jutiklio, skirto rekombinuotojo baltymo
netiesioginiam įvertinimui periodiniame su pamaitinimu E.coli
processe, sukūrimas ir tyrimas**

Baigiamasis magistro projektas

Paulius Maciulevičius

Projekto autorius

Prof. Dr. Vytautas Galvanauskas

Vadovas

Kaunas, 2024



Kauno technologijos universitetas

Elektros ir elektronikos fakultetas

**Programinio jutiklio, skirto rekombinuotojo baltymo
netiesioginiam įvertinimui periodiniame su pamaitinimu E.coli
processe, sukūrimas ir tyrimas**

Baigiamasis magistro projektas

Valdymo technologijos (6211EX014)

Paulius Maciulevičius

Projekto autorius

Prof. Dr. Vytautas Galvanauskas

Vadovas

Asist. Dr. Jolanta Repšytė

Recenzentė

Kaunas, 2024

Kauno technologijos universitetas

Elektros ir elektronikos fakultetas

Paulius Maciulevičius

Programinio jutiklio, skirto rekombinuotojo baltymo netiesioginiam įvertinimui periodiniame su pamaitinimu E.coli procese sukūrimas ir tyrimas

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

1. baigiamąjį projektą parengiau savarankiškai ir sąžiningai, nepažeisdama(s) kitų asmenų autoriaus ar kitų teisių, laikydamasi(s) Lietuvos Respublikos autorių teisių ir gretutinių teisių įstatymo nuostatų, Kauno technologijos universiteto (toliau – Universitetas) intelektinės nuosavybės valdymo ir perdavimo nuostatų bei Universiteto akademinės etikos kodekse nustatytų etikos reikalavimų;
2. baigiamajame projekte visi pateikti duomenys ir tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti teisėtai, nei viena šio projekto dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar elektroninių šaltinių, visos baigiamojo projekto tekste pateiktos citatos ir nuorodos yra nurodytos literatūros sąrašė;
3. įstatymų nenumatytų piniginių sumų už baigiamąjį projektą ar jo dalis niekam nesu mokėjęs (-usi);
4. suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo ar kitų asmenų teisių pažeidimo faktui, man bus taikomos akademinės nuobaudos pagal Universitete galiojančią tvarką ir būsiu pašalinta(s) iš Universiteto, o baigiamasis projektas gali būti pateiktas Akademinės etikos ir procedūrų kontrolieriaus tarnybai nagrinėjant galimą akademinės etikos pažeidimą.

Paulius Maciulevičius

Patvirtinta elektroniniu būdu

Kaunas, 2024

Maciulevičius, Paulius. Programinio jutiklio, skirto rekombinuotojo baltymo netiesioginiam įvertinimui periodiniame su pamaitinimu E.coli procese, sukūrimas ir tyrimas. Magistro baigiamasis projektas vadovas prof. Dr. Vytautas Galvanauskas; Kauno technologijos universitetas, Elektros ir elektronikos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): elektronikos inžinerija, inžineriniai mokslai.

Reikšminiai žodžiai: matematinis modelis, programinis jutiklis, E.coli, biotechnologija, parametru identifikavimas.

Kaunas, 2024. 59 p.

Santrauka

Biotechnologiniuose procesuose yra siekiama gauti kuo daugiau produkto. Produkto koncentracijos tiesioginiam įvertinimui bioreaktoriuje technologiniai sprendimai yra brangūs. Problemai spręsti biotechnologiniam procesui yra pritaikomi programiniai jutikliai paremti matematiniais, statistiniais, hibridiniais modeliais, kurie esamu laiku gauna informaciją apie biotechnologinio proceso parametrus ir juos panaudoja produkto ir kitų proceso komponentų koncentracijų įvertinimui.

Darbe aprašytas matematinis modelis, skirtas įvertinti periodinio su pamaitinimu E.coli proceso biomasės, laktozės, rekombinantinio baltymo koncentracijas bioreaktoriuje esamu laiku. Matematiniam modelyje taikoma deguonies suvartojimo bioreaktoriuje greičio lygtis biomasės ir rekombinantinio baltymo koncentracijoms įvertinti.

Darbe aprašytos parametru identifikavimo funkcijos, kurios apmoko matematinį modelį pagal eksperimento duomenis ir programiniam jutikliui leidžia tiksliau įvertinti komponentų koncentracijas bioreaktoriuje. Matematinis modelis ištirtas su keturių eksperimentų duomenimis, identifikuojant parametrus skirtingiems eksperimentų rinkiniams ir apmokinant modelį vertinti komponentų koncentracijas pagal daugiau nei vieną eksperimentą.

Maciulevičius, Paulius. Development and investigation of a software sensor for recombinant protein estimation in a fed-batch E.coli process / supervisor prof. dr. Vytautas Galvanauskas; ; Faculty of Electrical and Electronics Engineering, Kaunas University of Technology.

Study field and area (study field group): : Electronics engineering, Engineering science.

Keywords: Mathematical model, soft sensor, E. coli, biotechnology, parameter identification

Kaunas, 2024. 59 p.

Summary

In biotechnological processes, the aim is to maximize product yield. Direct measurement of product concentration in bioreactors is costly. To address this issue, biotechnological processes utilize sensor-based systems supported by mathematical, statistical, or hybrid models. These systems continuously monitor process parameters and utilize the data to estimate concentrations of product and other process components in real-time.

This paper describes a mathematical model developed to estimate real-time concentrations of biomass, lactose, and recombinant protein in a fed-batch E. coli process bioreactor. The mathematical model applies equations for oxygen consumption rate in the bioreactor to estimate concentrations of biomass and recombinant protein.

The paper also discusses parameter identification functions, which train the mathematical model based on experimental data and enable more accurate estimation of component concentrations in the bioreactor by the sensor-based system. The mathematical model was evaluated using data from four experiments, identifying parameters for different experiment sets and training the model to estimate concentrations based on more than one experiment.

Turinys

Lentelių sąrašas	6
Paveikslų sąrašas	8
Įvadas.....	10
1. Literatūros apžvalga	12
1.1. Programinių jutiklių apžvalga	12
1.2. Programinių jutiklių kūrimas.....	13
1.3. Programinių jutiklių panaudojimas	15
1.4. Išplėstasis Kalmano filtras <i>EKF</i>	18
1.5. Svarbumo vektoriaus regresija <i>RVR</i>	20
1.6. Dirbtiniai neuroniniai tinklai <i>ANN</i>	20
1.7. Dalelių filtras <i>PF</i>	20
1.8. Atraminių vektorių algoritmas <i>SVM</i>	21
1.9. Biotechnologinio proceso matematinis modelis.....	22
1.10. Matematinio modelio optimizavimas	25
2. Metodinė dalis.....	27
2.1. Eksperimento duomenys	27
2.2. Matematinis biotechnologinio proceso modelis	27
2.3. Matematinio modelio testavimas su eksperimentų duomenimis.....	31
2.4. Matematinio modelio parametrų derinimas.....	36
2.5. Parametrų identifikavimas pagal 1 eksperimentą.....	39
2.6. Parametrų identifikavimas pagal 1 ir 2 eksperimentus.....	45
2.7. Parametrų identifikavimas pagal 1, 2 ir 3 eksperimentus.....	49
3. Tyrimo rezultatai.....	54
Išvados	56
Literatūros sąrašas	57

Lentelių sąrašas

1 lentelė. Matematinio modelio parametrai ir jų vertės	29
2 lentelė. Simplex algoritmu identifikuoti parametrai apskaičiuojant X, L koncentracijas su 1 eksperimento duomenimis	40
3 lentelė. Simplex algoritmu identifikuoti parametrai apskaičiuojant P koncentraciją su 1 eksperimento duomenimis	41
4 lentelė. Chemotaxis algoritmu identifikuoti parametrai apskaičiuojant X, L, P koncentracijas su 1 eksperimento duomenimis	43
5 lentelė. Simplex algoritmu identifikuoti parametrai apskaičiuojant X, L koncentracijas su 1, 2 eksperimentų duomenimis	46
6 lentelė. Simplex algoritmu identifikuoti parametrai apskaičiuojant P koncentraciją su 1, 2 eksperimentų duomenimis	47
7 lentelė. Vidutinės absoliutinės paklaidos X, L koncentracijoms, 1, 2, 3 eksperimentams, jų parametrus identifikavus Simplex algoritmu	50
8 lentelė. Vidutinės absoliutinės paklaidos P koncentracijai, 1, 2, 3 eksperimentams, jų parametrus identifikavus Simplex algoritmu	50
9 lentelė. Simplex algoritmu identifikuoti parametrai apskaičiuojant X, L, P koncentracijas su 1, 2 ir 3 eksperimentų duomenimis	51
10 lentelė. Programinio jutiklio identifikuotų parametų vertės kiekviename etape	54
11 lentelė. Tiriamojo darbo metu gautos programinio jutiklio paklaidos prie skirtingų parametų verčių	55

Paveikslų sąrašas

1 pav. programinio jutiklio matematinio modelio schema.....	12
2 pav. Programinio jutiklio kūrimo schema.....	14
3 pav. Programinio jutiklio mikrodumblių biomasės įvertinimui matematinio modelio schema.....	15
4 pav. Gauti rezultatai panaudojus proceso duomenis su programiniu jutikliu mikrodumblių biomasės įvertinimui	16
5 pav. Gauti rezultatai, programiniam jutikliui pritaikius dalelių filtrą ir parinkus 2500 dalelių skaičių [11]	16
6 pav. Biomasės koncentracijos skaičiavimai, atlikti naudojant programinius jutiklius. a) išplėstojo Kalmano filtro programinis jutiklis b) Asimptotinio matematinio modelio programinis jutiklis. Tiesia linija vaizduojama apskaičiuota biomasės koncentracija, taškais – reali biomasės koncentracija.....	18
7 pav. Išplėstojo Kalmano filtro veikimo schema [22].....	19
8 pav. Atraminų vektorių grafinis atvaizdavimas	22
9 pav. Mikroorganizmų auginimo bioreaktoriaus schema [3]	23
10 pav. Tiesioginių eksperimento duomenų failo fragmentas	27
11 pav. Eksperimento matavimo duomenų failo fragmentas.....	27
12 pav. Koncentracijų vektorių aprašymas programos MATLAB R2023a aplinkoje	28
13 pav. Matematinio modelio algoritmo veikimo blokinė schema.....	31
14 pav. 1 eksperimento programinio jutiklio rezultatai, apskaičiuotos komponentų koncentracijų kreivės.....	31
15 pav. Modeliuotų 1 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis	32
16 pav. 2 eksperimento matematinio modelio rezultatai, apskaičiuotos komponentų koncentracijų kreivės.....	33
17 pav. Modeliuotų 2 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis	33
18 pav. 3 eksperimento matematinio modelio rezultatai, apskaičiuotos komponentų koncentracijų kreivės.....	34
19 pav. Modeliuotų 3 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis	35
20 pav. 4 eksperimento matematinio modelio rezultatai, apskaičiuotos komponentų koncentracijų kreivės.....	35
21 pav. Modeliuotų 4 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis	36
22 pav. Programinio jutiklio absoliutinių paklaidų įvertinimo diagrama	36
23 pav. Simplex algoritmo veikimo blokinė schema	37
24 pav. Chemotaxis algoritmo veikimo blokinė schema	39
25 pav. Biomasės koncentracijos absoliutinių paklaidų palyginimas, identifikavus parametrus Simplex algoritmu su 1 eksperimento duomenimis	40
26 pav. Laktozės koncentracijos absoliutinių paklaidų palyginimas, identifikavus parametrus Simplex algoritmu su 1 eksperimento duomenimis	41
27 pav. Produkto koncentracijos absoliutinės paklaidos, identifikavus parametrus Simplex algoritmu su 1 eksperimento duomenimis.....	42

28 pav. Modeliuotų 1 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis, parametrus identifikavus Simplex algoritmu su 1 eksperimento duomenimis	42
29 pav. Modeliuotų 1 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis, parametrus identifikavus Chemotaxis algoritmu	43
30 pav. Modeliuotų 2 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis, parametrus identifikavus Simplex algoritmu	44
31 pav. 2 eksperimento komponentų koncentracijų absoliutinių paklaidų kitimo per laiką diagrama su 1 eksperimento Simplex metodu identifikuotais parametrais	45
32 pav. Programinio jutiklio vidutinių absoliutinių paklaidų palyginimas po pradinio ir pakartotinio parametrų identifikavimo 1 eksperimentui su 1, 2 eksperimentų duomenimis	46
33 pav. Programinio jutiklio vidutinių absoliutinių paklaidų palyginimas po pradinio ir pakartotinio parametrų identifikavimo 2 eksperimentui su 1, 2 eksperimentų duomenimis	47
34 pav. Produkto koncentracijos absoliutinių paklaidų pasiskirstymas laike pirmajam eksperimentui, su 1 ir 2 eksperimentų identifikuotais parametrais	48
35 pav. Produkto koncentracijos absoliutinių paklaidų pasiskirstymas laike antrajam eksperimentui, su 1 ir 2 eksperimentų identifikuotais parametrais	48
36 pav. Modeliuotų 3 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis, parametrus identifikavus Simplex algoritmu	49
37 pav. 1 eksperimento absoliutinės paklaidos, gautos identifikavus parametrus su 1, 2 ir 3 eksperimentų duomenimis Simplex algoritmu	51
38 pav. 2 eksperimento absoliutinės paklaidos, gautos identifikavus parametrus su 1, 2 ir 3 eksperimentų duomenimis Simplex algoritmu	52
39 pav. 3 eksperimento absoliutinės paklaidos, gautos identifikavus parametrus su 1, 2 ir 3 eksperimentų duomenimis Simplex algoritmu	52
40 pav. Modeliuotų 4 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis, parametrus identifikavus Simplex algoritmu	53
41 pav. Programinio jutiklio identifikuotų parametrų palyginimas skirtingais identifikavimo etapais	55

Ivadas

Biotechnologiniai procesai yra svarbi šiuolaikinės pramonės ir sveikatos sektoriaus dalis. Jie vyksta bioreaktoriuose, kuriuose auga įvairūs mikroorganizmai. Jie auga dėl įvairių substratų suvartojimo : anglies, deguonies, azoto ir kitų medžiagų. Įprastai bioreaktoriuose yra stebimi pH, temperatūros, medžiagų maišymosi parametrai. Esant tinkamoms sąlygoms užtikrinamas mikroorganizmų augimas. Biotechnologiniai procesai yra taikomi daugelyje sričių : farmacijoje, maisto pramonėje, biodegalų pramonėje, vandens valyme nuo organinių atliekų. Kuriant, tobulinant, vykdant biotechnologinius procesus, taikoma :

1. Mikrobiologija ir genetika.
2. Biotechnologinė inžinerija.
3. Biotechnologinių procesų valdymas.

Mikrobiologija ir genetika kuria naujus mikroorganizmus, kurie leidžia naujų produktų sintezę arba yra skirti tinkamų mikroorganizmų parinkimui norint gauti norimą produktą arba užtikrinti aukštą produkto kokybę. Biotechnologinė inžinerija skirta biotechnologinių procesų tobulinimui kuriant ir pritaikant naujas technologijas, bioreaktorių dizaino tobulinimui. Biotechnologinių procesų valdymas skirtas tokių procesų priežiūros ir valdymo algoritmų kūrimui [1]. Tai padeda užtikrinti didesnę biotechnologinio proceso produktyvumą, efektyvumą, optimizuoti procesą. Biotechnologinių procesų parametru stebėjimas yra svarbus, ypač pramoniniuose procesuose, kur matavimų skaičius yra ribotas. Dėl šios priežasties yra ieškoma sprendimų pažangiems algoritmams, kurie suteiktų informaciją vartotojui, biotechnologinio proceso prižiūrėtoji apie vykstantį procesą, apskaičiuotų neišmatuojamus parametrus, tokius kaip substrato koncentracija, biomasės koncentracija ir kt. Šie algoritmai remiasi informacija gaunama tiesiai iš kitų biotechnologinio proceso jutiklių (temperatūros, slėgio) realiu laiku. Šie algoritmai vadinami programiniais jutikliais [2]. Šie programiniai jutikliai yra skirti proceso kinetikai ir būsenos kintamiesiems stebėti, pagal kuriuos galima procesą valdyti. Tinkamai valdant procesą galima išgauti didesnę efektyvumą, kokybiškesnę galutinį produktą. Pramoniniuose biotechnologiniuose procesuose atsiranda nauji reikalavimai dėl jutiklių pasirinkimo ir skaičiaus, kas turi užtikrinti stabilų proceso stebėjimą realiu laiku, valdymo režimo optimizacijos, substratų ir biomasės parametru stebėjimo dėl kokybės išlaikymo ir proceso sutrikimų stebėjimo. Biotechnologiniai procesai yra sudėtingi, nes įtraukia daug gyvų mikroorganizmų, kurių savybės nėra iki galo iširtos ir neretai mokslui sunkiai suprantamos. Dar vienas sunkumas, kylantis pramoniniuose biotechnologiniuose procesuose – jutiklių trūkumas, kurie gebėtų suteikti informaciją apie pačio proceso funkcionavimą [1].

Didelė dalis aktyviųjų farmacinių medžiagų yra rekombinantiniai terapiniai baltymai, kurie yra pagaminti genetiškai modifikuotų mikroorganizmų arba žinduolių ląstelių kultivavimo metodu bioreaktoriuose. Juose auga įvairūs mikroorganizmai dėl įvairių substratų suvartojimo : anglies, deguonies, azoto ir kitų medžiagų. Šie biotechnologiniai procesai yra nestacionarūs, netiesiniai, todėl modeliavimas ir valdymas yra sudėtingas, ypač pramoniniuose rekombinantinio baltymo gamybos procesuose, kuriuose būtina užtikrinti aukštus saugumo reikalavimus, tam tikrus operacinius apribojimus [3].

Rekombinantinių E. coli baltymų gamyba susijusi su norimo geno ekspresija, naudojant tinkamą promoterių, vėliau seka baltymų valymas. Vienas iš labiausiai naudojamų promoterių yra TAC promoteris, kuris gali būti indukuotas naudojant IPTG (izopropilo-beta-D-tiogalaktozopiranozidu) arba laktozę [3]. Periodiniame su pamaitinimu E. coli procese ląstelių auginimas yra kontroliuojamas apribojant maistinių medžiagų, tokių kaip gliukozė, prieinamumą. Tai palaiko ląstelių gyvybingumą, padeda išvengti nepageidaujamo produkto susidarymo. Rekombinantinio baltymo ekspresija gamybos fazėje indukuojama, pridedant induktorių į kultūros terpę. IPTG yra brangus ir toksiškas, todėl dažnu atveju tokiuose procesuose yra pasitelkiama laktozė. Tačiau, kai laktozė yra naudojama kaip induktorius, jos koncentracija privalo būti palaikoma aukštesniame lygyje, nei kritinis, norint užtikrinti efektyvią baltymų gamybą [4].

Darbo tikslas : sukurti ir ištirti programinį jutiklį netiesioginiam rekombinuotojo baltymo įvertinimui periodiniame su pamaitinimu E.coli procese.

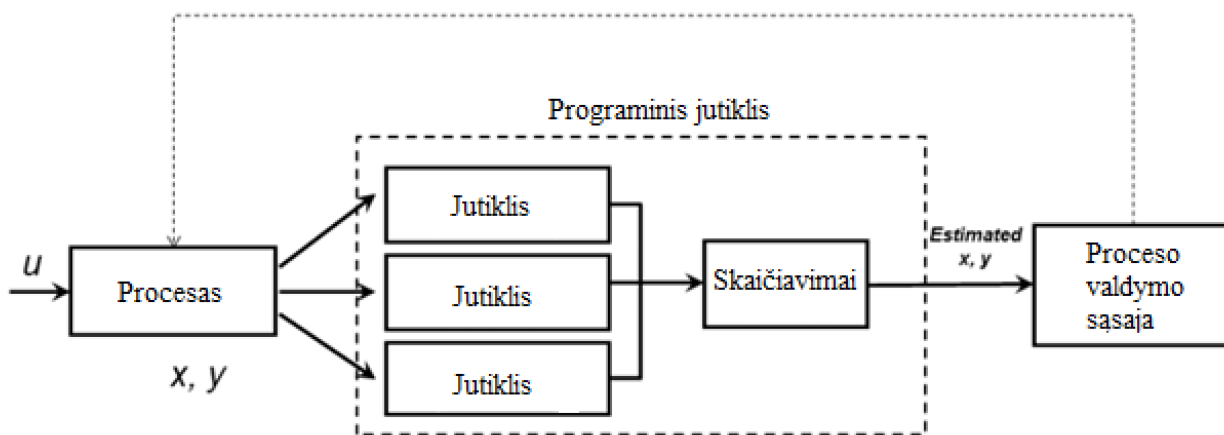
Darbo uždaviniai :

1. išnagrinėti tyrimo objektą – programinius jutiklius biotechnologiniams procesams ir jiems taikomus metodus parametrų įvertinimui.
2. sukurti matematinį modelį periodinio su pamaitinimu E.coli proceso komponentų koncentracijų modeliavimui.
3. optimizuoti ir validuoti matematinį E.coli proceso matematinį modelį ir įvertinti prognozavimo paklaidas panaudojant realių eksperimentų duomenis.

1. Literatūros apžvalga

1.1. Programinių jutiklių apžvalga

Pramoniniai biologiniai procesai valdymo atžvilgiu inžinieriams yra sudėtinga užduotis. Proceso valdymą ir stebėjimą sudėtingu padaro tikslios informacijos apie proceso eigą rinkimas ir stebėjimas, proceso eigos valdymas [5]. Yra jutiklių, kurie geba išmatuoti proceso parametrus realiu laiku : metabolitus, mikroorganizmus, maistingųjų medžiagų lygius, ir trikdžius, kurie daro įtaką biologinių procesų kontrolę. Biomasės koncentracija tipiniame fermentavimo procese gali būti išmatuota dviem būdais – tiesioginiu ir netiesioginiu. Tiesioginiam biomasės matavimui taikomos technikos : optiniai tankio matavimai, talpos matavimai, branduolinis magnetinis rezonansas, lazerinė citometrija, skysčių chromatografija, biologinių procesų jutikliai. Visos šios technologijos yra brangios ir didelėje sistemoje gali veikti netinkamai, todėl nėra užtikrinamas didelis efektyvumas [6]. Šie jutikliai taip pat turi trūkumų : sistemoje atsiranda mėginių sunaikinimas, jutikliai matuoja diskretiškai (ne nuolatos, tam tikrais laiko periodais), duomenų apdorojimo delsa, sterilizacija. Dėl šių priežasčių buvo pereita prie netiesioginės matavimo metodikos. Tai yra sudėtingi matematiniai algoritmai, kurie pagal antrinius proceso kintamuosius – temperatūrą, tirpalo deguonies kiekį, pH, išleistų dujų koncentraciją – gali tiksliai apskaičiuoti biologinę masę, produkto koncentraciją proceso metu [7]. Programiniai jutikliai yra paremti proceso būsenos stebėjimo teorija ir buvo pradėti taikyti nuo 1960 metų. Programiniai jutikliai nuolatos vertina proceso parametrus pagal matematinį proceso modelį ir antrinius parametrus, kurie matuojami tiesioginiu būdu. Tokių jutiklių tikslumas priklauso nuo naudojamo proceso modelio [8].



1 pav. programinio jutiklio matematinio modelio schema

Programinio jutiklio matematinio modelio schema parodyta 1 paveiksle. Duomenys apie procesą yra surenkami tam tikrų jutiklių (temperatūros, slėgio) ir perduodami algoritmą, kuris pagal duomenis apskaičiuoja tam tikrus parametrus : baltymo (biomasės) kiekį, baltymo koncentraciją. Išskaičiuoti duomenys yra perduodami į proceso valdymo ir stebėjimo sąsają.

Programinio jutiklio technologijos principas – realiu laiko momentu apskaičiuoti tam tikrus proceso kokybės parametrus, rodiklius, kuriuos yra sudėtinga išmatuoti naudojant fizinius jutiklius. Programinis jutiklis vykdo skaičiavimus pagal lengvai aptinkamus pagalbinus kintamuosius ir naudoja tam tikrus matematinius modelius, regresijos modelius arba neuroninius tinklus [9]. Dėl to, ši technologija yra efektyvi nustatant sunkiai išmatuojamus proceso parametrus pramoniniuose biotechnologiniuose procesuose, tokiuose kaip fermentacija,

ir turi didelį pritaikymo potencialą. Šiuo metu dažnai pramoniniuose biotechnologiniuose procesuose naudojami programiniai jutikliai, pagrįsti proceso analize, duomenų apie procesą surinkimu ir apdorojimu, hibridiniu procesų modeliavimu [10].

Programiniai jutikliai yra skirti atlikti vieną iš trijų užduočių : proceso stebėjimas, proceso valdymas, proceso optimizavimas, efektyvumo didinimas.

Biotechnologinio proceso stebėjimo programinis jutiklis atlieka šias funkcijas :

1. Klaidų nustatymas – klaidos aptikimo laiko vėlavimas, netikro aliarmo dažnio nustatymas, gedimų aptikimo dažnis, duomenų praleidimo tikimybės įvertinimas.
2. Informacijos suteikimas vartotojui apie gedimus, klaidas – gedimų klasifikacija, gedimų identifikavimo tikslumas, gedimų panaikinimo tikslumas.
3. Efektyvumo įvertinimas – proceso efektyvumo įvertinimo rodiklis, sistemos tarnavimo laiko prognozavimas.

Biotechnologinio proceso valdymo programinis jutiklis atlieka šias funkcijas :

1. Stabilumo ribos nustatymas.
2. Proceso kintamųjų, parametrų sekimo paklaidos nustatymas.
3. Proceso parametrų apribojimas – proceso parametrų leistino vertės viršijimo nustatymas, valdymo komandų verčių apribojimas, proceso netiesiškumo nustatymas.

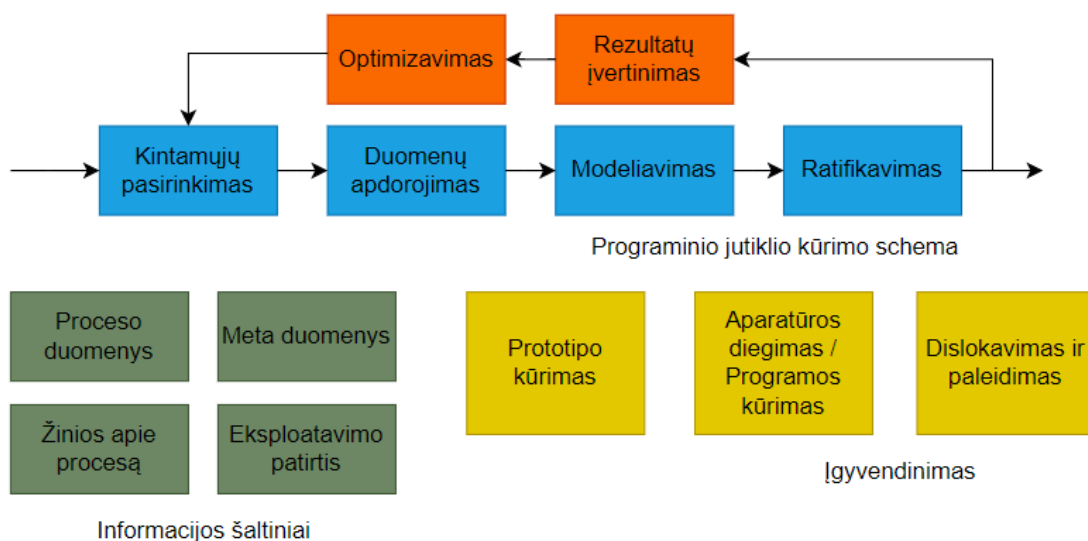
Biotechnologinio proceso optimizavimo programinis jutiklis atlieka šias funkcijas :

1. Kintamųjų, parametrų optimizacija pagal praradimo funkciją.
2. Laiko programų nustatymas įrenginių valdymui, įjungimui/išjungimui.
3. Tiekimo grandinės valdymas, išlaidų ir pelningumo santykio valdymas [11].

1.2. Programinių jutiklių kūrimas

Programinio jutiklio kūrimo pirmajame etape yra atliekama istorinių biotechnologinio proceso duomenų analizė, kuri leidžia geriau suprasti proceso veikimą, surasti vietas, kur galima jį patobulinti, padaryti jo veikimą efektyvesniu. Pagrindinis tikslas šiame etape – rasti aiškias problemas modelyje, procese, išsiaiškinti bendrą proceso struktūros vaizdą veikimo principus. Surinktiems duomenis normalizuoti, identifikuoti, optimizuoti yra taikomi juodosios dėžės duomenų analizės metodai. Surinkti istoriniai proceso duomenys yra paruošiami, prieš pradėdant kurti programinio jutiklio algoritmus, nusprendžiama kokie duomenys bus paduodami į algoritmo įėjimą ir kokie duomenys bus gaunami algoritmo išėjime [12]. Kitame programinio jutiklio kūrimo etape nurodoma, kaip algoritmo išėjimo kintamieji bus priklausomi nuo algoritmo įėjimo kintamųjų. Programiniai jutikliai, turintys daug įėjimo parametrų yra sudėtingesni, modelyje atsiranda tikimybių ir perskaičiavimo paklaidų, modelis yra lėtas. Nustačius tinkamą programinio jutiklio įėjimo kintamųjų skaičių gaunamas modelis, kuris yra greitai apmokomas, sumažinama modelio kūrimo kaina ir trukmė, modelis veikia efektyviau, tiksliau įvertina produkto, biomasės, substrato koncentracijas [13]. Programinio jutiklio matematinis modelis yra kuriamas pagal realų procesą, jų yra dvi rūšys : mechaniniai modeliai (baltos dėžės principas) arba modeliai, kuriami pagal gautus proceso duomenis (empiriniai, juodosios dėžės modeliai). Mechaninis modelis kuriamas procesui, kuriam reikia optimizuoti stabilias proceso būsenas, parametrus, tokio tipo modeliai naudoja fizinius ir cheminius proceso duomenis, aprašomas matematinėmis lygtimis. Tokiam modeliui taikomas Kalmano dalelių filtro metodas. Mechaninis modelis turi kelis trūkumus : jų sukūrimas užtrunka daug laiko, dėl sudėtingų matematinių lygčių realizavimo, tokio tipo modeliai ne visada tinkamai apskaičiuoja, įvertina realias proceso sąlygas [14]. Empiriniai, juodosios dėžės modeliai, kuriami pagal duomenis, gautus iš proceso, vis labiau populiarėja pramonės sektoriuje dėl

jų tikslumo. Tokio tipo programinio jutiklio modeliai geriau įvertina realias proceso sąlygas, nereikalauja išsamių žinių apie procesą kuriant modelį, juose aprašomi tik įėjimo ir išėjimo signalai, apskaičiuojamos neišmatuojami biotechnologinio proceso kintamieji. Empiriniams, juodosios dėžės modeliams taikomi modeliavimo algoritmai : paramos vektorius mašininio mokymosi algoritmas, neuroniniai tinklai, *Fuzzy* logika. Todėl kitame programinio jutiklio etape svarbu įvertinti kiekvieno matematinio modelio privalumus ir trūkumus, kad programinio jutiklio veikimas būtų tinkamas [12]. Programinio jutiklio kūrimo schema pavaizduota 2 paveiksle. Programinio jutiklio duomenų bazę sudaro : proceso duomenys, meta duomenys, žinios apie procesą, eksploataavimo patirtis. Programinio jutiklio įdiegimas vykdomas sukuriant prototipą, įdiegiant fizinius jutiklius procese, sukuriant ir įdiegiant programinio jutiklio algoritmą, paleidžiant ir dislokuojant biotechnologinio proceso sistemą.



2 pav. Programinio jutiklio kūrimo schema

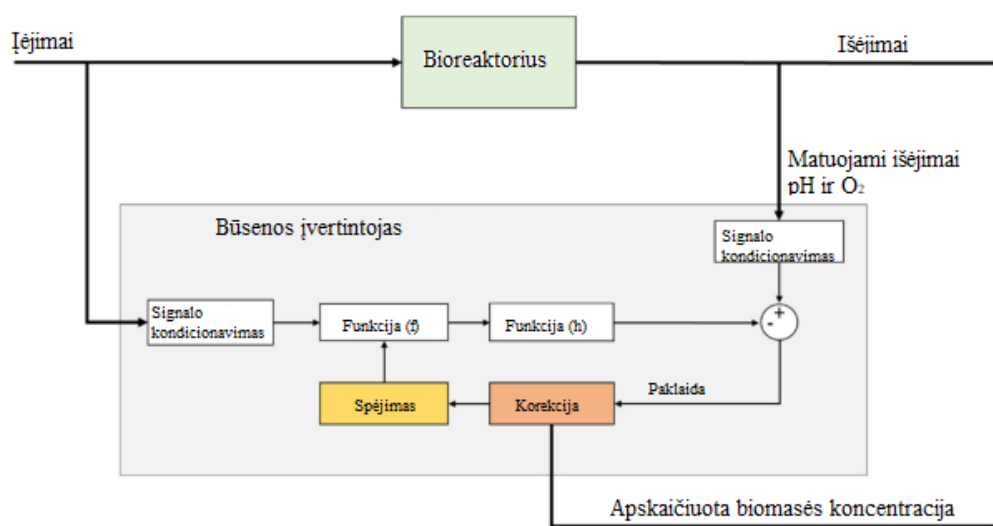
Kuriant naują programinį jutiklį yra laikomasi šių sąlygų :

1. Per minimalų laiką gauti reikiamus rezultatus, sugeneruoti išėjimo signalus. Yra priimtina kai : programinio jutiklio sistema veikia pagal Nyquist-Shannon teoremą duomenims paimti iš proceso, analoginis signalas yra atkuriamas be iškraipymų (Tam reikia, kad duomenų ėmimo greitis iš proceso būtų ne mažesnis, nei dvigubas dažnis analoginio signalo spektre, o ir programinio jutiklio vėlinimas yra nereikšmingas programinio jutiklio veikimui.
2. Kuriamo naujo programinio jutiklio išėjimo signalai yra gaunami stabilūs.
3. Programinio jutiklio rezultatų apskaičiavimo greitis neviršija duomenų ėmimo iš proceso greičio.
4. Programinio jutiklio vėlinimas nustatomas pagal ilgiausią fizinio jutiklio, naudojamo biotechnologiniame procese, vėlinimą ir programinio jutiklio modelio skaičiavimo laiką.
5. Programinio jutiklio gauti rezultatai išėjime gauti duomenys nesiskiria nuo realių proceso reikšmių. Programinio jutiklio tikslumą lemia : klaidingas biotechnologinio proceso duomenų nustatymas, nestabili uždaro ciklo algoritmo skaičiavimo sistema.
6. Programinis jutiklis neturi būti veikiamas netikslų gautų rezultatų ar neteisingai gautų duomenų. Atsiradus gedimui fiziniuose jutikliuose, programinis jutiklis turi indikuoti vartotojui apie gedimą ir nenaudoti neteisingų fizinių jutiklių duomenų;

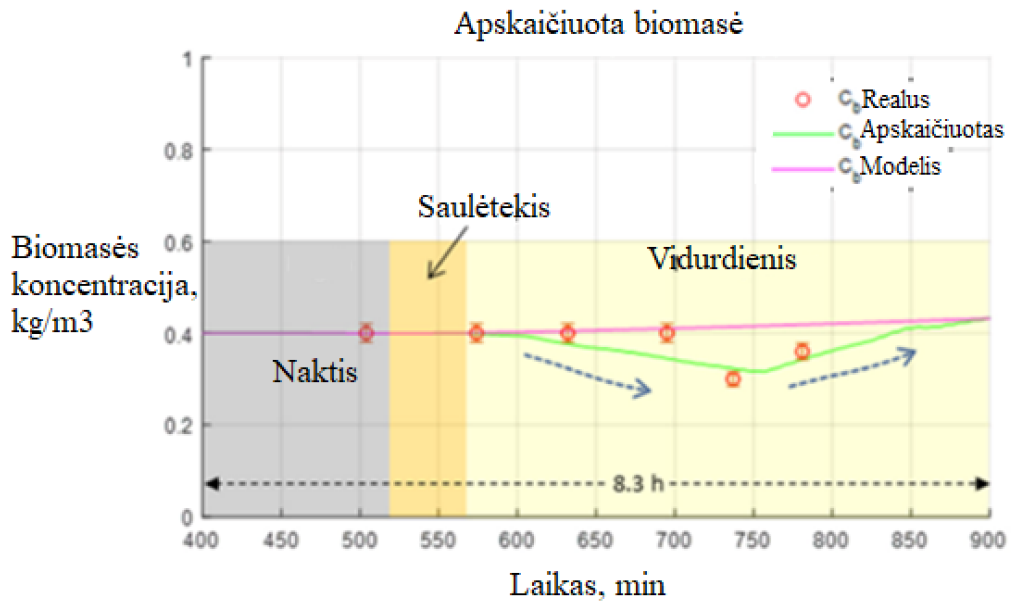
7. Programinis jutiklis turi turėti apsaugą nuo kibernetinių atakų, nes fiziniai jutikliai veikia bendrame tinkle. Apsauga diegiama norint apsaugoti biotechnologinį procesą, jo stebėjimą ir valdymą nuo duomenų iškraipymo per kibernetines atakas [11].

1.3. Programinių jutiklių panaudojimas

Biotechnologiniam procesui buvo sukurtas programinis jutiklis mikrodumblių biomasei įvertinti. Šiam programiniui jutikliui naudojo išplėstąjį Kalmano filtrą. Biotechnologinio proceso dinaminis modelis sudarytas iš lygčių, kurios aprašo termodinamines sąsajas, masės balansus, biologinius reiškinius, kurie pasireiškia dumblių kultūrų auginime. 2 paveiksle vaizduojama programinio jutiklio schema. Būsenos įvertintojas yra sukurtas nuspėti vektorinę modelio būseną, bet jis buvo optimizuotas įvertinti biomasės koncentraciją derinant proceso triukšmo kovariacijos Q ir jutiklių nuokrypių R matricas. Panaudojus biotechnologinio proceso duomenis iš 2016 metų, spalio 26 dienos, programinio jutiklio išėjimas sąlyginai atitinka realią biomasės koncentraciją procese. Didžiausias nuokrypis gautas 700 minutę, staigiai krentant biomasės koncentracijos lygiui ir pakilus saulei [15].

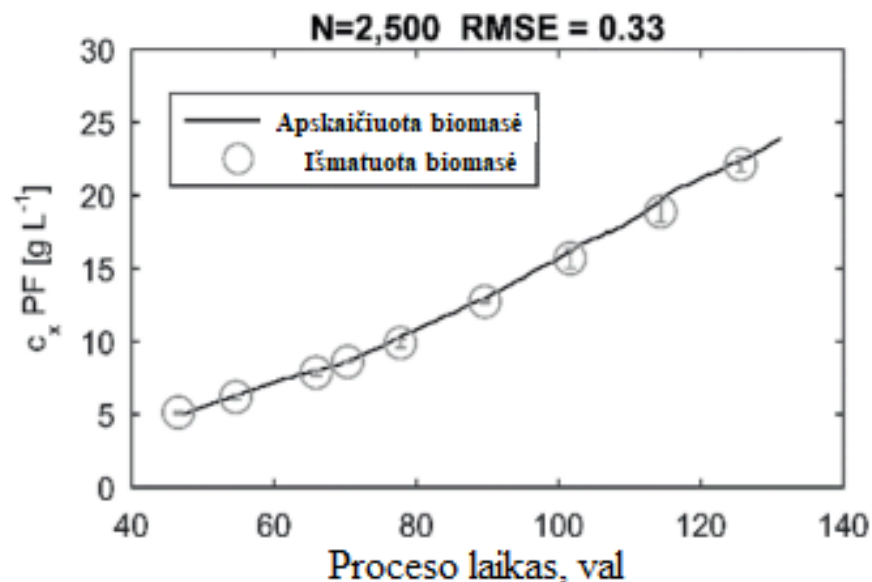


3 pav. Programinio jutiklio mikrodumblių biomasei įvertinimui matematinio modelio schema



4 pav. Gauti rezultatai panaudojus proceso duomenis su programiniu jutikliu mikrodumblių biomasės įvertinimui

Buvo atliktas tyrimas, lyginant programinio jutiklio, sukurto naudojant išplėstąjį Kalmano filtrą, ir programinio jutiklio, sukurto naudojant dalelių filtrą, kuris nuosekliai naudoja Monte Carlo algoritmo metodus. Programinis jutiklis skaičiavo biotechnologiniame procese gaunamą biomasės koncentraciją. Dalelių filtras parodė geresnius rezultatus nei išplėstasis Kalmano filtras dėl ne Gausinio triukšmo arba blogų netiesinių matematinių modelių aproksimacijų. Naudojant dalelių filtrą su 2500 kintamųjų gauta 2,8% paklaida, traukiant šaknį iš kvadratinės paklaidos. Naudojant išplėstąjį Kalmano dalelių filtrą gauta vidutinė paklaida lygi 10,10% [16].



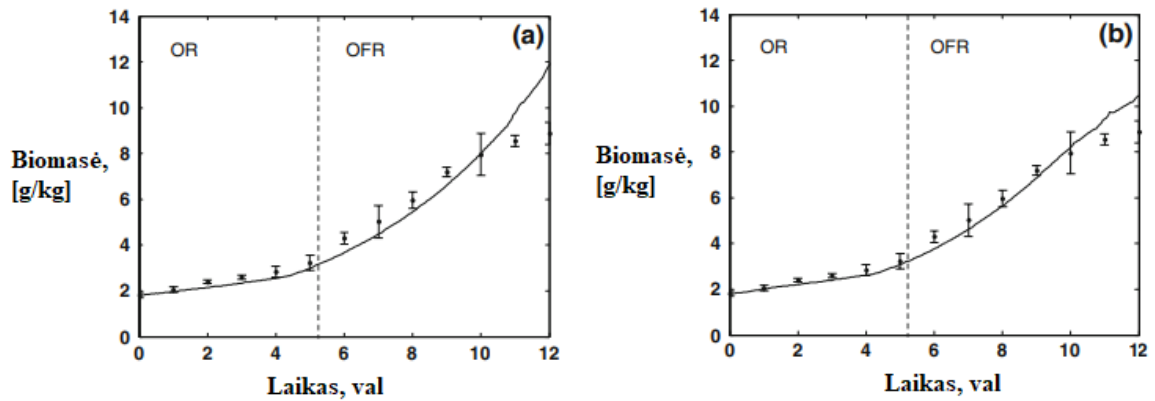
5 pav. Gauti rezultatai, programiniam jutikliui pritaikius dalelių filtrą ir parinkus 2500 dalelių skaičių [11]

Literatūroje aprašomas programinis jutiklis, kuris sukurtas pagal Hibridinį – Išplėstąjį Kalmano dalelių filtrą modelį. Proceso pradžioje toks modelis nežino kai kurių pradinių reikšmių : biomasės

koncentracijos, produkto koncentracijos, iki tol, kol jos nėra įvertintos su paklaida. Išplėstasis Kalmano filtras šiuo atveju buvo naudojamas mažinant paklaidą tarp apskaičiuotų ir išmatuotų reikšmių. Tyrimo metu nustatyta, kad pakanka 7 eksperimentų duomenų, norint gauti patenkinamą paklaidą, gaunama ištraukus šaknį iš kvadratinės biomasės koncentracijos paklaidos. Palyginimui, pramoninis etaloninis įrankis, matuodamas ir skaičiuodamas proceso duomenis gauna 101,69 mg/L paklaidą, kol visiškai hibridinis proceso modelis gauna paklaidą, lygią 58 mg/L. Hibridinis – išplėstojo Kalmano filtro modelis šią paklaidą sumažina iki 48mg/L [17].

Kitas pavyzdys – programinis jutiklis, skirtas rekombinantinio baltymo biomasei apskaičiuoti. Programinis jutiklis buvo kuriamas MATLAB programos aplinkoje, duomenys jam panaudoti ne iš realių procesų, o sugeneruoti rekombinantinio baltymo proceso matematinio modelio. Buvo sugeneruoti 60 duomenų rinkinių, iš kurių buvo atsitiktinai buvo pasirinkti 20 programinio jutiklio tikslumo testavimui, o kiti 40 panaudoti juodosios dėžės modeliui sukurti. Programinio jutiklio išėjimo duomenys – biomasės koncentracija ir produkto koncentracija per pusės valandos laikotarpį. Buvo pritaikyti trys metodai programiniam jutikliui : parametrinis mašininio mokymosi algoritmas naudojamas klasifikacijai (angl. *Support Vector Machine*), parametrinis mašininio mokymosi algoritmas naudojamas regresijai spręsti (angl. *Relevance Vector Regression*), atsitiktinių duomenų regresijos algoritmas (angl. *Random Forest Regression*). Algoritmų tikslumas buvo lyginamas skaičiuojant maksimalią paklaidą ir šaknį iš vidutinės kvadratinės paklaidos. Tiksliausias algoritmas buvo atsitiktinių duomenų regresijos algoritmas su maksimalia paklaida, lygia biomasės koncentracijoje ir 0,4941 produkto koncentracijoje, šaknimi iš kvadratinės paklaidos biomasės koncentracijoje, lygia 0,326 biomasės koncentracijoje ir 0,1042 produkto koncentracijoje [18].

Programiniai jutikliai gali būti grindžiami Asimptotiniu matematiniumi modeliu. Toks programinis jutiklis buvo kuriamas *E. coli* fermentacijos procese matuoti biomasės, gliukozės ir acetato koncentracijas, ir lyginamas su įprastu programiniu jutikliu, pagrįstu išplėstuoju Kalmano filtru. Tokio proceso svarba pramoninėje biotechnologijoje yra labai didelė, nes *E. coli* bakterija yra vienas plačiausiai naudojamų mikroorganizmų rekombinantinių baltymų gamybai. Proceso modelis aprašytas masės balanso lygtimis. Asimptotinis matematinis modelis leidžia nustatyti trūkstamų būsenų kintamųjų vertes net ir tais atvejais, kai biotechnologinis procesas nėra eksponentiškai stebimas. Tokio modelio idėja yra dinaminio proceso modelio struktūros panaudojimas ir dinaminio modelio dalies atskyrimas, kuri yra nepriklausoma nuo kinetikos. Šiam metodui reikia išmatuotų deguonies ir anglies dioksido reikšmių proceso įėjime ir išėjime. Asimptotiniu matematiniumi modelio grįstas programinis jutiklis buvo tikslesnis už įprastą išplėstuoju Kalmano filtru paremtą programinį jutiklį. 5 paveiksle matyti, kad asimptotiniu matematiniumi modeliu grįstas programinis jutiklis biomasės koncentracijos reikšmes realiu laiku nustatė tiksliau [19].



6 pav. Biomės koncentracijos skaičiavimai, atlikti naudojant programinius jutiklius. a) išplėstojo Kalmano filtro programinis jutiklis b) Asimptotinio matematinio modelio programinis jutiklis. Tiesia linija vaizduojama apskaičiuota biomasės koncentracija, taškais – reali biomasės koncentracija

Literatūroje aprašomas programinis jutiklis, sukurtas su dirbtinių neuroninių tinklų pagalba., pritaikytas rekombinantinio baltymo auginimo biotechnologiniam procesui. Programiniui jutikliui duomenys buvo parinkti iš virtualaus reaktoriaus neuroninio tinklo treniravimui. Neuroninis tinklas treniruotas Levenberg-Marquardt metodu, tikslumui įvertinti buvo skaičiuojama kvadratinės paklaidos šaknis. Neuroninio tinklo įėjimai buvo pasirinkti : gliukozės maitinimo greitis, laktozės pamaitinimo greitis, deguonies suvartojimo greitis. Programinio jutiklio išėjime buvo gaunama produkto ir biomasės koncentracijos. Neuroninio tinklo paslėptame sluoksnyje buvo parinkta 10 neuronų, todėl toks tinklas galėjo vertinti sudėtingas priklausomybes tarp programinio jutiklio įėjimų ir išėjimų. Programinis jutiklis biomasės koncentraciją vertino su 0,37 g/kg paklaida, produkto koncentraciją su 0,098 g/kg paklaida [20].

1.4. Išplėstasis Kalmano filtras *EKF*

Kuriant programinius jutiklius dažnai naudojamas išplėstojo Kalmano filtro (*angl. Extended Kalman Filter, EKF*) algoritmas. Išplėstajam Kalmano filteriui yra reikalinga būsenos ir erdvės modelis, kad būtų galima įvertinti proceso būsenos kintamuosius [21]. Jis taikomas netiesinėms sistemoms, kurios yra ištiesinamos pagal dabartinius matavimus ir tada pritaikomas standartinis Kalmano filtras. Išplėstojo Kalmano filtro algoritmas veikia tinkamai tik sistemos darbo taške, kai pirmos eilės Taylor serija pakankamai tiksliai aproksimuoja būseną. Būsenos algoritmo formavimas netiesiniam modeliui aprašomas lygtimis (1.1), (1.2), kur x_k – būsenos vektorius, u_k – valdymo signalas, y_k – matavimų vektorius, w_k , v_k – nekoreliuotasis baltasis Gauso triukšmas (1.3). Yra priimama, kad R_k , Q_k yra žinomi parametrai.

$$x_k = f(x_{k-1}, u_{k-1}) + w_{k-1} \quad (1.1)$$

$$y_k = h(x_k) + v_k \quad (1.2)$$

$$w_k = N(0, Q_k), v_k = N(0, R_k) \quad (1.3)$$

Toliau yra taikomos 4-9 lygtys, naudojant išplėstąjį Kalmano filtro algoritmą.

Numatyta būseną :

$$\hat{X}_{k|k-1} = f(\hat{X}_{k-1|k-1}, u_{k-1}) \quad (1.4)$$

Prognozuojamos kovariacijos įvertinimas :

$$P_{k|k-1} = A_{k-1}P_{k-1}A_{k-1}^T + Q_{k-1} \quad (1.5)$$

Matavimo liekana :

$$d_k = y_k - h(\hat{X}_{k|k-1}) \quad (1.6)$$

Kalmano stiprinimas :

$$K_k = P_{k|k-1}C_k^T S_k^{-1} \quad (1.7)$$

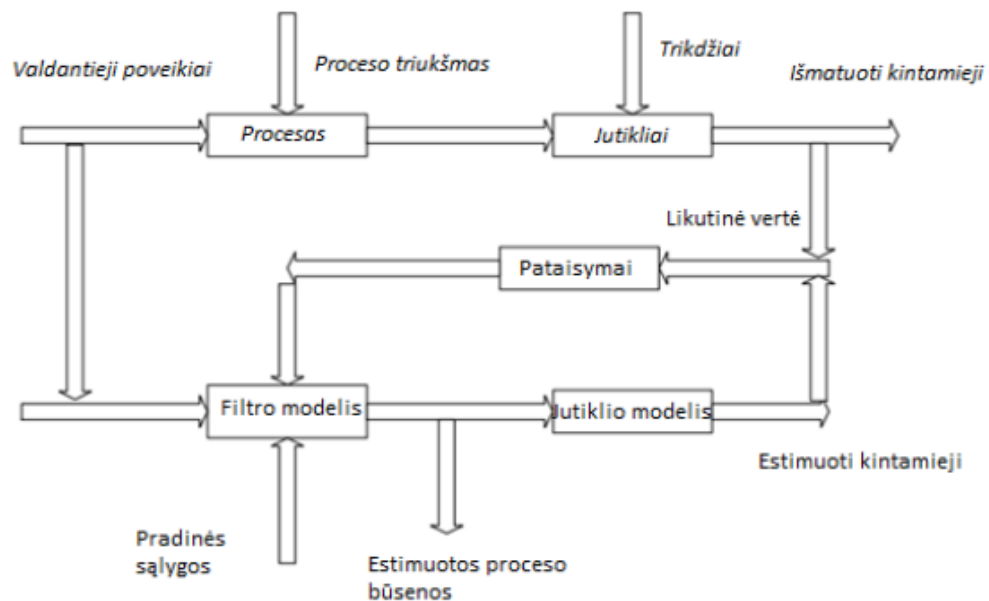
Atnaujintas būsenos įvertinimas :

$$\hat{X}_{k|k} = \hat{X}_{k|k-1} + K_k d_k \quad (1.8)$$

Atnaujintas kovariacijos įvertinimas :

$$P_{k|k} = (I - K_k C_k) P_{k|k-1} \quad (1.9)$$

Literatūroje taikytas išplėstasis Kalmano filtras programiniam jutikliui naudojo informaciją iš jutiklių, gaunamą realiu laiku, deguonies suvartojimo greitį, bazinį suvartojimą. Naudojant išplėstąjį Kalmano filtrą programiniam jutikliui, nėra reikalinga žinoti ir aprašyti modelyje kinetines proceso lygtis, neišmatuojamų kintamųjų būsenų apskaičiavimui užtenka gauti jutiklių duomenis iš proceso [22]. Išplėstojo Kalmano filtro veikimo schema pateikta 7 paveiksle.



7 pav. Išplėstojo Kalmano filtro veikimo schema [22]

1.5. Svarbumo vektoriaus regresija *RVR*

Svarbumo vektoriaus regresijos (angl. *Relevance Vector Regression, RVR*) algoritmas turi galimybę glausto ir duomenimis grįsto modelio sukūrimui, kurio kūrimas neužima daug laiko, lyginant su kitais algoritmais. Modelio kūrimo ir proceso optimizavimo užduotys vykdomos pusiau automatiniu būdu ir yra kartojamos kiekvienoje kultivacijos pradžioje. Algoritmo veikimas turi būti prižiūrimas inžinieriaus, algoritmas turi daug panašių savybių su atraminių vektorių algoritmu, tačiau išvengia jo apribojimų [23]. Svarbumo vektoriaus regresijos algoritmas yra išskaidyto branduolio metodas regresijai, naudojant Bajeso išvadas modelio parametrams gauti. Kuriant duomenimis grįstą modelį tikslas yra rasti pagrindinį funkcinį modelį $y(x)$, kuris apskaičiuoja modelio išėjimo reikšmes pagal įėjimo vektorių x .

$$y(x, w) = \sum_{i=1}^M w_i \Phi_i(x) = w^T \Phi(x) \quad (1.10)$$

Toks modelis (1.10) yra tiesinis pagal parametrus, tačiau bazines funkcijas $\Phi_m(x)$ parinkus netiesines, modelis $y(x, w)$ taip pats bus netiesinis. Tokio tipo modelis yra lankstus, jei tinkamai valdomas statistinis modelio kompleksiskumas, jis gali būti efektyviai pritaikytas duomenimis grįstais biotechnologinių procesų modeliams [24].

1.6. Dirbtiniai neuroniniai tinklai *ANN*

Programiniams jutikliams taip pat naudojami dirbtiniai neuroniniai tinklai (angl. *Artificial Neural Network*), kurie yra universalūs, lankstūs. Pradžioje jie buvo naudoti klasifikavimui, objektų atpažinimui, prognozavimui. Dirbtiniai neuroniniai tinklai yra tinkamas algoritmas kuriant programinius jutiklius biotechnologiniams procesams, nes jie apdoroja didelį kiekį duomenų, iš kurių gali nustatyti įvairius neišmatuojamus dydžius, pvz. biomasės koncentracija. Pagrindinė dirbtinių neuroninių tinklų pritaikymo idėja biotechnologiniams procesams – programiškai aprašyti netiesinių proceso biomasės ir produkto koncentracijos priklausomybes nuo įvairių proceso parametrų. Kuriant svarbu išsirinkti tinkamą neuroninio tinklo struktūrą ir duomenis tinklo treniravimui [20]. Lyginant su matematiniais modeliais, dirbtinis neuroninis tinklas gali įvertinti sudėtingesnius procesus dėl jo prisitaikymo ir mažesnio kiekio pagalbinių proceso kintamųjų. Tačiau neuroniniam tinklui reikia didelio istorinių proceso duomenų, kurie reikalingi tinklo apmokymui siekiant tikslių rezultatų [25].

1.7. Dalelių filtras *PF*

Dalelių filtro (angl. *Particle Filter*) algoritmas aproksimuoja Bajeso galutinės tikimybės tankio funkciją iš atsitiktine tvarka parinktų būsenos kintamųjų. Dalelių filtrų metodai yra lankstūs, lengvai įgyvendinami apskaičiuojant netiesinius skirstinius, kai matematinis modelis yra netiesinis. Pagrindinis dalelių filtro algoritmo apribojimas yra, kad jis reikalauja daug skaičiavimų, tačiau jie dažniausiai naudojami sistemose, turinčias 4 arba mažiau būsenos kintamuosius [26]. Standartinis dalelių filtro algoritmas yra naudojamas nuo 1990 metų. Tačiau dalelių filtro pažangų algoritmą, kuris būtų pritaikytas konkrečiai problemai, įgyvendinti sistemoje yra sudėtinga dėl jo nepopuliarumo, medžiagos nebuvimo [27].

Dalelių filtro algoritmas yra įgyvendinamas per šiuos žingsnius :

1. Pradžia – sugeneruojama pradiniai būsenos vektoriai (1.11). Yra priimama, kad visų dalelių svoriai yra lygūs algoritmo pradžioje ir apskaičiuojami pagal formulę (1.12).

$$x_0^i = x_0 + N(0, Q_0), i = 1, \dots, M \quad (1.11)$$

$$W_0^i = \frac{1}{M}, 1, \dots, M \quad (1.12)$$

2. Matavimo parametrų verčių atnaujinimas. Apskaičiuojamas kiekvienos dalelės svoris (1.13).

$$W_k^i = W_{k-1}^i p(y_k | x_k^i) = W_{k-1}^i p_{e_k}(y_k - h(x_k^i)) \quad (1.13)$$

3. Dalelių su mažais svoriais panaikinimas iš algoritmo, paliekant daleles su dideliais svoriais. Deklaruojamas M_{th} parametras, nurodantis koks mažiausias dalelės svoris turi būti algoritme (1.14).

$$M_{eff} = \frac{1}{\sum_i (W_k^i)^2} < M_{th} \quad (1.14)$$

4. Prognozavimas, atsižvelgiant į triukšmą (1.15), pagal formulę (1.16). Po šito žingsnio grįžtama į pradžią ir ciklas sukasi iš naujo [20].

$$w_k = N(0, Q_k) \quad (1.15)$$

$$x_{k+1}^i = f(x_k^i, u_k) + N^i(0, Q_k), 1, \dots, M \quad (1.16)$$

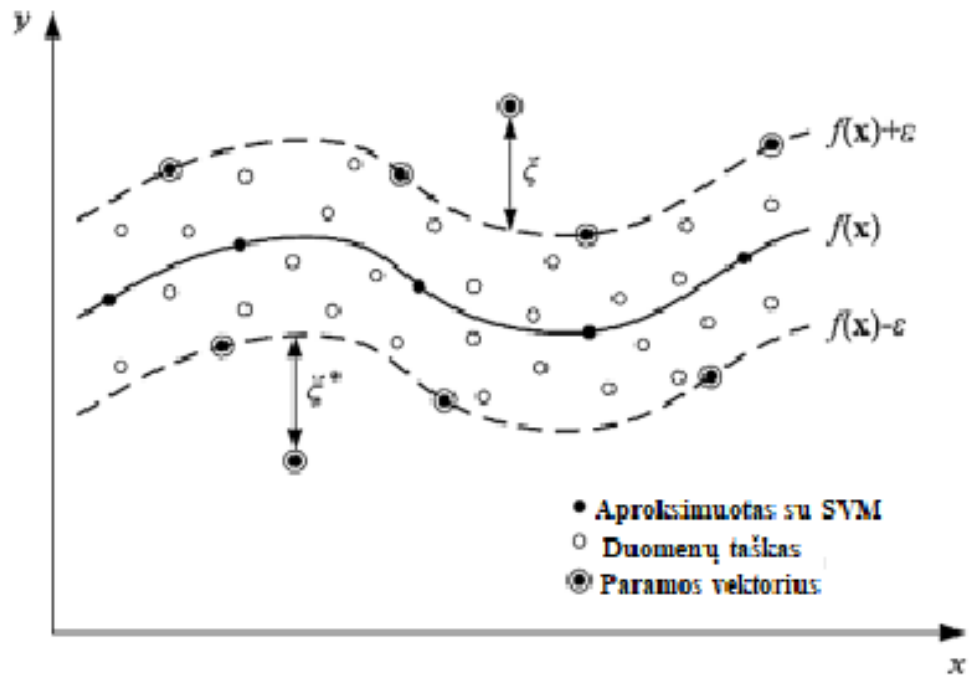
1.8. Atraminių vektorių algoritmas SVM

Atraminių vektorių mašininis mokymosi algoritmas (*angl. Support Vector Machine*) naudojamas programinių jutiklių kūrimui. Atraminių vektorių algoritmas ieško sprendimo, kuriame atstumai iki duomenų taško būtų minimalūs ir jų būtų galima pritaikyti klasifikavimo, regresijos problemoms spręsti [28]. Šio algoritmo tikslas kuriant programinį jutiklį – jo įėjimus perkelti į aukštesnės dimensijos erdvę ir joje spręsti tiesinę regresijos problemą. Netiesinės regresijos sprendimui naudojama formulė (1.17), kur w – įėjimo duomenų vektorius, b – konstanta, $\Phi(x)$ – požymių funkcija, $(w^* \Phi(x))$ – taškas aukštesnės dimensijos erdvėje.

$$f(x) = (w \cdot \Phi(x)) + b \quad (1.17)$$

Norint gauti tinkamą matematinį modelį, reikia optimizacijos problema struktūrinės rizikos minimizavime turi būti išspręsta. Tai reiškia, kad prognozavimo paklaida ir modelio sudėtingumas yra mažinami vienu metu. Optimizacijos problema užrašoma (1.18), kur C – reguliavimo konstanta, $C \sum_{i=1}^n (\xi_i + \xi_i^*)$ – prognozės paklaida.

$$\min \frac{1}{2} \|w\|^2 + C \sum_{i=1}^n (\xi_i + \xi_i^*) \quad (1.18)$$

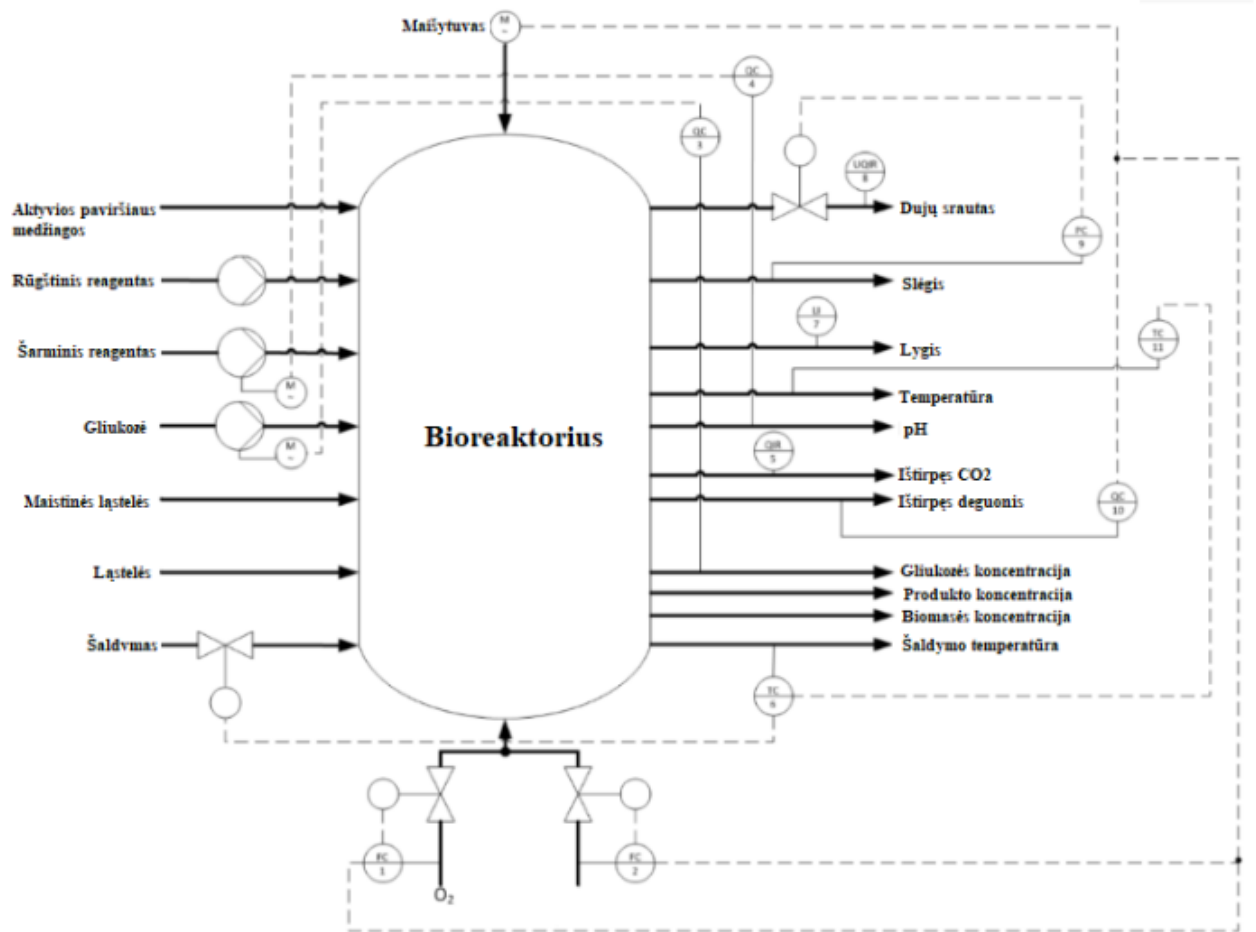


8 pav. Atraminių vektorių grafinis atvaizdavimas

Atraminių vektorių matematinis regresijos modelis turi du parametrus – C , ξ . Parametras C apibrėžia, kokio dydžio paklaidos yra toleruojamos už srities ξ ribų. Jei C parametras yra per didelis, paramos vektoriaus matematinis modelis minimizuoja tik prognozavimo paklaidas, nemažindamas modelio kompleksiškumo. Jei parametras C yra per mažas, kyla problema dėl per žemo matematinio modelio svarbumo. Parametras ξ atvirkščiai veikia paramos vektorių, kuris naudojamas regresijos funkcijos sukūrimui. Mažėjant ξ modelio sudėtingumas auga, nes mokymo taškų, pažymėtų kaip paramos vektorius skaičius auga. Yra rizika, kad modelis suskaičiuos per dideles vertes algoritmo išėjime [29].

1.9. Biotechnologinio proceso matematinis modelis

Periodinis su pamaitinimu *E. coli* procesas vyksta bioreaktoriuje, kur yra kultivuojamos *E. coli* ląstelės išgaunant rekombinantinį baltymą. Proceso metu nuolat yra matuojama dujų srautas, slėgis, bioreaktoriaus kultūros lygis, temperatūra, kultūros pH, ištirpusios CO_2 ir deguonies dujos. Į bioreaktorių paduodama *E. coli* ląstelės, substratas. Tipinė mikroorganizmų auginimo bioreaktoriaus schema pateikta 9 paveiksle [3].



9 pav. Mikroorganizmų auginimo bioreaktoriaus schema [3]

Periodinio su pamaitinimu *E. coli* proceso modelis yra sudaromas iš masės balanso lygčių, nes medžiagų masės procese nuolat kinta. Yra svarbu masės balanso lygtis aprašyti per medžiagų koncentracijas.

$$\frac{dc}{dt} = R + \frac{F}{w}(c_F - c) \quad (1.19)$$

$$\frac{dw}{dt} = F \quad (1.20)$$

Periodinio su pamaitinimu *E. coli* proceso masės balansų lygtys aprašomos per medžiagų koncentracijų vektorių c (1.19,1.20). Medžiagų koncentracijų vektorius c dinaminiame modelyje yra sudarytas iš : X – biomasės koncentracija, S – gliukozės koncentracija, A – acetato koncentracija, L – laktozės koncentracija, P – rekombinantinio baltymo koncentracija, $c = [X;S;A;L;P]$. Koncentracijos išreikštos gramais į kilogramą [g/kg]. F – maitinimo substrato greitis, [kg/h], c_F – maitinimo substrato koncentracijos vektorius, aprašomas $c_F = [0;0;0;L_0;0]$. Vienintelis komponentas maitinamajame substrate yra laktozė L_0 [g/kg], todėl koncentracijos vektoriuje c_F kitos koncentracijos prilyginamos 0. Koncentracijos yra pagrįstos kultūros mase w . Proceso modelyje pasirinkta kultūros masė, nes turį nustatyti tiksliai yra sudėtinga. Parametras, aprašantis biocheminius virsmus yra normos vektorius $R = qX$. Normos vektoriaus dedamoji q yra išskaidoma

į $q = [\mu; -q_s; -(q_{acc}-q_{acp}); -q_L; \pi]$, atitinkamai biomasės, gliukozės, acetato, laktozės ir rekombinantinio baltymo [30].

E. coli bakterijos gali būti kultivuojamos didesniais tankiais – taip užtikrinama didesnis produkto ir biomasės kiekis. Ląstelių augimas yra aerobinis procesas, kuris yra efektyvesnis kai maitinantis substratas yra gliukozė, todėl ji naudojama pradinėje arba augimo fazėse procese. Gliukozės suvartojimą aprašo formulė (1.21) [31].

$$q_s = q_{smax} \frac{S}{S + K_{sS}} \quad (1.21)$$

Rekombinantinio baltymo išraiška apima laktozės pridėjimą, kai procese nedalyvauja gliukozė. Po pirmojo pamaitinimo, maitinantis substratas parenkamas laktozė, kurios koncentracija būtina pridėdant maitinančio substrato pulsą į fermentavimo fazėje. Laktozės suvartojimo greitis aprašomas formule (1.22).

$$q_L = q_{Lmax} \left(\frac{L}{L + K_{sL}} \right) \left(\frac{K_{iS}}{S + K_{iS}} \right) \left(\frac{K_{iAc}}{S + K_{iAc}} \right) \quad (1.22)$$

Laktozės suvartojimą proceso pradžioje stabdo gliukozė. Taip pat susidaro acetatas kai *E. coli* augimo greitis padidėja kai maitinantis substratas yra gliukozė. Pirmoje proceso fazėje biomasė yra greitai išauginama su gliukozės maitinančiu substratu. Acetato susidarymo greitis deklaruojamas formulėje (1.23).

$$q_{Acp} = q_{Acp max} \frac{S}{S + K_{sAC}} \quad (1.23)$$

Specifinis acetato susidarymo greitis yra laikomas gliukozės koncentracijos funkcija, nes biomasės susidarymas naudojant laktozę nesukelia acetato augimo. Kitų proceso kintamųjų įtaka acetato augimui nevertinama. Susidaręs acetatas gali būti metabolizuojamas *E. coli* bakterijos, tačiau tai vyksta tada, kai bioreaktorius nėra maitinamas gliukozės substratu. *E. coli* ląstelė sintetina acetatą skaidančius fermentus ir jos gali suvartoti acetatą kai gliukozė procese yra išėikvota. Acetato suvartojimo rodiklis apskaičiuojamas pagal formulę (1.24).

$$q_{Acc} = q_{Acc max} \left(\frac{A}{A + K_{sAC}} \right) \left(\frac{K_{iS}}{S + K_{iS}} \right) \quad (1.24)$$

Įvairių rūšių medžiagų suvartojimas prisideda prie biomasės, produkto augimo formavimo, padeda palaikyti ląstelių būseną. Augimo greitis priklauso nuo kiekvieno anglies šaltinio suvartojimo greičio ir yra apskaičiuojamas pagal formulę (1.25) [25].

$$Y_{XL} = \frac{1}{Y_{LX}} = \left(\frac{1}{Y_{LX max}} \right) \left(\frac{pO_2}{pO_2 + K_{spO_2}} \right) \quad (1.25)$$

Produkto susidarymo greitis (1.26) yra siejamas su laktozės suvartojimo greičiu. Rekombinantinio baltymo išgavimas yra įmanomas tik tada, kai bioreaktorius maitinamas laktozės substratu ir kai bioreaktoriuje susidaro aukšta laktozės koncentracija.

$$\pi\pi = \frac{q_L}{Y_{LP}} * \frac{1}{1 + \left(\frac{K_{sP}}{L} \right)^2} * \frac{1}{1 + \left(\frac{K_{p\mu}}{\mu} \right)^5} \quad (1.26)$$

Suvartojamo deguonies koncentracija yra vienas iš pagrindinių komponentų biotechnologiniame procese ir yra apibrėžiama, kad kai tik deguonis patenka į bioreaktorių jis iškart yra suvartojamas.

Todėl nėra deguonies akumuliacijos, ir suvartota deguonies koncentracija gali būti apskaičiuojama pagal statinę lygtį (1.27).

$$pO_2 = \left(pO_2 - \frac{OUR}{k_{La}} \right) \quad (1.27)$$

Deguonies įsisavinimo greitis (1.28) *OUR* (angl. *Oxygen Uptake Rate*) susidaro iš dviejų komponentų, kurie nusako augimo ir priežiūros sąlygas : $Y_{orX}\mu X$ – deguonies suvartojimas biomasės augimui, $\omega_{om}X$ – deguonies suvartojimo greitis ląstelių priežiūrai [32].

$$OUR = Y_{orX}\mu X + \omega_{om}X \quad (1.28)$$

1.10. Matematinio modelio optimizavimas

Programiniai jutikliai biotechnologinį procesą aprašo matematinėmis priklausomybėmis, diferencialinėmis lygtimis, reakcijų greičiais. Naudojant realaus eksperimento duomenis dažnai yra gaunami nuokrypiai tarp programiniu jutikliu įvertintų komponentų koncentracijų ir išmatuotų eksperimentiniu būdu komponentų koncentracijų. Tokiais atvejais yra taikomas programinio jutiklio optimizavimas [33]. Optimizavimo algoritmo tikslas – surasti matematinio modelio kinetinius parametrus, su kuriais bus minimizuotas skirtumas tarp matematinio modelio rezultatų ir eksperimento duomenų. Matematinio modelio optimizacija yra sudėtingas uždavinys dėl sistemų netiesiškumo [34].

Vienas iš matematinio modelio optimizavimo metodų – Simplex Nelder-Mead algoritmas. Simplex Nelder-Mead algoritmas yra klasikinis tiesioginės optimalių parametrų paieškos algoritmas su dideliu konvergencijos greičiu. Simplex Nelder-Mead metodas dažniausiai yra taikomas netiesinėse sistemose [35]. Algoritmas veikia minimizuodamas matematinę funkciją įvertinant jos rezultatus [36]. Matematiniam modelyje algoritmas realizuojamas panaudojant paklaidos minimizavimo funkciją „fminsearch“. Simplex Nelder-Mead metodas yra itin efektyvus, kai matematiniam modelyje nėra funkcijų išvestinių arba jos yra nesudėtingos. Didelio masto sistemose algoritmas gali būti lėtas ir ne visada surasti globalų minimumą dėl vietinių minimumų buvimo [37]. Simplex Nelder-Mead algoritmo pranašumas – jo taikyme nereikia žinoti gradiento pasirenkant kitą paieškos tašką. Tai yra kritinė vieta matematinio modelio simuliacijų taikymui, nes gradientas yra nežinomas, o jo radimas reikalauja didelio kiekio simuliacijų, kas gali užtrukti kelias dienas [38].

Matematinio modelio parametrų identifikavimui yra taikomas Bremmerman ir Anderson metodas – Chemotaxis algoritmas. Chemotaxis metodas naudoja atsitiktinės modelio parametrų paieškos algoritmą. Tai nėra pats greičiausias ir efektyviausias matematinio modelio optimizavimo algoritmas, tačiau jis turi kelis reikšmingus pranašumus. Chemotaxis algoritmas leidžia matematinio modelio optimizavimo procedūrai neužstrigti ties lokalaus minimumo verte identifikuojant parametrus. Taip pat šio algoritmo struktūra yra paprasta, nereikalaujanti išsamių programavimo žinių, jį aprašyti neužtrunka daug laiko. Chemotaxis algoritme yra įvedami apribojimai parametrų, kad jie nenukryptų į nelogiškas reikšmes. Chemotaxis algoritmas yra vykdomas :

1. Inicijuojamas matematinis modelis, pradinės komponentų koncentracijų ir parametrų vertės.
2. Apskaičiuojamos komponentų koncentracijos ir įvertinama paklaida tarp matematinio modelio ir eksperimento matavimo duomenų.
3. Atsitiktiniu būdu sugeneruojami pasirinkti matematinio modelio parametrai pagal apibrėžtas ribas.

4. Apskaičiuojamos komponentų koncentracijos ir įvertinama paklaida tarp matematinio modelio ir eksperimento matavimo duomenų.
5. Jei paklaida padidėjo yra išsaugomi esami modelio parametrai ir grįžtama į 4 žingsnį.
6. Algoritmas yra vykdomas nustatytą kiekį kartų ir pabaigoje pateikia parametrų vertes, su kuriomis paklaidos tarp komponentų koncentracijų ir eksperimento matavimo duomenų buvo mažiausios [39].

2. Metodinė dalis

2.1. Eksperimento duomenys

Tiriamąjį darbo metu buvo panaudoti 4 duomenys E.coli periodinio su pamaitinimu proceso eksperimentų tiesioginiai ir matavimų duomenys. Tiesioginiai duomenys proceso metu kas minutę yra kaupiami duomenų failuose, šiuos duomenis sudaro : anglies dioksido, deguonies koncentracijos, kultūros svoris, aeravimo srautas, bioreaktoriaus temperatūra, slėgis. Eksperimentų matavimo duomenys yra kaupiami duomenų failuose tarpais nuo 0.5 iki 1 valandos, juos sudaro biomasės, laktozės, produkto koncentracijos. Tyrimo metu buvo panaudoti eksperimentų duomenys iš E.coli periodinio su pamaitinimu proceso :

1. 1 eksperimentas – tiesioginiai rec1online.dat, matavimo rec1offline.dat duomenys;
2. 2 eksperimentas – tiesioginiai rec2online.dat, matavimo rec2offline.dat duomenys;
3. 3 eksperimentas – tiesioginiai rec3online.dat, matavimo rec3offline.dat duomenys;
4. 4 eksperimentas – tiesioginiai rec4online.dat, matavimo rec4offline.dat duomenys.

Time	CO2	CPR	O2	OTR	pO2	pH	Base	Redox	AirFlow	Pressure	Temperature		
0.00264	0.08771	0.08704	20.3214	0.18002	99.96774		7.003	6.37E-4	98.6	3.956	171.75	36.99	37.95
0.01931	0.08771	0.08691	20.3214	0.17977	99.94624		7.004	6.37E-4	99	3.954	172	36.99	37.935

10 pav. Tiesioginių eksperimento duomenų failo fragmentas

```
T X L P W XW PW mu pi ODp10
h g/kg g/kg g/kg kg g g 1/h g/gh rU
6.89 -- 10.5 -- 4.51 5.62 0.03 0.40 -- 2.05
8.25 2.7 10.5 0.062 4.85 12.98 0.30 0.43 0.0200 3.15
9.00 3.9 8.9 0.137 4.88 19.00 0.67 0.48 0.0270 4.37
```

11 pav. Eksperimento matavimo duomenų failo fragmentas

2.2. Matematinis biotechnologinio proceso modelis

Tiriamajame darbe matematinis periodinio su pamaitinimu E.coli proceso modelis buvo kuriamas naudojant 6 masės balansų lygtis. Matematinio modelio lygtyse aprašytos 6 komponentų koncentracijų masės balansų lygtys – biomasės koncentracijos X (2.1), gliukozės koncentracijos S (2.2), acetato koncentracijos Ac (2.3), laktozės koncentracijos L (2.4), produkto koncentracijos P (2.5), deguonies koncentracijos O (2.6). Modelyje naudojamas kultūros svoris W, kuris yra nuskaitomas iš tiesioginių proceso duomenų failų. Matematiniam biotechnologinio proceso modelyje aprašomas koncentracijų vektorius c, kuriame kaupiamos šių koncentracijų ir kultūros svorio vertės.

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - \frac{F}{W} X \quad (2.1)$$

$$\frac{dS}{dt} = - \left(-q_S + \frac{Q_{Acp}}{Y_{AcS}} \right) X - \frac{F}{W} S \quad (2.2)$$

$$\frac{dA_c}{dt} = \left(-q_{Acp} + q_{Acc} \right) X - \frac{F}{W} A_c \quad (2.3)$$

$$\frac{dL}{dt} = -q_L X - \frac{F}{W} L + \frac{F_L}{W} L_0 \quad (2.4)$$

$$\frac{dP}{dt} = \pi X - \frac{F}{W} P \quad (2.5)$$

$$\frac{dO}{dt} = k_{La}(O^{sat} - O) - OUR \quad (2.6)$$

$$c(1, :) = [X \ S \ A \ L \ P \ O \ W].$$

12 pav. Koncentracijų vektoriaus aprašymas programos MATLAB R2023a aplinkoje

Apskaičiuojant biotechnologinio proceso parametrų koncentracijų vertes naudojamos reakcijų greičių lygtys. Jos aprašo tam tikrų komponentų suvartojimo/gaminimo greičius. Deguonies suvartojimo greičiui OUR (2.7) apskaičiuoti panaudojamos deguonies ir anglies dioksido koncentracijos proceso įėjime ir išėjime. Čia : Q – aeracijos greitis; NA – idealus vieno molio dujų tūris, MrO₂ – molinė deguonies masė; O_{2in} – deguonies koncentracija proceso įėjime, O_{2out} – deguonies koncentracija proceso išėjime, CO_{2in} – anglies dioksido koncentracija proceso įėjime, CO_{2out} – anglies dioksido koncentracija proceso išėjime.

$$OUR = \frac{Q}{NA} * MrO_2 * (O_{2in} - O_{2out} * \frac{100 - O_{2in} - CO_{2in}}{100 - O_{2out} - CO_{2out}}) / 100 \quad (2.7)$$

Toliau modelyje skaičiuojami biomasės augimo μ (2.8), gliukozės suvartojimo q_s (2.9), acetato produkcijos q_{Acp} (2.10), acetato suvartojimo q_{Acc} (2.11), laktozės suvartojimo q_L (2.12), produkto biosintezės π (2.13) reakcijų greičiai.

$$\mu = \frac{\frac{OUR}{W} - Y_{om} * X}{Y_{orX} * X} \quad (2.8)$$

$$q_s = \frac{q_{Smax} * S}{S + K_{SS}} \quad (2.9)$$

$$q_{acp} = \frac{q_{Acpmax} * S}{S + K_{SAC}} \quad (2.10)$$

$$q_{acp} = \frac{q_{Acpmax} * A}{A + K_{SAC}} * \frac{K_{iS}}{K_{iS} + S} \quad (2.11)$$

$$q_L = \frac{q_{Lmax} * L}{L + K_{sL}} * \frac{K_{iS}}{K_{iS} + S} * \frac{K_{iAc}}{K_{iAc} + A} * \frac{K_{iL}}{K_{iL} + L} \quad (2.12)$$

$$\pi = \frac{q_L}{Y_{LP}} * \frac{1}{1 + \left(\frac{K_{sP}}{L}\right)^2} * \frac{1}{1 + \left(\frac{K_{p\mu}}{\mu}\right)^5} \quad (2.13)$$

Matematinio modelio pradinės parametų vertės paimtos iš mokslinio straipsnio [40]. Pradinių parametų vertės apibrėžiamos 2 lentelėje.

1 lentelė. Matematinio modelio parametrai ir jų vertės

Parametras	Santrumpa	Vertė
Specifinis gliukozės suvartojimo greitis	q _{Smax}	2,31 [g g ⁻¹ h ⁻¹]
Specifinis laktozės suvartojimo greitis	q _{Lmax}	1,74 [g g ⁻¹ h ⁻¹]
Specifinis acetato suvartojimo greitis	q _{Accmax}	2,15 [g g ⁻¹ h ⁻¹]
Specifinis acetato gamybos greitis	q _{Acpmax}	2,75 [g g ⁻¹ h ⁻¹]
Palaikymas	m	0,01 [g g ⁻¹ h ⁻¹]
Gliukozės vartojimo prisotinimo konstanta	K _{sS}	0,048 [g kg ⁻¹]
Laktozės / biomasės sąnaudų santykio konstanta (pO ₂ įtaka)	K _{spO₂}	0,00006 [g kg ⁻¹]
Laktozės vartojimo prisotinimo konstanta	K _{sL}	0,77 [g kg ⁻¹]
Acetato gamybos / vartojimo prisotinimo konstanta	K _{sAc}	0,11 [g kg ⁻¹]
Prisotinimo konstanta produkto gamybai (laktozės koncentracijos įtaka)	K _{sP}	1,03 [g kg ⁻¹]
Prisotinimo pastovus produkto gamyba (specifinio augimo greičio įtaka)	K _{pμ}	0,50 [h ⁻¹]
Acetato/laktozės vartojimo slopinimo konstanta (gliukozės įtaka)	K _{iS}	0,005 [g kg ⁻¹]
Laktozės vartojimo slopinimo konstanta (acetato įtaka)	K _{iAc}	0,001 [g kg ⁻¹]
Laktozės vartojimo slopinimo konstanta	K _{iL}	41,7 [g kg ⁻¹]
Išėiga gliukozė / biomasė	Y _{SX}	1,87 [g g ⁻¹]
Acetato suvartojimas / biomasė	Y _{AccX}	2,2 [g g ⁻¹]
Išėiga acetato gamyba / gliukozė	Y _{AcS}	1,24 [g g ⁻¹]
Išėiga acetato gamyba / biomasė	Y _{AcpX}	20,7 [g g ⁻¹]
Išėiga laktozė / biomasė	Y _{LXmax}	2,2 [g g ⁻¹]
Išėiga laktozė / produktas	Y _{LP}	21,3 [g g ⁻¹]
Deguonies išėiga / biomasės augimas	Y _{orX}	0,69 [g g ⁻¹]
Deguonies išėiga / biomasės palaikymas	Y _{om}	0,2 [g g ⁻¹ h ⁻¹]
Šarmų išėiga / biomasės augimas	Y _{brX}	0,0008 [kg kg ⁻¹]
Laktozės koncentracija bioreaktoriaus maitinime	L ₀	210 [g kg ⁻¹]
Deguonies tirpumas	O ^{sat}	0,0094 [g kg ⁻¹]

Programinis jutiklis nuskaityti tiesioginius proceso eksperimentų duomenis ir juos apdoroja prieš komponentų koncentracijų įvertinimą. Iš tiesioginių proceso duomenų yra panaudojami šie duomenys :

1. Proceso duomenų nuskaitymo laikas.
2. CO₂ anglies dioksido koncentracija bioreaktoriaus išėjime.
3. O₂ deguonies koncentracija bioreaktoriaus išėjime.
4. Aeravimo srautas.
5. Kultūros svoris bioreaktoriuje.
6. Sudozuoto substrato svoris.

Prieš komponentų koncentracijų įvertinimą tiesioginiai proceso duomenys yra dar kartą apdorojami pagal matavimų laiką. Eksperimentų duomenų laikai yra parenkami pagal eksperimentų matavimo duomenis. Kiekvieno eksperimento duomenims laikas yra skirtingas :

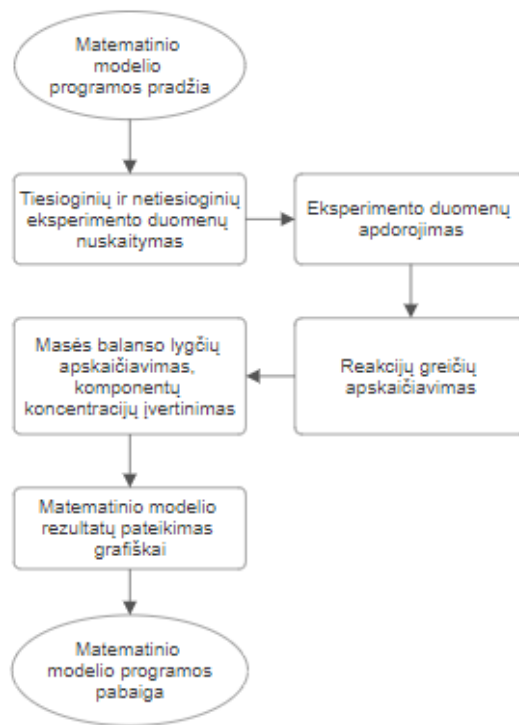
1. 1 eksperimentas – nuo 6,5 iki 15,5 valandos.
2. 2 eksperimentas – nuo 6,5 iki 16,5 valandos.
3. 3 eksperimentas – nuo 6,5 iki 14 valandos.
4. 4 eksperimentas – nuo 6,89 iki 13,29 valandos.

Matematinio modelio tikslumo rezultatai vertinami pagal netiesioginius eksperimento duomenis. Eksperimentinių duomenų imtis yra kelias dešimtis kartų mažesnė, negu tiesioginių duomenų. Tikslumo įvertinimas vykdomas iš matematinio modelio įvertintų parametru išrenkant biomasės, laktozės ir produkto koncentracijas tuo laiku, koku buvo registruojami netiesioginiai duomenys. Kiekviename eksperimente yra panaudojami šie netiesioginiai duomenys :

1. Proceso duomenų registravimo laikas;
2. Biomasės koncentracija – X.
3. Laktozės koncentracija – L.
4. Produkto koncentracija - P.

Sekančiame matematinio modelio programos etape aprašomos pradinės eksperimento sąlygos. Pagal netiesioginius proceso duomenis yra parenkamos pradinės komponentų koncentracijų vertės : biomasės X, substrato S, acetato A, laktozės L, produkto P, deguonies O, kultūros svoris W. Šiuos parametrus programa naudoja kaip pradinius ir nuo jų pradeda braižyti atitinkamų komponentų koncentracijų kitimo grafikus. Substrato S ir acetato A pradinės vertės kiekviename eksperimente prilyginamos 0, nes jos neturi įtakos biomasės, laktozės ir produkto koncentracijų apskaičiavime. Matematinio modelio programoje taip pat deklaruojami kiti modelio parametrai iš 2 lentelės.

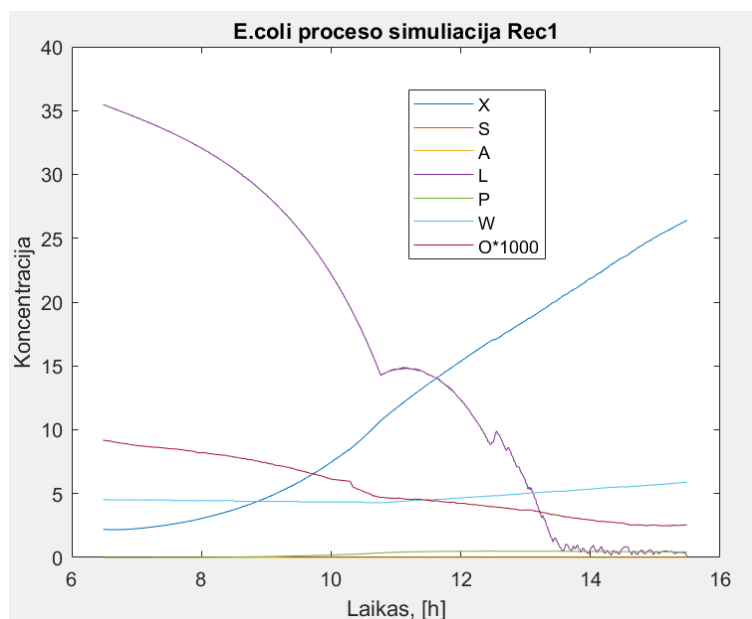
Sekančiame etape programa skaičiuoja deguonies įsisavinimo greitį *OUR* pagal 7 lygtį ir kitus reakcijų greičius pagal 8-13 lygtis. Skaičiuojant reakcijų greičius yra įvertinamas proceso laikas, nes skirtingais laikais reakcijų greičiai skiriasi. Paskutiniame programos vykdymo etape yra panaudojamos masės balansų 1-6 lygtys komponentų koncentracijoms įvertinti. Programos pabaigoje yra nubraižomas koncentracijų kitimo per laiką grafikas. Matematinio modelio programos veikimo blokinė schema pateikta 13 paveiksle.



13 pav. Matematinio modelio algoritmo veikimo blokinė schema

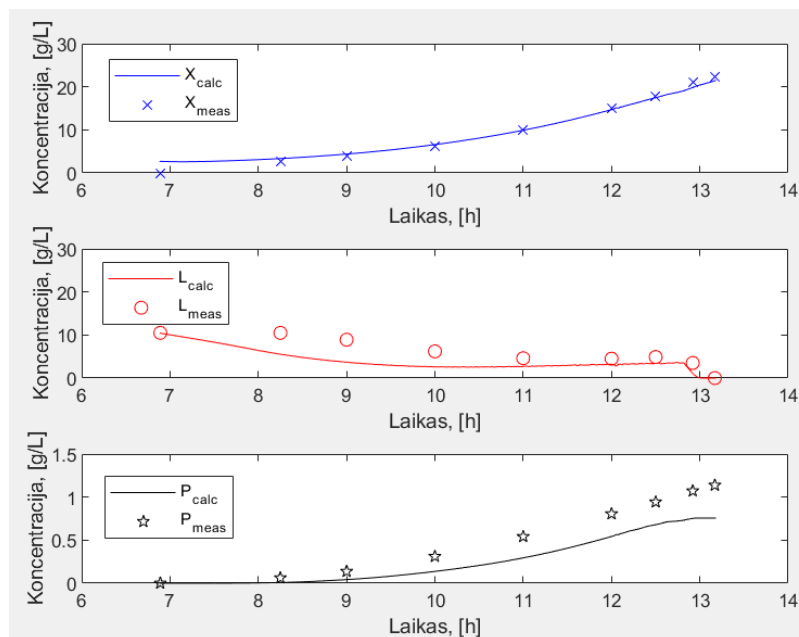
2.3. Matematinio modelio testavimas su eksperimentų duomenimis

Sukurtas matematinis E.coli periodinio su pamaitinimu proceso modelis buvo testuojamas su skirtingų 4 eksperimentų duomenimis. Pirmame etape matematinio modelio programa įvertina visų modelio parametrų koncentracijas. Antrame etape apskaičiuotos koncentracijos yra palyginamos su netiesioginiais proceso duomenimis. Matematinio modelio tikslumo kriterijų apibrėžia kiekvienos koncentracijos pokyčio tam tikru laiku vidutinė absoliutinė paklaida.



14 pav. 1 eksperimento programinio jutiklio rezultatai, apskaičiuotos komponentų koncentracijų kreivės

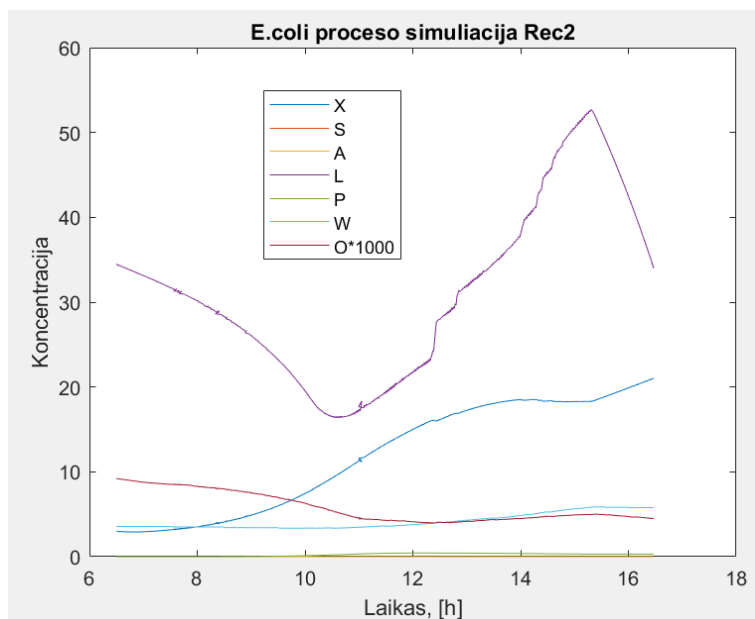
1 eksperimento programinio jutiklio rezultatų grafike 14 paveiksle : mėlyna linija – biomasės koncentracija, oranžinė linija – substrato koncentracija, geltona linija – acetato koncentracija, violetinė linija – laktozės koncentracija, žalia linija – produkto koncentracija, šviesiai mėlyna linija – kultūros svoris, tamsiai raudona linija – deguonies koncentracija padauginta 1000 kartų. 1 eksperimento rezultatuose matoma, kad biomasės ir produkto koncentracijos nuolat auga, substrato ir acetato koncentracijos nekinta, laktozės koncentracija nuo simuliacijos pradžios mažėja ir ties 10,6 valanda reaktorių yra pamaitinamas laktozės srautu. Tuo pačiu metu produkto ir biomasės koncentracija bioreaktoriuje staigiai paauga. Deguonies koncentracija simuliacijos metu nuolat mažėja. Kitame etape buvo vertinama, kaip tiksliai programinis jutiklis apskaičiavo biomasės, laktozės ir produkto koncentracijų vertes.



15 pav. Modeliuotų 1 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis

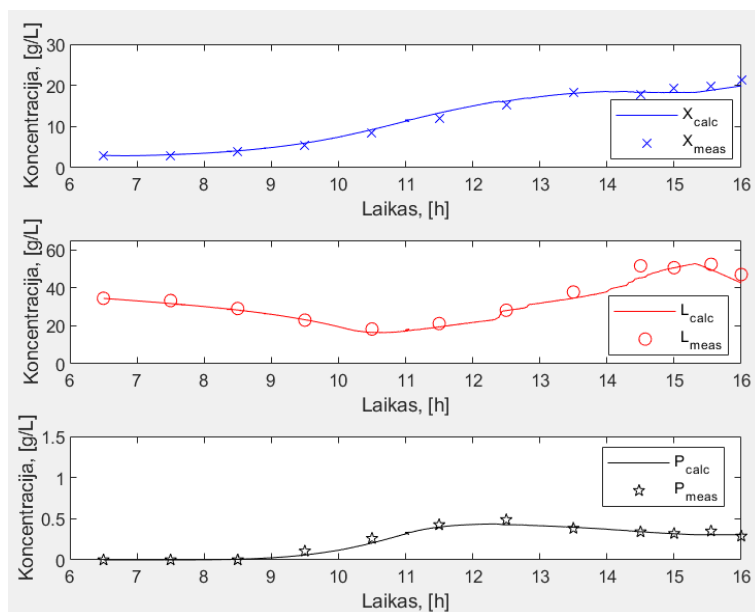
1 eksperimento programinio jutiklio ir eksperimento matavimo duomenų palyginimo grafike 15 paveiksle : mėlyna linija – apskaičiuota biomasės koncentracija, mėlynas simbolis X – išmatuota biomasės koncentracija, raudona linija – laktozės apskaičiuota koncentracija, raudonas simbolis O – išmatuota laktozės koncentracija, juoda linija – apskaičiuota produkto koncentracija, juodas simbolis ☆ – išmatuota produkto koncentracija. Iš grafiko yra matoma, kad tiksliausiai programiniu jutikliu įvertinta biomasės koncentracija, mažiausiu tikslumu – laktozės koncentracija. Vidutinės absoliutinės paklaidos : biomasė X – 0,69 g/L, laktozė L – 2,95 g/L, produktas P – 0,065 g/L. Didžiausios absoliutinės paklaidos tarp gautų rezultatų ir eksperimento matavimo duomenų : biomasė X – 1,77 g/L, laktozė L – 8,38 g/L, produktas P – 0,16 g/L.

Sekančiame etape programinis jutiklis buvo testuojamas su 2 eksperimento duomenimis. Šio eksperimento metu laktozės koncentracija mažėja iki 10,8 valandos ir pasiekus minimalią ribą bioreaktoriuje vėl pradamas maitinimas. Pradėjus maitinti bioreaktorių laktoze, stebimas produkto ir biomasės koncentracijų šuolis į viršų. Nutraukus bioreaktoriaus maitinimą laktoze, bioreaktoriuje stebimas produkto koncentracijos mažėjimas. Koncentracijų kitimas per laiką atvaizduotas 16 paveiksle.



16 pav. 2 eksperimento matematinio modelio rezultatai, apskaičiuotos komponentų koncentracijų kreivės

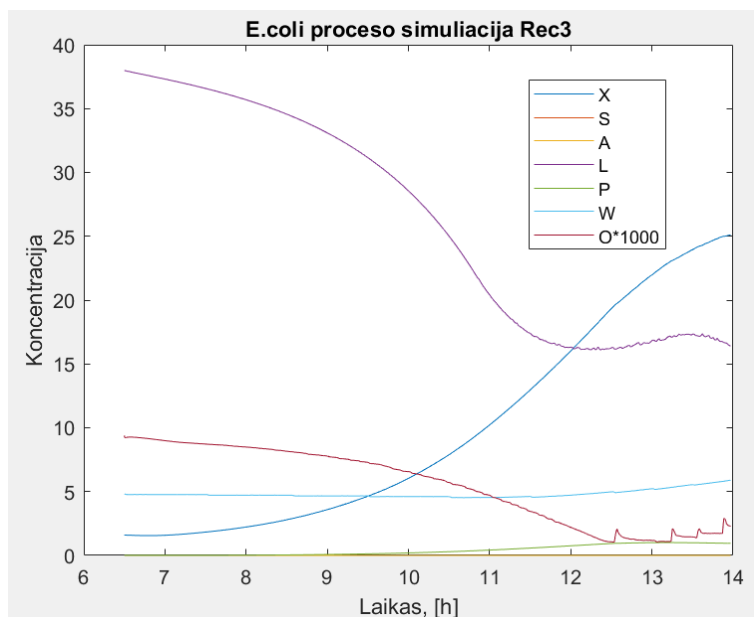
2 eksperimento matematinio modelio ir eksperimento matavimo duomenų palyginimo grafikas atvaizduojamas 17 paveiksle. Grafike matoma, kad programinis jutiklis biomasės, laktozės ir produkto koncentracijas įvertina su nedidelėmis paklaidomis. Vidutinės absoliutinės paklaidos : biomasė X – 0,75 g/L, laktozė L – 2,43 g/L, produktas P – 0,027 g/L. Didžiausios absoliutinės paklaidos tarp gautų rezultatų ir eksperimento matavimo duomenų : biomasė X – 1,77 g/L, laktozė L – 8,3 g/L, produktas P – 0,06 g/L.



17 pav. Modeliuotų 2 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis

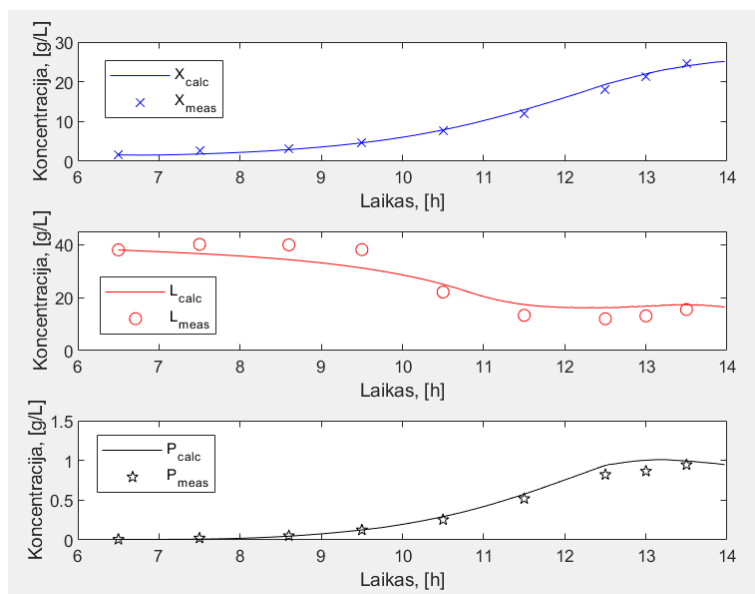
Trečiame etape programinis jutiklis buvo testuojamas su 3 eksperimento duomenimis. Šio eksperimento metu stebimas laktozės koncentracijos mažėjimas iki 12 proceso valandos, tada bioreaktorius yra pamaitinamas laktozės srautu. Pamaitinus bioreaktorių laktozės srautu stebimas

staigus produkto koncentracijos šuolis bioreaktoriuje. 3 eksperimento grafiniai koncentracijų kitimo rezultatai atvaizduojami 18 paveiksle.



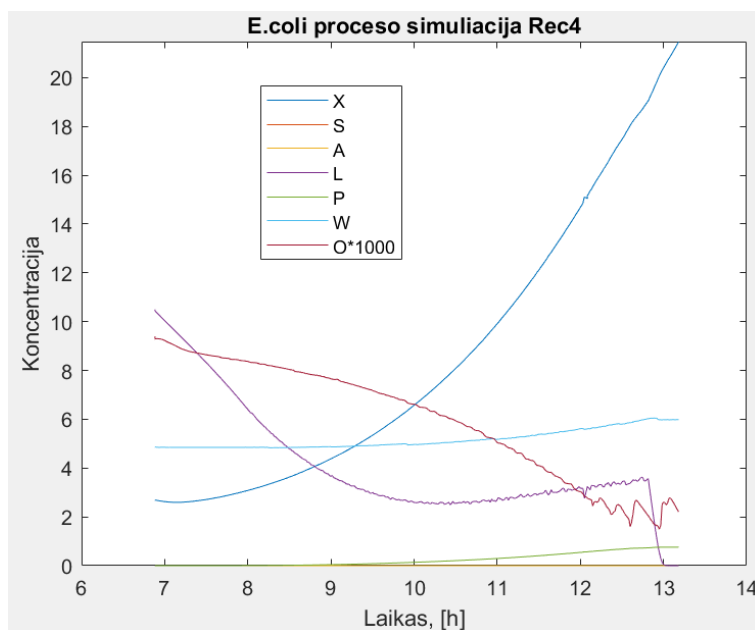
18 pav. 3 eksperimento matematinio modelio rezultatai, apskaičiuotos komponentų koncentracijų kreivės

3 eksperimento programinio jutiklio ir eksperimento matavimo duomenų palyginimo grafikas atvaizduojamas 19 paveiksle. Grafike matoma, kad programinis jutiklis biomasės koncentraciją proceso metu įvertina su nedidele paklaida. Laktozės koncentracijos apskaičiuota kreivė yra labiausiai nutolusi nuo eksperimento matavimo duomenų. Produkto koncentracija buvo vertinama dideliu tikslumu iki 9,5 valandos, bioreaktoriuje atsiradus laktozės koncentracijos sumažėjimui, produkto koncentracija buvo vertinama ne taip tiksliai. Vidutinės absoliutinės paklaidos : biomasė X – 0,52 g/L, laktozė L – 3,38 g/L, produktas P – 0,044 g/L. Didžiausios absoliutinės paklaidos tarp gautų rezultatų ir eksperimento matavimo duomenų : biomasė X – 1,44 g/L, laktozė L – 6,95 g/L, produktas P – 0,14 g/L.



19 pav. Modeliuotų 3 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis

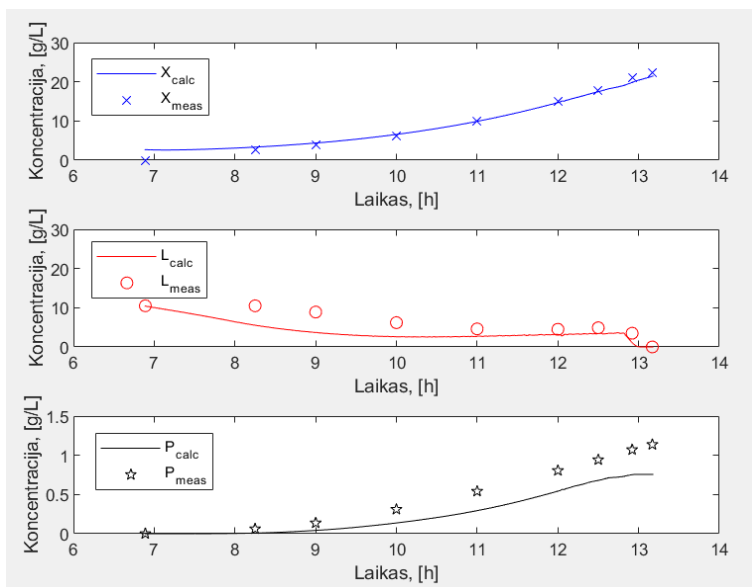
Ketvirtame etape programinis jutiklis buvo testuojamas su 4 eksperimento duomenimis. Šio eksperimento metu laktozės koncentracija visą proceso laiką mažėja, bioreaktorius nėra maitinamas laktozės srautu. Laktozės koncentracijai bioreaktoriuje per laiką mažėjant, biomės ir produkto koncentracijos viso proceso metu auga. 4 eksperimento grafiniai koncentracijų kitimo rezultatai atvaizduojami 20 paveiksle.



20 pav. 4 eksperimento matematinio modelio rezultatai, apskaičiuotos komponentų koncentracijų kreivės

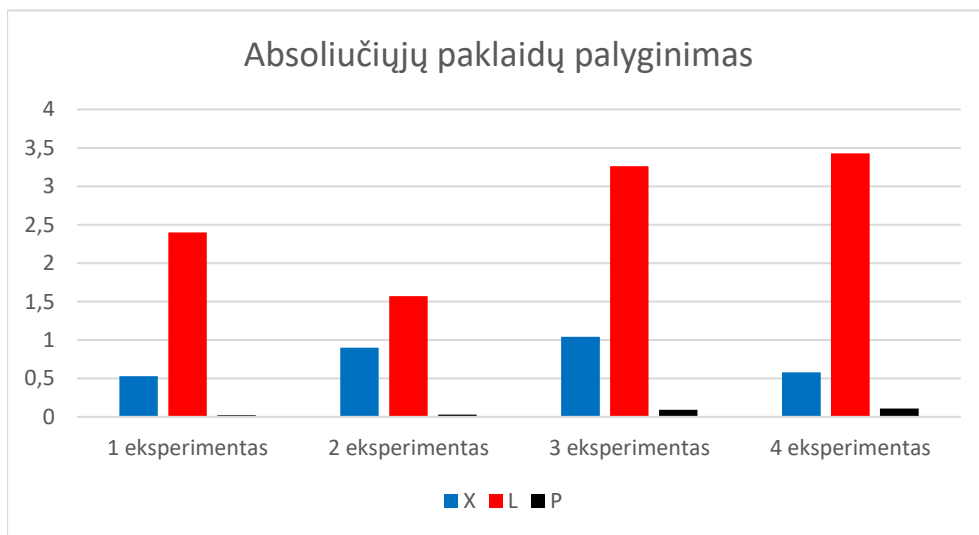
4 eksperimento programinio jutiklio ir eksperimento matavimo duomenų palyginimo grafikas atvaizduojamas 21 paveiksle. Grafike matoma, kad matematinis modelis biomės koncentraciją proceso metu įvertina su nedidele paklaida. Stebint laktozės ir produkto koncentracijas, grafikuose matomos didelės paklaidos. Vidutinės absoliutinės paklaidos : biomės $X - 0,48 \text{ g/L}$, laktozė $L -$

2,31 g/L, produktas P – 0,19 g/L. Didžiausios absoliutinės paklaidos tarp gautų rezultatų ir matavimo duomenų : biomase X – 0,56 g/L, laktozė L – 5,24 g/L, produktas P – 0,38 g/L.



21 pav. Modeliuotų 4 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis

Programinio jutiklio vidutinės absoliutinės paklaidos pateiktos 22 paveiksle. Didžiausi nukrypimai nuo eksperimentų matavimų duomenų stebimi apskaičiuojant laktozės koncentraciją programiniu jutikliu. Tam turi įtakos tarpusavyje skirtingi eksperimentai, kuriuose skirtingu metu bioreaktorių yra pamaitinamas laktozės srautu. Mažiausios absoliutinės paklaidos gautos įvertinant produkto koncentraciją kiekvieno eksperimento metu.



22 pav. Programinio jutiklio absoliutinių paklaidų įvertinimo diagrama

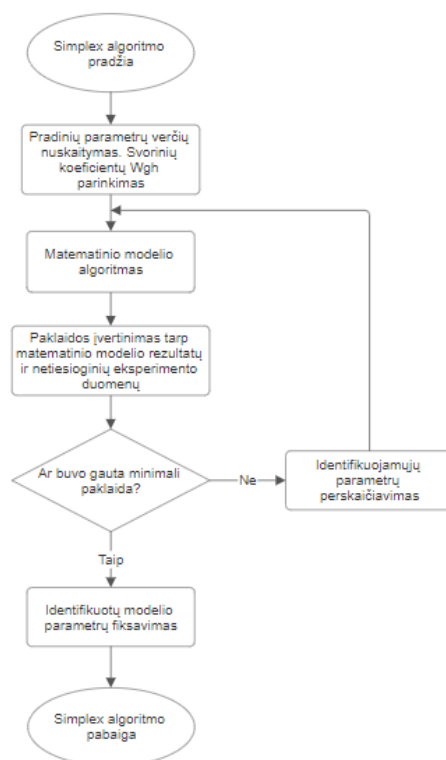
2.4. Matematinio modelio parametrų derinimas

Siekiant sumažinti paklaidas, gautas tarp programiniu jutikliu apskaičiuotų komponentų koncentracijų ir eksperimentų matavimų duomenų atliekamas tam tikrų parametrų verčių identifikavimas, pritaikymas prie eksperimentų. Kuriamo programinio jutiklio rezultatai ir

tikslumas priklauso nuo tinkamo matematinio modelio identifikuojamų parametų pasirinkimo. Tiriamajame darbe identifikacijai pasirinkti parametrai :

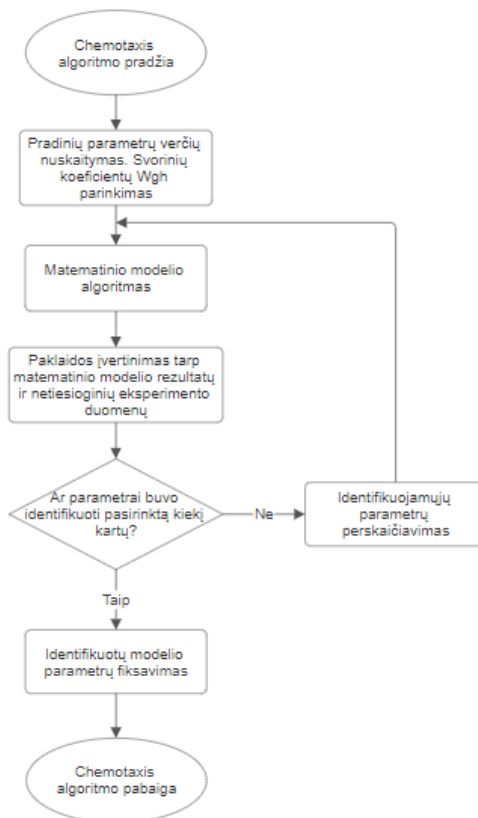
1. Specifinis laktozės suvartojimo greitis – $q_{Lmax} = 1,74 [g g^{-1} h^{-1}]$.
2. Laktozės vartojimo prisotinimo konstanta – $K_{sL} = 0,77 [g kg^{-1}]$.
3. Laktozės vartojimo slopinimo konstanta – $K_{iL} = 41,7 [g kg^{-1}]$.
4. Deguonies išeiga / biomasės palaikymas – $Y_{om} = 0,2 [g g^{-1} h^{-1}]$.
5. Deguonies / biomasės augimas – $Y_{orX} = 0,69 [g g^{-1}]$.
6. Išeiga laktozė / produktas – $Y_{LP} = 21,3 [g g^{-1}]$.
7. Produkto gamybos prisotinimo konstanta – $K_{sP} = 1,03 [g kg^{-1}]$.
8. Prisotinimo pastovus produkto gamyba - $K_{p\mu} = 0,5 [h^{-1}]$.
9. Produkto biozintezės reakcijos greičio lygties (13) penktos eilės laipsnis.

Biomasės koncentracijos X paklaidų mažinimui naudojami modelio parametrai Y_{om} , Y_{orX} , laktozės koncentracijos L paklaidų mažinimui naudojami modelio parametrai q_{Lmax} , K_{sL} , K_{iL} , produkto koncentracijos P paklaidų mažinimui naudojami modelio parametrai Y_{LP} , K_{sP} , K_{iL} , produkto biozintezės reakcijos greičio lygties (13) penktos eilės laipsnis. Matematinio modelio parametrai identifikuojami dviem etapais – pirma identifikuojami biomasės ir laktozės koncentracijų parametrai, sekančiu žingsniu identifikuojami tik produkto koncentracijos parametrai. Parametų derinimas vykdomas pasirenkant svorinius koeficientus kiekvienai koncentracijai – $Wgh1$, $Wgh2$, $Wgh3$ – atitinkamai X, L ir P koncentracijoms. Tiriamajame darbe buvo pritaikomi du parametų identifikavimo algoritmai – Simplex ir Chemotaxis. Simplex algoritmas perskaičiuoja pasirinktus modelio parametrus po kiekvieno perskaičiavimo tikrindamas programinio jutiklio kvadratinį nuokrypį nuo eksperimento matavimo duomenų verčių. Algoritmo veikimo schema pateikta 23 paveiksle.



23 pav. Simplex algoritmo veikimo blokinė schema

Chemotaxis algoritmas nustatytose identifikuojamų parametrų ribose atsitiktine tvarka parenka parametrus ir vertina kvadratinį nuokrypį tarp programinio jutiklio įvertintų komponentų koncentracijų ir eksperimento matavimo duomenų verčių. Šiame algoritme yra apibrėžiamos kiekvieno identifikuojamo parametro ribos, kuriose algoritmas ieško parametrų, su kuriais programinis jutiklis įvertins komponentų koncentracijas su mažiausia paklaida. Algoritmo pradžioje apibrėžiamas algoritmo identifikuojamųjų parametrų spėjimų kiekis. Algoritmo veikimo schema pateikta 24 paveiksle.



24 pav. Chemotaxis algoritmo veikimo blokinė schema

2.5. Parametru identifikavimas pagal 1 eksperimentą

Programinio jutiklio pasirinktų parametru identifikavimas pirmiausia atliekamas pagal visus pirminėje stadijoje turimus eksperimento duomenis. Toliau, paleidžiamas programinis jutiklis ir jam veikiant yra skaičiuojamos parametru kintamųjų vertės laike einamajame eksperimente. Perskaičiavus kintamųjų vertes, programinis jutiklis yra papildomas duomenų rinkiniu su paskutinio eksperimento duomenimis ir vėl atliekamas parametru identifikavimas su jau papildytais parametrais. Parametru identifikavimas yra tęsiamas tol, kol nebelieka eksperimentinių duomenų parametru identifikavimo algoritmo papildymui. Prieš vykdant programinio jutiklio parametru identifikavimo algoritmą, yra parašomi svoriniai koeficientai W_{gh} , kurie keičia įtaką identifikuojamiesiems parametrams tam tikro biotechnologinio proceso komponento. Tiriamajame darbe 1 eksperimento parametru identifikavimui buvo deklaruoti trys svoriniai koeficientai, W_{gh1} , W_{gh2} , W_{gh3} .

Pirmame etape buvo identifikuojami parametrai Simplex algoritmu, skirti biomasės ir laktozės koncentracijų paklaidų sumažinimui. Pradžioje svoriniai koeficientai buvo pasirinkti : W_{gh1} (biomasės paklaidai įvertinti) – 1, W_{gh2} (laktozės paklaidai įvertinti) – 1, W_{gh3} (produkto paklaidai įvertinti) – 0. Atlikus parametru identifikaciją, buvo gautas kvadratinis nuokrypis, lygus 3,17467, tarp programinio jutiklio ir netiesioginių eksperimento duomenų. Vidutinės absoliutinės paklaidos programinio jutiklio apskaičiuotų komponentų koncentracijų ir eksperimento matavimo duomenų gautos : biomasės koncentracija X – 0,349 g/L, laktozės koncentracija L – 2,814 g/L.

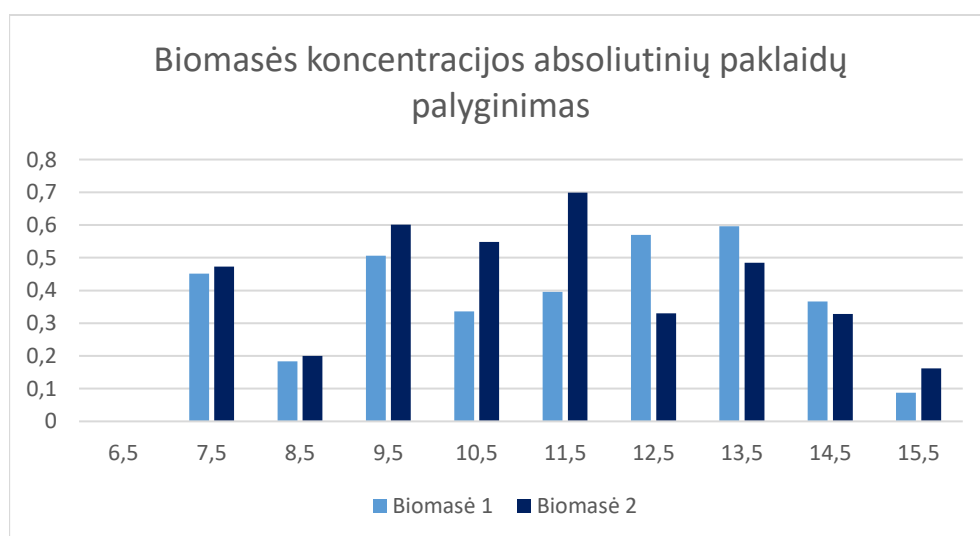
Laktozės koncentracijos paklaida gauta didelė, todėl tyrimo metu buvo keičiami W_{gh1} ir W_{gh2} koeficientai identifikuojant parametrus. Geriausi rezultatai gauti W_{gh1} svorinį koeficientą

sumažinus iki 0,9, Wgh2 koeficiento nekeičiant. Buvo sumažinta identifikuojamų parametų reakcija į biomasės paklaidas ir išlaikyta identifikuojamųjų parametų reakcija į laktozės paklaidas. Atlikus pakartotinę parametų identifikaciją, buvo gautas kvadratinis nuokrypis, lygus 3,15942, tarp programinio jutiklio apskaičiuotų komponentų koncentracijų ir eksperimento matavimo duomenų. Vidutinės absoliutinės paklaidos tarp programiniu jutikliu apskaičiuotų komponentų koncentracijų ir eksperimento matavimo duomenų gautos : biomasės koncentracija X – 0,382 g/L, laktozės koncentracija L – 0,614 g/L. Rezultate gauta, kad biomasės vidutinė absoliutinė paklaida po pakartotinio parametų identifikavimo padidėjo 0,033 g/L, tačiau laktozės koncentracijos vidutinė absoliutinė paklaida sumažėjo 2,2 g/L. Identifikuoti parametrai pateikti 2 lentelėje.

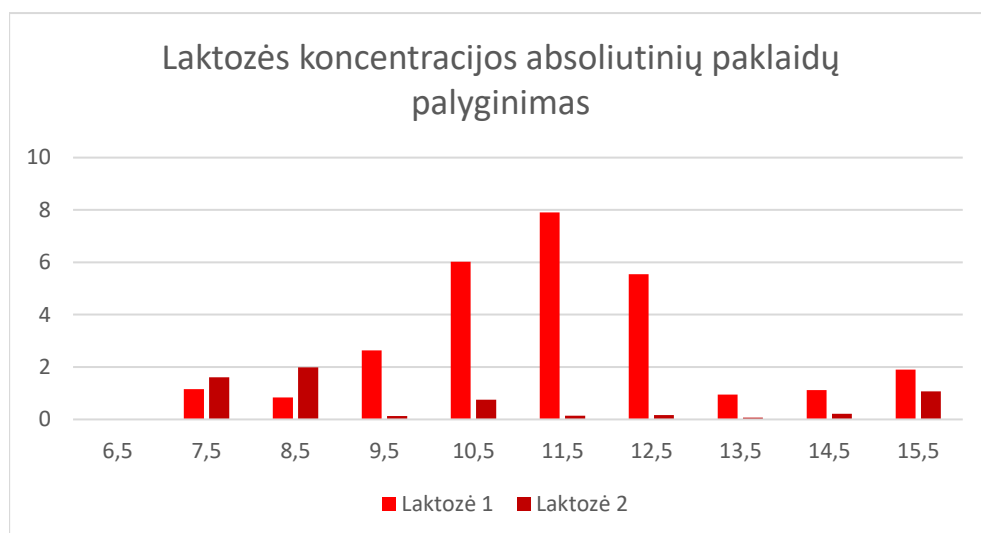
2 lentelė. Simplex algoritmu identifikuoti parametrai apskaičiuojant X, L koncentracijas su 1 eksperimento duomenimis

Parametras	Identifikuoti parametrai pirmuoju bandymu	Identifikuoti parametrai antruoju bandymu
q_{Lmax}	1,68338 [g g ⁻¹ h ⁻¹]	2,80352 [g g ⁻¹ h ⁻¹]
K_{sL}	0,84552 [g kg ⁻¹]	1,13562 [g kg ⁻¹]
K_{iL}	43,6917 [g kg ⁻¹]	39,5324 [g kg ⁻¹]
Y_{om}	0,166954 [g g ⁻¹ h ⁻¹]	0,187989 [g g ⁻¹ h ⁻¹]
Y_{orX}	0,725513 [g g ⁻¹]	0,65166 [g g ⁻¹]

25 ir 26 paveiksluose pateikti biomasės ir laktozės absoliutinių paklaidų pokyčiai identifikavus 1 eksperimento parametrus su skirtingais koncentracijų paklaidų svoriniais koeficientais. Po pirmojo parametų identifikavimo gautos paklaidos grafikuose pavadintos atitinkamai Biomasė 1, Laktozė 1, po pakartotinio – Biomasė 2, Laktozė 2. Iš grafikų matoma, kad biomasės tikslumas po pakartotinio parametų identifikavimo sumažėjo nuo proceso pradžios iki 11,5 valandos, toliau iki proceso pabaigos rezultatai gauti tikslesni nei po pirmojo parametų identifikavimo. Laktozės koncentracija po pakartotinio parametų identifikavimo programinio jutiklio buvo vertinama kelis kartus tiksliau nuo 9,5 proceso valandos.



25 pav. Biomasės koncentracijos absoliutinių paklaidų palyginimas, identifikavus parametrus Simplex algoritmu su 1 eksperimento duomenimis

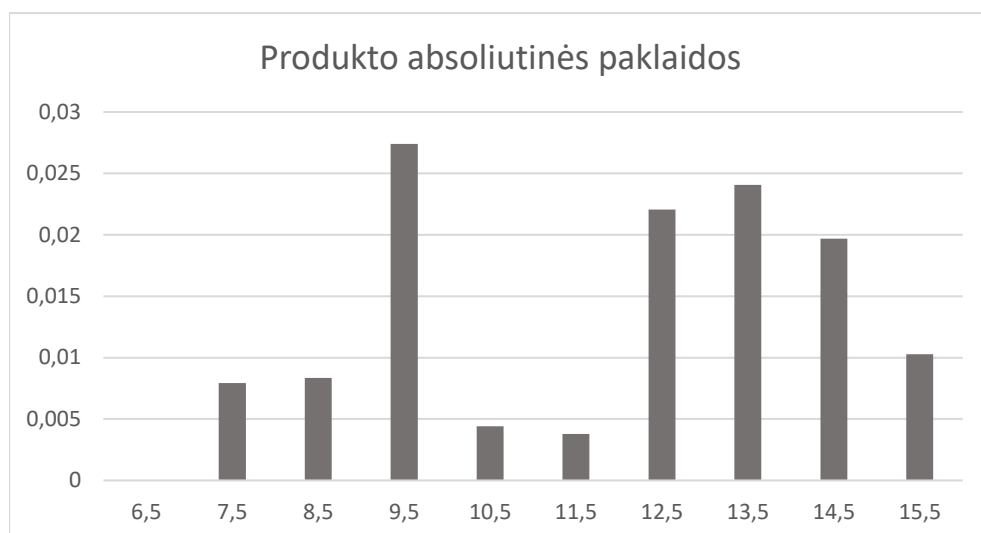


26 pav. Laktozės koncentracijos absoliutinių paklaidų palyginimas, identifikavus parametrus Simplex algoritmu su 1 eksperimento duomenimis

Sekančiame tiriamojo darbo etape buvo identifikuojami 1 eksperimento parametrai produkto koncentracijos tikslumui padidinti Simplex algoritmu. Svoriniai paklaidų įvertinimo koeficientai W_{gh1} ir W_{gh2} prilyginti 0, W_{gh3} koeficientas reikalingas produkto koncentracijai prilygintas 1, kad maksimaliai reaguotų į produkto koncentracijos paklaidas. Programiniame jutiklyje buvo pakeisti identifikuoti parametrai pagal 3 lentelę prieš šį etapą. Atlikus parametrų identifikavimą, buvo gautas 0,0497 kvadratinis nuokrypis tarp programinio jutiklio apskaičiuotos produkto koncentracijos ir eksperimento matavimo duomenų. Vidutinė absoliutinė produkto P paklaida gauta lygi 0,012 g/L. Šiame etape identifikuoti parametrai pateikti 3 lentelėje. Gautos programinio jutiklio absoliutinės paklaidos pateiktos 27 paveiksle.

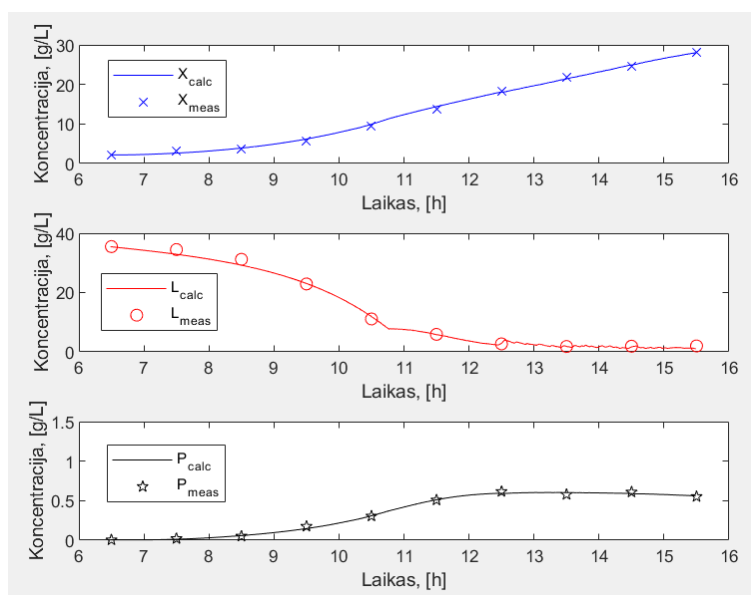
3 lentelė. Simplex algoritmu identifikuoti parametrai apskaičiuojant P koncentraciją su 1 eksperimento duomenimis

Parametras	Identifikuoti parametrai
Y_{LP}	63,2332 [g g ⁻¹]
K_{sP}	0,018613 [g kg ⁻¹]
$K_{p\mu}$	0,31456 [h ⁻¹]
Produkto biosintezės reakcijos greičio lygties (13) penktos eilės laipsnis	5,87858



27 pav. Produkto koncentracijos absoliutinės paklaidos, identifikavus parametrus Simplex algoritmu su 1 eksperimento duomenimis

28 paveiksle pateiktos biomasės, laktozės, produkto koncentracijų kitimo per laiką kreivės pirmajam eksperimentui po parametrų identifikavimo Simplex algoritmu ir 1 eksperimento matavimo duomenys. Iš grafikų matoma, kad programinis jutiklis su gana tiksliai įvertina proceso komponentų koncentracijas.



28 pav. Modeliuotų 1 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis, parametrus identifikavus Simplex algoritmu su 1 eksperimento duomenimis

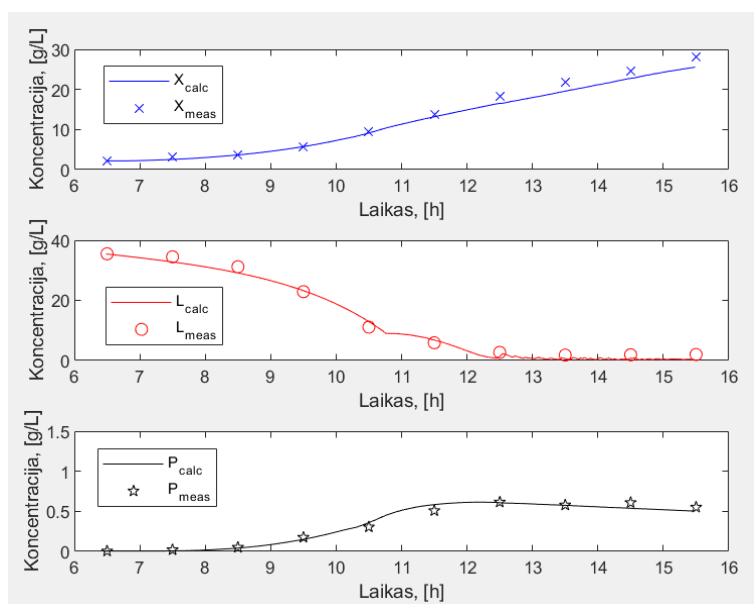
Tyrimo metu išbandytas Chemotaxis parametrų identifikavimo algoritmas, programinio jutiklio tikslumui pagerinti. Identifikuoti parametrai Simplex metodu buvo atstatyti į pradines vertes pagal 1 lentelę. Biomasės ir laktozės koncentracijų identifikavimui svariniai koeficientai Wgh1 ir Wgh2 buvo pasirinkti lygūs 1, Wgh3 prilygintas 0. Chemotaxis algoritmui suderinus parametrų pokyčio ribas, algoritmo suveikimo skaičių buvo identifikuoti parametrai biomasės ir laktozės koncentracijoms, gautas kvadratinis nuokrypis 6,30157. Vidutinės absoliutinės paklaidos tarp

netiesioginių duomenų ir programinio jutiklio koncentracijų įvertinimo gautos : biomasės koncentracija $X = 1,016 \text{ g/L}$, laktozė koncentracija $L = 1,232 \text{ g/L}$. Pakartotiniai bandymai buvo atliekami keičiant parametrų pokyčio ribas, tačiau geresnių rezultatų tai nedavė, biomasės svorinis koeficientas keičiamas nebuvo, nes buvo didelė absoliutinė paklaida. Sekančiame etape buvo identifikuojami produkto koncentracijai įtakos turintys parametrai. Gautas 0,1433 kvadratinis nuokrypis, produkto koncentracijos vidutinė absoliutinė paklaida – 0,03 g/L. Chemotaxis algoritmu identifiкуotos parametrų vertės 1 eksperimentui atvaizduojamos 4 lentelėje.

4 lentelė. Chemotaxis algoritmu identifiкуoti parametrai apskaičiuojant X , L , P koncentracijas su 1 eksperimento duomenimis

Parametras	Identifiкуoti parametrai
q_{Lmax}	2,028 [g g ⁻¹ h ⁻¹]
K_{sL}	0,9397 [g kg ⁻¹]
K_{iL}	50,8891 [g kg ⁻¹]
Y_{om}	0,2066 [g g ⁻¹ h ⁻¹]
Y_{orX}	0,7128 [g g ⁻¹]
Y_{LP}	20,668 [g g ⁻¹]
K_{sP}	1,0219 [g kg ⁻¹]
$K_{p\mu}$	0,498 [h ⁻¹]
Produkto biozintezės reakcijos greičio lygties (13) penktos eilės laipsnis	4,9506

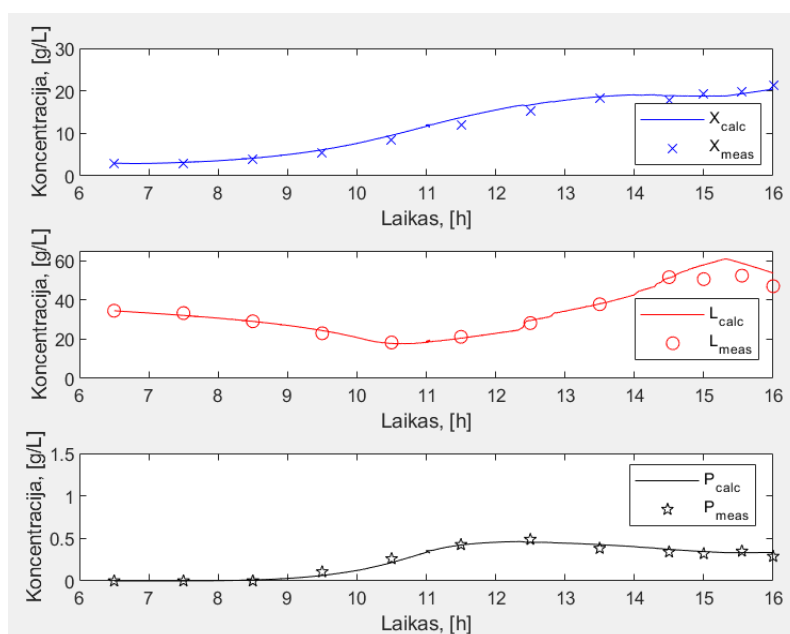
29 paveiksle atvaizduojamos proceso komponentų koncentracijų kreivės. Lyginant koncentracijų kreives po Simplex ir Chemotaxis parametrų identifikavimo, matoma, kad po Chemotaxis metodu identifiкуotų parametrų atsiranda didesnės paklaidos tarp programinio jutiklio apskaičiuotų biomasės ir laktozės koncentracijų ir eksperimento matavimo duomenų.



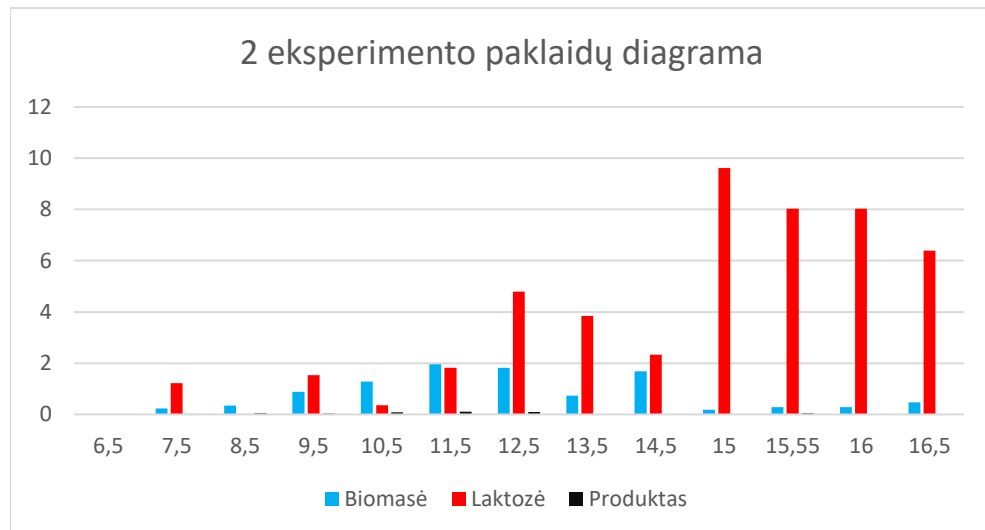
29 pav. Modeliuotų 1 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis, parametrus identifiкуavus Chemotaxis algoritmu

Atlikus parametru identifikaciją ir palyginus dviejų metodų identifikuojamų parametru tikslumą, programinis jutiklis buvo tstuojamas su antro eksperimento duomenimis pagal parametrus, gautus Simplex algoritmu. Vidutinės absoliutinės paklaidos tarp 2 eksperimento matavimo duomenų ir programinio jutiklio apskaičiuotų komponentų koncentracijų gautos : biomasės koncentracija $X = 0,81$ g/L, laktozė koncentracija $L = 2,635$ g/L, produkto koncentracija $P = 0,029$ g/L. Komponentų koncentracijų kitimo per laiką grafikai pateikti 30 paveiksle. Kol biomasės ir produkto koncentracijos nukrypsta minimaliai nuo netiesioginių eksperimento duomenų, laktozės koncentracija nuo 14,5 valandos vertinama su nemaža paklaida.

Paklaidų kitimo per laiką grafikas pateiktas 31 paveiksle. Didžiausios paklaidos stebimos laktozės koncentracijos įvertinime, nes 1 ir 2 eksperimentas yra gana skirtingi (pagal 14 ir 16 paveikslius stebima, kad 1 eksperimente bioreaktoriui laktozės srautu pamaitinamas yra 1 kartą, o 2 eksperimente – 2 kartus) ir pagal pirmame eksperimente identifikuotus parametrus laktozė nėra apskaičiuojama pakankamai tiksliai. Tai susidaro kai pagal pirmojo eksperimento identifikuotus parametrus skaičiuodamas laktozės koncentraciją programinis jutiklis vėluoja pagal tiesioginius duomenis įvertinti antrojo eksperimento laktozės koncentraciją. Nuo laktozės koncentracijos kreivės priklauso kaip tiksliai bus apskaičiuojama produkto koncentracija, todėl tiksliau apskaičiavus laktozės koncentracijos kreivę galima daryti prielaidą, kad produkto koncentracijos paklaidos sumažėtų.



30 pav. Modeliuotų 2 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis, parametrus identifikavus Simplex algoritmu



31 pav. 2 eksperimento komponentų koncentracijų absoliutinių paklaidų kitimo per laiką diagrama su 1 eksperimento Simplex metodu identifikuotais parametrais

2.6. Parametrų identifikavimas pagal 1 ir 2 eksperimentus

Identifikuojant parametrus iš 1 ir 2 eksperimentų duomenų, abiejų eksperimentų duomenys buvo paeiliui naudojami matematiniam modeliui. Algoritmo metu buvo lyginami 1 programinio jutiklio apskaičiuotos biomasės, laktozės, produkto koncentracijos su 1 eksperimento matavimų duomenimis, 2 programinio jutiklio koncentracijos – su 2 eksperimento matavimų duomenimis. Jų paklaida buvo sumuojama ir ieškomas mažiausias kvadratinis nuokrypis tarp programinio jutiklio ir eksperimentų matavimų rezultatų, kuris indikuoja apie rastus parametrus, su kuriais programiniai jutikliai veiks su mažiausiomis vidutinėmis absoliutinėmis paklaidomis. Programoje įvesti papildomi 3 svoriniai koeficientai Wgh4, Wgh5, Wgh6, atitinkamai 2 eksperimento biomasės, laktozės ir produkto koncentracijų paklaidų nustatymui.

Pirmuoju bandymu, Wgh1, Wgh2, Wgh4, Wgh5 svoriniai koeficientai parinkti lygūs 1, tam, kad parametrų vertės maksimaliai reaguotų į biomasės ir laktozės eksperimentus tiek pirmam tiek antram eksperimentams. Identifikavus parametrus ir su jais paleidus matematinį proceso modelį buvo gautos vidutinės absoliutinės paklaidos : biomasės X, 1 eksp. – 0,491 g/L, biomasės X, 2 eksp. – 0,8 g/L, laktozės L, 1 eksp. - 2,561 g/L, laktozės L, 2 eksp. – 1,537 g/L.

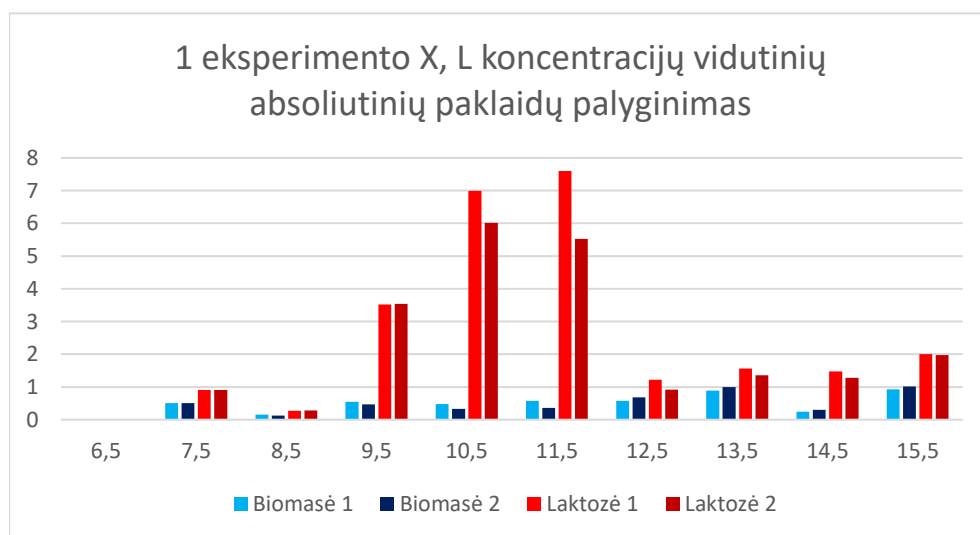
Sekančiame etape buvo derinami Wgh svoriniai koeficientai tikslesniems rezultatams gauti. Geriausi rezultatai buvo gauti parinkus tokius svorinius koeficientus : Wgh1 = 0,65, Wgh4 = 1 – biomasės koncentracijos tikslumui, Wgh2 = 1, Wgh5 = 0,55 – laktozės koncentracijos tikslumui. Produkto koncentracijos paklaidų svoriniai koeficientai Wgh3 ir Wgh6 palikti lygūs 0. Pakartotinai identifikuojant parametrus ir su jais paleidus programinį jutiklį buvo gautos vidutinės absoliutinės paklaidos : biomasės X, 1 eksp. – 0,509 g/L, biomasės X, 2 eksp. – 0,67 g/L, laktozės L, 1 eksp. – 2,18 g/L, laktozės L, 2 eksp. – 1,54 g/L.

5 lentelė. Simplex algoritmu identifikuoti parametrai apskaičiuojant X, L koncentracijas su 1, 2 eksperimentų duomenimis

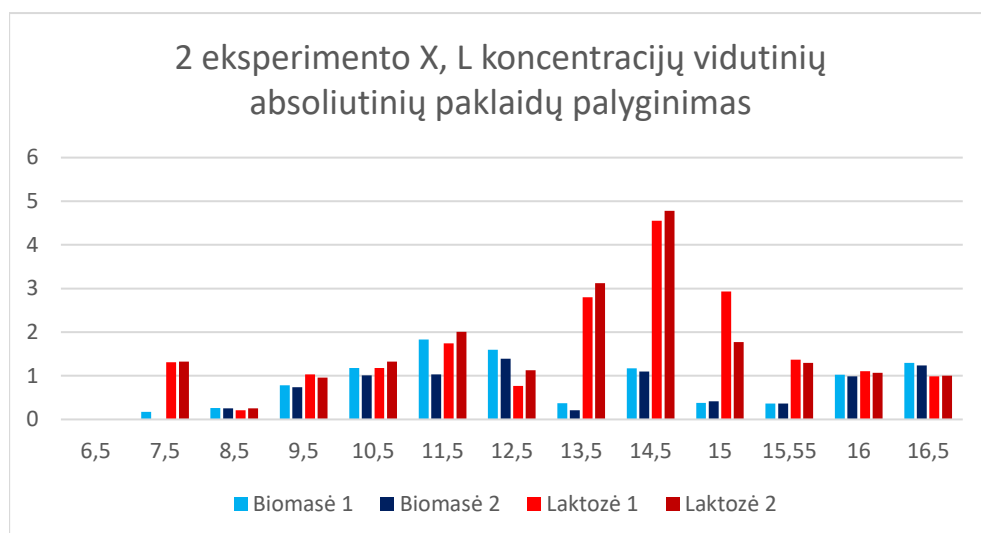
Parametras	Identifikuoti parametrai pirmuoju bandymu	Identifikuoti parametrai antruoju bandymu
q_{Lmax}	2,36152 [g g ⁻¹ h ⁻¹]	2,75023 [g g ⁻¹ h ⁻¹]
K_{sL}	0,578182 [g kg ⁻¹]	1,16652 [g kg ⁻¹]
K_{iL}	19,2017 [g kg ⁻¹]	15,6857 [g kg ⁻¹]
Y_{om}	0,204235 [g g ⁻¹ h ⁻¹]	0,198068 [g g ⁻¹ h ⁻¹]
Y_{orX}	0,62333 [g g ⁻¹]	0,654998 [g g ⁻¹]

32 paveiksle pateiktos absoliutinės paklaidos 1 eksperimentui. Biomasė 1, laktozė 1 – absoliučiosios paklaidos po pradinės parametų identifikacijos. Biomasė 2, laktozė 2 – absoliučiosios paklaidos po pakartotinės parametų identifikacijos. Po pakartotinio identifikavimo nuo 12,5 valandos biomasės koncentracijoje atsirado šiek tiek didesnės paklaidos, nes svorinis paklaidos įvertinimo koeficientas buvo sumažintas. Tas matoma ir vidutinė biomasės koncentracijos paklaidoje. Laktozės koncentracijos paklaidos viso eksperimento metu stebimos mažesnės, negu rezultatuose po pirminio parametų identifikavimo.

33 paveiksle pateiktos absoliutinės paklaidos 2 eksperimentui. Biomasė 1, laktozė 1 – absoliučiosios paklaidos po pradinės parametų identifikacijos. Biomasė 2, laktozė 2 – absoliučiosios paklaidos po pakartotinės parametų identifikacijos. Viso eksperimento metu po pakartotinės parametų identifikacijos biomasės ir laktozės koncentracijos buvo vertinamos tokiu pačiu arba didesniu tikslumu.



32 pav. Programinio jutiklio vidutinių absoliutinių paklaidų palyginimas po pradinio ir pakartotinio parametų identifikavimo 1 eksperimentui su 1, 2 eksperimentų duomenimis



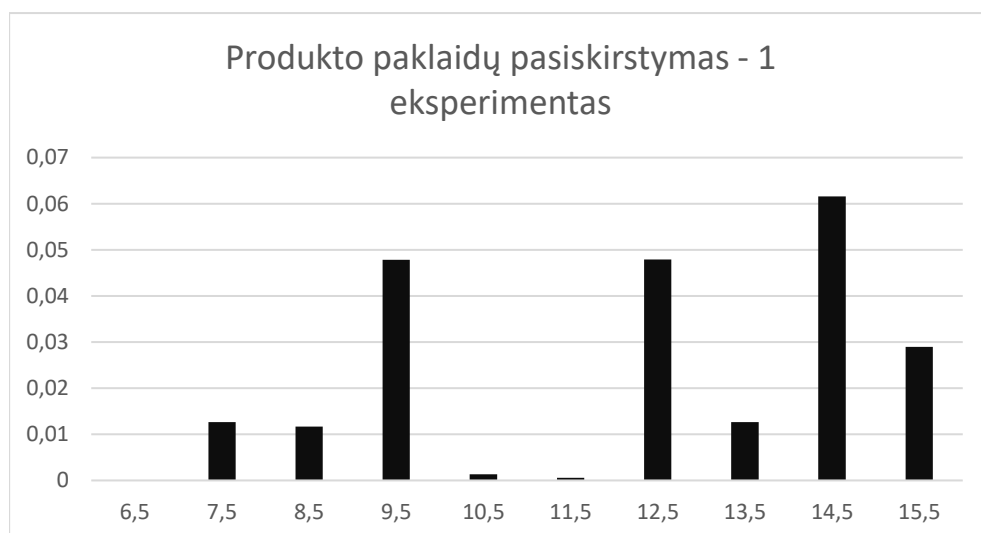
33 pav. Programinio jutiklio vidutinių absoliutinių paklaidų palyginimas po pradinio ir pakartotinio parametrų identifikavimo 2 eksperimentui su 1, 2 eksperimentų duomenimis

Sekančiame etape buvo derinami produkto koncentracijos parametrai. Programiniame jutiklyje deklaruoti nauji biomasės ir laktozės koncentracijų vertinimo parametrai pagal 5 lentelę. Svoriniai koeficientai W_{gh3} ir W_{gh6} buvo prilyginti 1, kiti svoriniai W_{gh} koeficientai prilyginti 0. Identifikavus parametrus gautas kvadratinis nuokrypis tarp programinio jutiklio produkto koncentracijos ir eksperimentų netiesioginių duomenų gautas 0,23777, pirmajame eksperimente gauta 0,022 g/L vidutinė absoliutinė produkto paklaida, antrajame – 0,024 g/L. Gauti identifikuoti parametrai atvaizduoti 6 lentelėje.

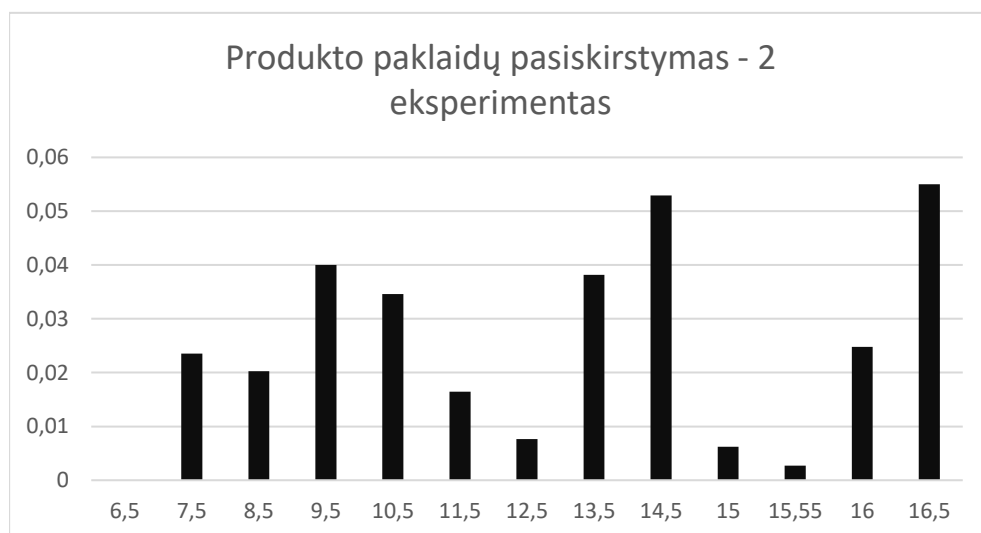
6 lentelė. Simplex algoritmu identifikuoti parametrai apskaičiuojant P koncentraciją su 1, 2 eksperimentų duomenimis

Parametras	Identifikuoti parametrai
Y_{LP}	1,76119 [g g ⁻¹]
K_{sP}	0,000872245 [g kg ⁻¹]
$K_{p\mu}$	1,17362 [h ⁻¹]
Produkto biosintezės reakcijos greičio lygties (13) penktos eilės laipsnis	0,23777

Produkto koncentracijos paklaidų išsidėstymas pagal laiką pavaizduotas 34 ir 35 paveiksluose, atitinkamai 1 ir 2 eksperimentams. Pagal gautus rezultatus matoma, kad paklaidos pasiskirstę netolygiai, viduryje eksperimentų absoliutinės paklaidos sumažėja iki minimalių, eksperimentų pabaigose absoliutinės paklaidos vėl pakyla.

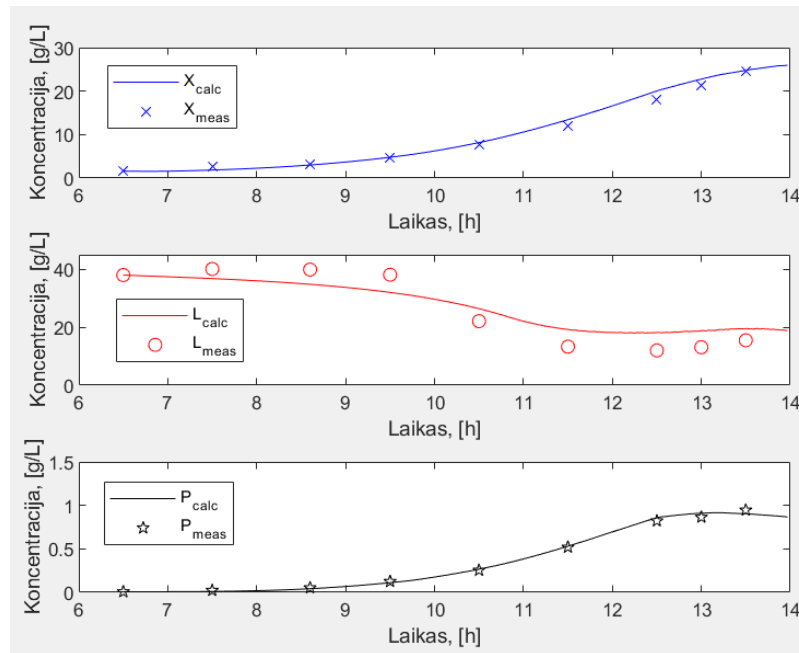


34 pav. Produkto koncentracijos absoliutinių paklaidų pasiskirstymas laike pirmajam eksperimentui, su 1 ir 2 eksperimentų identifikuotais parametrais



35 pav. Produkto koncentracijos absoliutinių paklaidų pasiskirstymas laike antrajam eksperimentui, su 1 ir 2 eksperimentų identifikuotais parametrais

Atlikus parametrų identifikaciją dviem eksperimentams, programinis jutiklis buvo testuojamas su trečiojo eksperimento duomenimis. Vidutinės absoliutinės paklaidos tarp programinio jutiklio apskaičiuotų komponentų koncentracijų ir 3 eksperimento matavimų duomenų gautos : biomasės koncentracija $X = 0,745$ g/L, laktozė koncentracija $L = 4,339$ g/L, produkto koncentracija $P = 0,025$ g/L. Komponentų koncentracijų kitimo per laiką grafikai pateikti 36 paveiksle. Grafikuose stebima, kad programinis jutiklis produkto koncentracijos kreivę įvertina beveik be nukrypimų, biomasės koncentraciją įvertina tiksliai iki 10,5 valandos, vėliau biomasės koncentracija yra apskaičiuojama per didelė. Laktozės koncentraciją programinis jutiklis įvertina mažiausiu tikslumu, yra atsiradusios didelės paklaidos, nes pirmas ir antras eksperimentai yra labai skirtingi ir pagal juos apmokyti, apskaičiuoti parametrai nėra tinkami 3 eksperimentui.



36 pav. Modeliuotų 3 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis, parametrus identifikavus Simplex algoritmu

2.7. Parametrų identifikavimas pagal 1, 2 ir 3 eksperimentus

Identifikuojant parametrus iš trijų eksperimentų duomenų, visų eksperimentų duomenys paeiliui naudojami matematiniam modeliui. Algoritmo metu lyginami atitinkamo eksperimento apskaičiuotos komponentų koncentracijos su matavimų duomenimis. Visų eksperimentų paklaidos buvo sumuojamos ir ieškomas mažiausias kvadratinis nuokrypis tarp programinio jutiklio rezultatų ir eksperimentų matavimų duomenų. Programoje įvesti papildomi 3 svoriniai koeficientai Wgh7, Wgh8, Wgh9, atitinkamai 2 eksperimento biomasės, laktozės ir produkto koncentracijų paklaidų nustatymui.

Parametrų identifikavimo metu svoriniai koeficientai, biomasės ir laktozės nuokrypio įtakai įvertinti parametrų identifikavime, prilyginti 1, naudojamas Simplex parametrų identifikavimo algoritmas. Pastebėta, kad 1 ir 3 eksperimentuose laktozės koncentracijos absoliutinės paklaidos stipriai išauga, 3 eksperimente gaunamos didžiausios biomasės koncentracijos absoliutinės paklaidos, lyginant su 1 ir 2 eksperimentais. Mažiausios absoliutinės paklaidos gautos kai svoriniai koeficientai buvo parinkti : : Wgh1 = 0,7, Wgh4 = 0,7, Wgh7 = 1 – biomasės koncentracijos tikslumui, Wgh2 = 0,95, Wgh5 = 0,7, Wgh8 = 1 – laktozės koncentracijos tikslumui. Svoriniai koeficientai atspindi didžiausias gautas paklaidas pradiniam parametrų identifikavime – kuo didesnis svorinis koeficientas, tuo didesnė paklaida buvo gauta pradiniam parametrų identifikavime. Gautos vidutinės absoliutinės X ir L koncentracijų paklaidos kiekviename eksperimente pateiktos 7 lentelėje. Atlikus parametrų identifikaciją gautas kvadratinis nuokrypis, lygus 30,5734. Didžiausios vidutinės absoliutinės paklaidos stebimos programiniui jutikliui apskaičiuojant laktozės koncentraciją proceso metu.

7 lentelė. Vidutinės absoliutinės paklaidos X, L koncentracijoms, 1, 2, 3 eksperimentams, jų parametrus identifikavus Simplex algoritmu

Komponentas	Eksperimentas	Vidutinė absoliutinė paklaida
X - biomasė	1 eksperimentas	0,576 g/L
	2 eksperimentas	0,723 g/L
	3 eksperimentas	0,625 g/L
L - Laktozė	1 eksperimentas	1,998 g/L
	2 eksperimentas	1,469 g/L
	3 eksperimentas	3,336 g/L

Sekančiame etape Simplex algoritmas buvo naudojamas produkto koncentracijos parametru identifikavimui. Biomasės ir laktozės koncentracijų svoriniai koeficientai buvo prilyginti 0, o produkto koncentracijos svoriniai koeficientai prilyginti 1. Po parametru identifikavimo apskaičiuotas kvadratinis nuokrypis, lygus 0,355836. Vidutinės absoliutinės produkto koncentracijos paklaidos pateiktos 8 lentelėje.

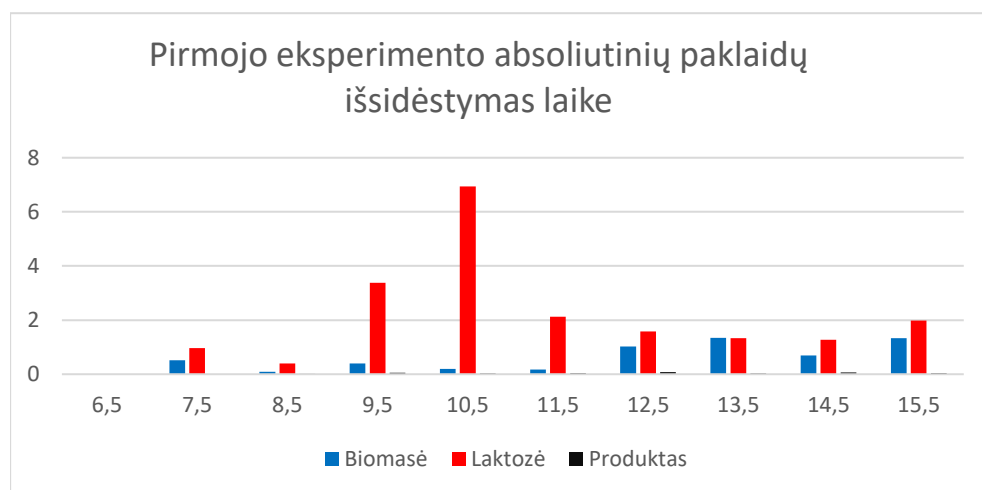
8 lentelė. Vidutinės absoliutinės paklaidos P koncentracijai, 1, 2, 3 eksperimentams, jų parametrus identifikavus Simplex algoritmu

Komponentas	Eksperimentas	Vidutinė absoliutinė paklaida
P - Produktas	1 eksperimentas	0,035 g/L
	2 eksperimentas	0,029 g/L
	3 eksperimentas	0,022 g/L

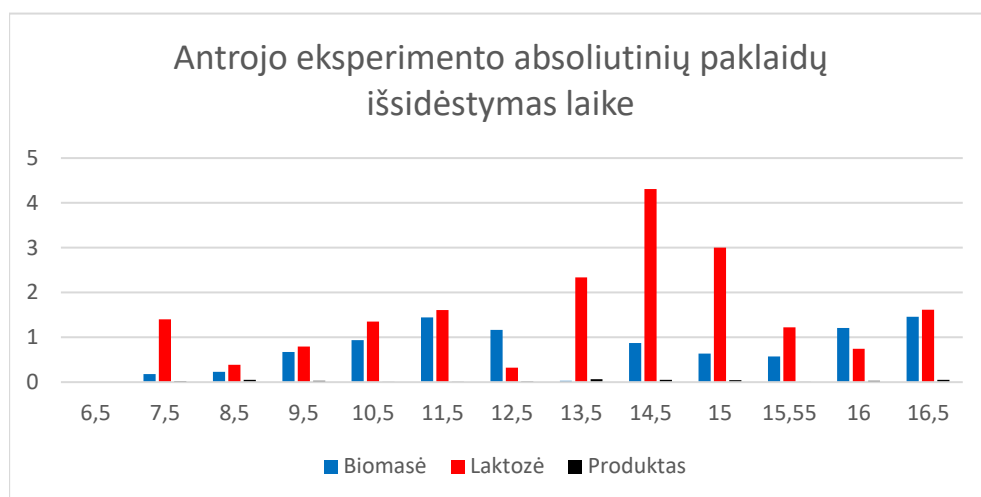
9 lentelėje pateiktos programinio jutiklio parametru identifikacijos metu gautos parametru vertės. 37 paveiksle pavaizduotos absoliutinės paklaidos, gautos 1 eksperimente su identifikuotais parametrais pagal 90 lentelę. Stebimi didžiausi nuokrypiai nuo 9,5 iki 11,5 valandos, laktozės koncentracijoje, kai absoliutinė paklaida viršija 2 g/L. Biomasės koncentracija programiniu jutikliu vertinama mažesniu tikslumu nuo 12,5 proceso valandos. 38 paveiksle pavaizduotos absoliutinės paklaidos, gautos 2 eksperimentui. Didžiausi nukrypimai vėlgi stebimi laktozės koncentracijos įvertinime tarp 13,5 iki 15 valandos, kai absoliučioji paklaida viršija 2 g/L. Biomasės koncentracijos paklaidos yra didesnės nei pirmame eksperimente. 39 paveikslas atvaizduoja 3 eksperimento absoliutines paklaidas. Laktozės koncentracijos paklaidos šiame eksperimente yra didžiausios, lyginant su 1 ir 2 eksperimentais. Stebint šiuos rezultatus galima daryti išvadą, kad laktozės koncentracija programiniu jutikliu yra vertinama mažiausiu tikslumu.

9 lentelė. Simplex algoritmu identifikuoti parametrai apskaičiuojant X, L, P koncentracijas su 1, 2 ir 3 eksperimentų duomenimis

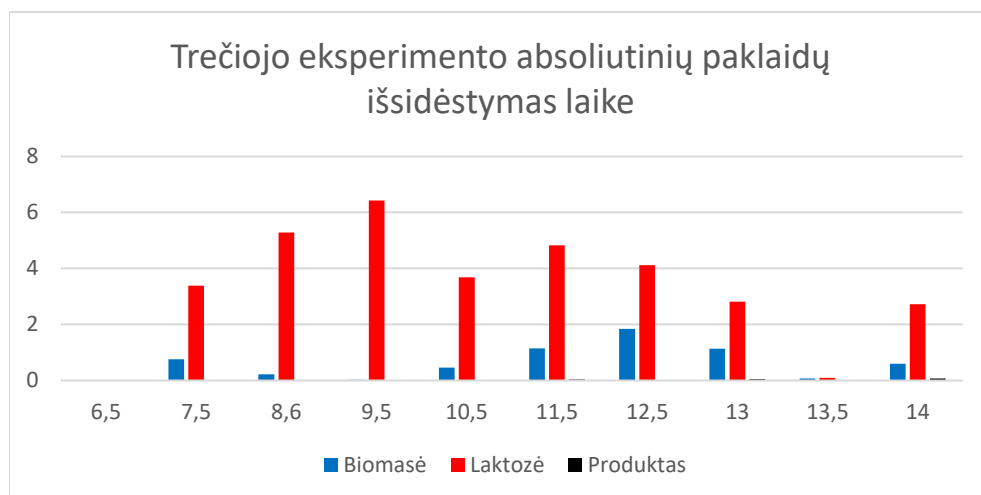
Parametras	Identifikuoti parametrai
q_{Lmax}	2,2912 [g g ⁻¹ h ⁻¹]
K_{sL}	0,898667 [g kg ⁻¹]
K_{iL}	21,4709 [g kg ⁻¹]
Y_{om}	0,198845 [g g ⁻¹ h ⁻¹]
Y_{orX}	0,669761 [g g ⁻¹]
Y_{LP}	33,855 [g g ⁻¹]
K_{sP}	1,17436e ⁻⁶ [g kg ⁻¹]
$K_{p\mu}$	0,421628 [h ⁻¹]
Produkto biozintezės reakcijos greičio lygties (13) penktos eilės laipsnis	4,50088



37 pav. 1 eksperimento absoliutinės paklaidos, gautos identifikuotus parametrus su 1, 2 ir 3 eksperimentų duomenimis Simplex algoritmu

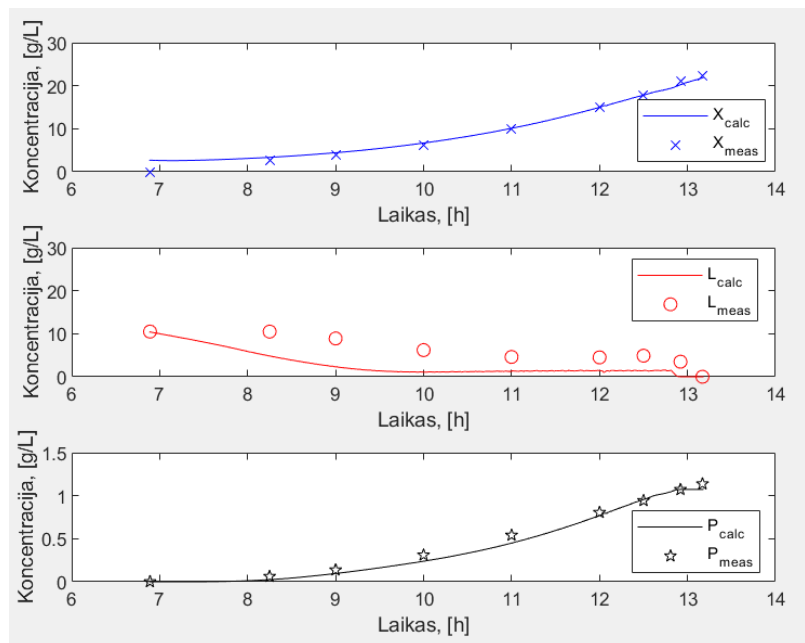


38 pav. 2 eksperimento absoliutinės paklaidos, gautos identifikavus parametrus su 1, 2 ir 3 eksperimentų duomenimis Simplex algoritmu



39 pav. 3 eksperimento absoliutinės paklaidos, gautos identifikavus parametrus su 1, 2 ir 3 eksperimentų duomenimis Simplex algoritmu

Identifikavus programinio jutiklio parametrus ir palyginus rezultatus, programinis jutiklis buvo testuojamas su 4 eksperimento duomenimis. Gautos vidutinės absoliutinės paklaidos : biomasės koncentracijos $X - 0,35 \text{ g/L}$, laktozės koncentracijos $L - 3,41 \text{ g/L}$, produkto koncentracijos $P - 0,029 \text{ g/L}$. Eksperimento komponentų koncentracijų kitimo kreivė pavaizduota 40 paveiksle. Pagal ją matoma, kad laktozės koncentracija eksperimento metu programiniu jutikliu buvo vertinama labai netiksliai. Produkto ir biomasės koncentracijų kreivės beveik atitiko netiesioginius eksperimento duomenis.



40 pav. Modeliuotų 4 eksperimento koncentracijų kitimo per laiką grafikas ir palyginimas su matavimų duomenimis, parametrus identifikavus Simplex algoritmu

3. Tyrimo rezultatai

Periodinio su pamaitinimu E.coli proceso modelio parametrai buvo identifikuojami 3 kartus, pritaikant juos skirtingiems eksperimentams : 1 eksperimento, 1 ir 2 eksperimentų, 1 ir 2 ir 3 eksperimentų. Identifikuotų parametų lentelė po kiekvieno parametų identifikavimo pateikta 10 lentelėje. Parametrai, su kuriais veiks programinis jutiklis, yra priimami gauti paskutinio identifikavimo metu. 41 paveiksle matomas kiekvieno parametro pokytis nuo pradinės vertės.

Y_{om} ir Y_{orX} parametrai, naudojami biomasės koncentracijos nustatymui pakito minimaliai. Programinis jutiklis biomasės koncentraciją pakankamai tiksliai visuose eksperimentuose įvertindavo ir su pradinėmis šių parametų vertėmis. K_{sL} , q_{Lmax} parametrai, naudojami laktozės koncentracijos nustatymui pakito minimaliai. Didžiausią įtaką laktozės koncentracijos nustatymui turėjo parametras K_{iL} – laktozės slopinimo vartojimo konstanta – kuri sumažėjo 51,5 %. Produkto koncentracijos nustatymui didžiausią įtaką turėjo parametrai ; Y_{LP} – išeiga laktozė / produktas – kuris padidėjo 59 % ir K_{sP} – produkto gamybos prisotinimo konstanta – kuris sumažėjo 99,9 %, beveik pasiekdamas 0 vertę.

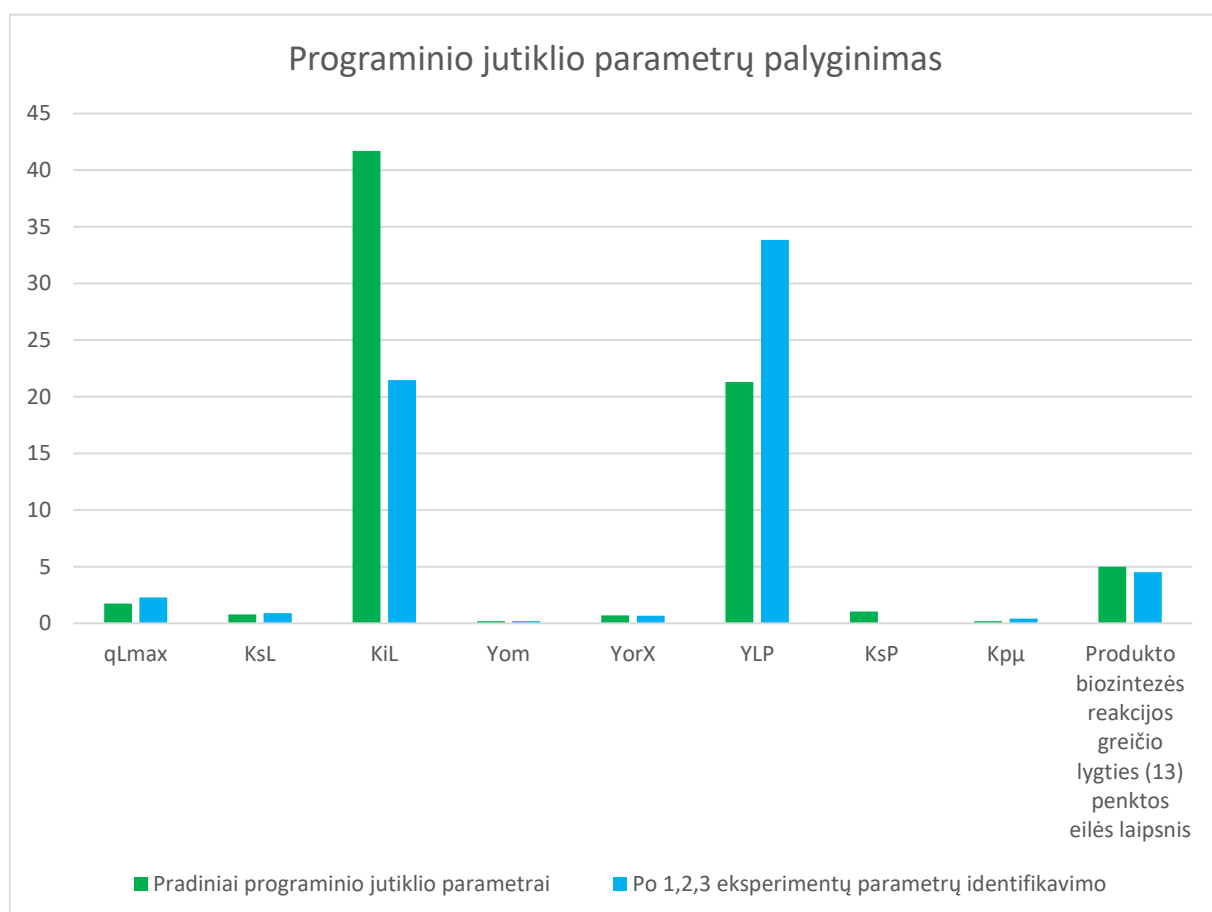
10 lentelė. Programinio jutiklio identifikuotų parametų vertės kiekviename etape

Parametras	Pradiniai programinio jutiklio parametrai	Po 1 eksperimento parametų identifikavimo	Po 1,2 eksperimentų parametų identifikavimo	Po 1,2,3 eksperimentų parametų identifikavimo
q_{Lmax}	1,74 [g g ⁻¹ h ⁻¹]	2,80352 [g g ⁻¹ h ⁻¹]	2,75023 [g g ⁻¹ h ⁻¹]	2,2912 [g g ⁻¹ h ⁻¹]
K_{sL}	0,77 [g kg ⁻¹]	1,13562 [g kg ⁻¹]	1,16652 [g kg ⁻¹]	0,898667 [g kg ⁻¹]
K_{iL}	41,7 [g kg ⁻¹]	39,5324 [g kg ⁻¹]	15,6857 [g kg ⁻¹]	21,4709 [g kg ⁻¹]
Y_{om}	0,2 [g g ⁻¹ h ⁻¹]	0,18799 [g g ⁻¹ h ⁻¹]	0,19807 [g g ⁻¹ h ⁻¹]	0,19885 [g g ⁻¹ h ⁻¹]
Y_{orX}	0,69 [g g ⁻¹]	0,65166 [g g ⁻¹]	0,654998 [g g ⁻¹]	0,669761 [g g ⁻¹]
Y_{LP}	21,3 [g g ⁻¹]	63,2332 [g g ⁻¹]	1,76119 [g g ⁻¹]	33,855 [g g ⁻¹]
K_{sP}	1,03 [g kg ⁻¹]	0,018613 [g kg ⁻¹]	0,000872 [g kg ⁻¹]	1,17e-6 [g kg ⁻¹]
$K_{p\mu}$	0,2 [h ⁻¹]	0,31456 [h ⁻¹]	1,17362 [h ⁻¹]	0,421628 [h ⁻¹]
Produkto biozintezės reakcijos greičio lygties (13) penktos eilės laipsnis	5	5,87858	4,23580	4,50088

Programinio jutiklio, tyrimo metu gautos vidutinės absoliutinės paklaidos, pateiktos 11 lentelėje. Programiniame jutiklyje bus naudojami identifikuoti parametrai pagal 1, 2, 3 eksperimentus. Lyginant programinio jutiklio tikslumą tiriamojo darbo pradžioje ir pabaigoje, matoma, kad pasiektas didesnis komponentų koncentracijų įvertinimo tikslumas, sumažėjo vidutinės absoliutinės paklaidos.

11 lentelė. Tiriamojo darbo metu gautos programinio jutiklio paklaidos prie skirtingų parametru verčių

Ekspertas	Pradiniai parametrai, g/L	Identifikavimas pagal 1 eksp., g/L	Identifikavimas pagal 1, 2 eksp., g/L	Identifikavimas pagal 1, 2, 3 eksp., g/L
1 eksp. - X	0,69	0,382	0,509	0,576
1 eksp. - L	2,95	0,614	2,18	1,998
1 eksp. - P	0,065	0,012	0,022	0,035
2 eksp. - X	0,75	0,81	0,67	0,723
2 eksp. - L	2,43	2,635	1,54	1,469
2 eksp. - P	0,027	0,029	0,024	0,029
3 eksp. - X	0,52		0,745	0,625
3 eksp. - L	3,38		4,339	3,336
3 eksp. - P	0,044		0,025	0,022
4 eksp. - X	0,56			0,35
4 eksp. - L	5,24			3,41
4 eksp. - P	0,38			0,029



41 pav. Programinio jutiklio identifikuotu parametru palyginimas skirtingais identifikavimo etapais

Išvados

1. Sukurtas programinis jutiklis, naudojantis matematinį biotechnologinio proceso modelį, proceso komponentų koncentracijų nustatymui. Programinis jutiklis buvo testuotas su 4 eksperimentų duomenimis. Biomasės koncentracijos X paklaida su pradiniais parametrais gauta 0,63 g/L, laktozės koncentracijos L paklaida – 3,5 g/L, produkto P paklaida – 0,129 g/L.
2. Proceso matematinio modelio parametrąms pritaikytas parametų identifikavimo algoritmas. Tyrimo pradžioje buvo išbandomi algoritmai : Simplex, Chemotaxis. Tikslesni rezultatai gauti su Simplex algoritmu. Tolimesnio tyrimo metu naudotas Simplex parametų identifikavimo algoritmas.
3. Programinis jutiklis buvo apmokomas apskaičiuoti komponentų koncentracijas pagal tiesioginius periodinio su pamaitinimu E.coli duomenis : deguonies, anglies dioksido koncentracijas, aeravimo srautą, kultūros svorį, sudozuoto substrato svorį. Tyrimo metu pritaikyta parametų identifikacija pagal 1 eksperimento duomenis, toliau – pagal 1,2 eksperimentų, pabaigoje – pagal 1, 2, 3 eksperimentų duomenis. Programinis jutiklis identifikavus parametrus yra pritaikytas dirbti pagal 3 eksperimentus.
4. Sukurtas programinis jutiklis biomasės koncentraciją įvertina su 0,569 g/L paklaida, laktozės – su 2,55 g/L paklaida, produkto – su 0,0287 g/L paklaida. Apmokinus programinį jutiklį dirbti pagal eksperimentinius duomenis, buvo gauti rezultatai su mažesnėmis absoliutinėmis paklaidomis.
5. Tyrimo metu išsiaiškinta, kad didžiausią įtaką turintis parametras laktozės koncentracijai įvertinti yra K_L – laktozės slopinimo vartojimo konstanta, o produkto koncentracijai - Y_{LP} – laktozės / produkto išėiga ir K_{SP} – produkto gamybos prisotinimo konstanta.

Literatūros sąrašas

1. Lyubenova V., Kostov G., Denkova-Kostova R. (2021) *Model-Based Monitoring of Biotechnological Processes – A Review* [Žiūrėta 2023-05-16] Prieiga per internetą : <https://doi.org/10.3390/pr9060908>
2. Lyubenova V., Ignatova M., Roeva O., Junne S., Neubauer P. (2020) *Adaptive Monitoring of Biotechnological Processes Kinetics* [Žiūrėta 2024-05-09] Prieiga per internetą : <https://doi.org/10.3390/pr8101307>
3. Galvanauskas V., Simutis R., Levišauskas D., Urniežius R. (2019) *Practical solutions for Specific Growth Rate Control Systems in Industrial Bioreactors* [Žiūrėta 2023-05-16] Prieiga per internetą : <https://doi.org/10.3390/pr7100693>
4. Donovan R. S., Robinson C. W., Glick B. R. (1996) *Review : Optimizing inducer and culture conditions for expression of foreign proteins under control of the lac promoter* [Žiūrėta 2023-05-16] Prieiga per internetą : <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01569997>
5. Ma F., Ji C., Wang J., Sun W., Palazoglu A. (2024) *Soft Sensor Modeling Method Considering Higher-Order Moments of Predictions Residuals* [Žiūrėta 2024-05-11] Prieiga per internetą : <https://doi.org/10.3390/pr12040676>
6. Malhotra S., Pham D. S., Lau M. P. H., Nguyen A. H., Cao H. (2022) *A Low-Cost, 3D-Printed Biosensor for Rapid Detection of Escherichia coli* [Žiūrėta 2024-05-09] Prieiga per internetą : <https://doi.org/10.3390/s22062382>
7. Nicoletti M., Lakhmi C. (2009) *Computational Intelligence Techniques for Bioprocess Modelling, Supervision and Control* [Žiūrėta 2023-05-16] Prieiga per internetą : <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-642-01888-6>
8. Bogaerts P., Wouwer A. V. (2003) *Software sensors for bioprocesses* [Žiūrėta 2023-05-16] Prieiga per internetą : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0019057807600056>
9. Paulsson D., Gustavsson R., Mandenius C. F. (2014) *A Soft Sensor for Bioprocess Control Based on Sequential Filtering of Metabolic Heat Signals* [Žiūrėta 2024-05-09] Prieiga per internetą : <https://doi.org/10.3390/s141017864>
10. Zhu X., Rehman K., Wang B., Shahzad M. (2020) *Modern Soft-Sensing Modeling Methods for Fermentation Processes* [Žiūrėta 2023-05-18] Prieiga per internetą : <https://www.mdpi.com/1424-8220/20/6/1771>
11. Jiang Y., Yin S., Dong J., Kaynak O. (2023) *A Review on Soft Sensors for Monitoring, Control and Optimization of Industrial Processes* [Žiūrėta 2023-05-20] Prieiga per internetą : <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/9235582/citations#citations>
12. Kadlec P., Gabrys B., Strandt S. (2009) *Data-driven Soft Sensors in the process industry* [Žiūrėta 2023-05-18] Prieiga per internetą : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0098135409000076>
13. Gonzaga J.C.B., Meleiro L.A.C., Kiang C., Filho R.M. (2009) *ANN-based soft-sensor for real-time process monitoring and control of an industrial polymerization process* [Žiūrėta 2023-05-18] Prieiga per internetą : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0098135408001142>
14. Yan. W, Tang D., Lin Y. (2016) *A data-driven soft sensor modeling method based on deep learning and its application* [Žiūrėta 2023-05-20] Prieiga per internetą : <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/7723870>
15. Garcia-Manas F., Guzman J.L., Berengual M., Acien F.G. (2019) *Biomass estimation of an industrial raceway photobioreactor using an extended Kalman filter and dynamic model for microalgae production* [Žiūrėta 2023-05-16] Prieiga per internetą : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2211926418304922>

16. Stelzer I. V., Kager J., Herwig C. (2017) *Comparison of Particle Filter and Extended Kalman Filter Algorithms for Monitoring of Bioprocesses* [Žiūrėta 2023-05-16] Prieiga per internetą : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B978044463965350249X>
17. Narayanan H., Behle L., Luna M. F., Sokolov M., Guillen-Gosalbez G., Morbidelli M., Butte A. (2020) *Hybrid-EKF: Hybrid model coupled with extended Kalman filter for real-time monitoring and control of mammalian cell culture* [Žiūrėta 2023-05-17] Prieiga per internetą : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/bit.27437>
18. Vaitkus V., Brazauskas K., Repšytė J. (2020) *Soft-sensors based on Black-box Models for Bioreactors Monitoring and State Estimation* [Žiūrėta 2023-05-17] Prieiga per internetą : https://www.researchgate.net/publication/342842019_Soft-sensors_based_on_Black-box_Models_for_Bioreactors_Monitoring_and_State_Estimation
19. Veloso A. C. A., Rocha I., E. C. Ferreira (2009) *Monitoring of fed-batch E. coli fermentations with software sensors* [Žiūrėta 2023-05-17] Prieiga per internetą : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18726617/>
20. Simutis R., Galvanauskas V., Levišauskas D., Repšytė J., Vaitkus V. (2013) *Comparative Study of Intelligent Soft-Sensors for Bioprocess State Estimation* [Žiūrėta 2023-05-28] Prieiga per internetą : https://www.researchgate.net/publication/275595192_Comparative_Study_of_Intelligent_Soft-Sensors_for_Bioprocess_State_Estimation
21. Iglesias Jr. C. F., Xu X., Mehta V., Akassou M., Venereo-Sanchez A., Belacel N., Kamen A., Bolic M. (2022) *Monitoring the Recombinant Adeno-Associated Virus Production using Extended Kalman Filter* [Žiūrėta 2024-05-11] Prieiga per internetą : <https://doi.org/10.3390/pr10112180>
22. Simutis R., Galvanauskas V., Levišauskas D., Repšytė J., Grincas V. (2014) *State Estimation of a Biotechnological Process Using Extended Kalman Filter and Particle Filter* [Žiūrėta 2023-05-28] Prieiga per internetą : https://www.researchgate.net/publication/277075688_State_Estimation_of_a_Biotechnological_Process_Using_Extended_Kalman_Filter_and_Particle_Filter
23. Meng Y., Zhang X., Zhang G., Zhang X., Duan Y. (2023) *Sparse Bayesian Relevance Vector Machine Identification Modeling and Its Application to Ship Maneuvering Motion Prediction* [Žiūrėta 2024-05-11] Prieiga per internetą : <https://doi.org/10.3390/jmse11081572>
24. H. Zhang (2009) *Software Sensors and Their Applications in Bioprocess* [Žiūrėta 2023-05-28] Prieiga per internetą : https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-01888-6_2
25. Medl M., Rajamanickam V., Striedner G., Newton J. (2023) *Development and Validation of an Artificial Neural-Network-Based Optical Density Soft Sensor for a High-Throughput Fermentation System* [Žiūrėta 2024-05-09] Prieiga per internetą : <https://doi.org/10.3390/pr11010297>
26. Simutis R., Galvanauskas V., Levišauskas D., Repšytė J. (2014) *Bioprocess Optimization Based on Relevance Vector Regression Models and Evolutionary Programming Technique* [Žiūrėta 2023-05-28] Prieiga per internetą : https://www.researchgate.net/publication/275353284_Bioprocess_Optimization_Based_On_Relevance_Vector_Regression_Models_and_Evolutionary_Programming_Technique
27. Elfring J., Torta E., Molengart R. (2021) *Particle Filters : A Hands-On Tutorial* [Žiūrėta 2024-05-11] Prieiga per internetą : <https://doi.org/10.3390/s21020438>
28. Naloufi M., Lucas F. S., Souihi S., Servais P., Janne A., Matos De Abreu T., W. (2021) *Evaluating the Performance of Machine Learning Approaches to Predict the Microbial Quality of Surface Waters and to Optimize the Sampling Effort* [Žiūrėta 2024-05-11] Prieiga per internetą : <https://doi.org/10.3390/w13182457>
29. McAfee M., Kariminejad M., Weinert A., Huq S., Stigter J. D., Tormey D. (2022) *State estimators inf Soft Sensing and Sensor Fusion for Sustainable Manufacturing* [Žiūrėta 2024-05-08] Prieiga per internetą : <https://doi.org/10.3390/su14063635>

30. Herceg A., Andrijić Ž. U., Bolf N. (2019) *Development of soft sensors for isomerization process based on support vector machine regression and dynamic polynomial models* [Žiūrėta 2023-05-28] Prieiga per internetą : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0263876219303260>
31. Galvanauskas V., Volk N., Simutis R., Lubbert A. (2004) *Design of recombinant protein production processes* [Žiūrėta 2023-05-30] Prieiga per internetą : https://www.researchgate.net/publication/232974879_Design_of_recombinant_protein_production_processes
32. Ganjave S. D., Dioda H., Sunder A. V., Madhu S., Wangikar P. P. (2022) *High cell density cultivation of E. coli in shake flasks for the production of recombinant proteins* [Žiūrėta 2023-05-30] Prieiga per internetą : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2215017X21001107>
33. Yang X. S., Karamanoglu M., Luan T., Koziel S. (2014) *Mathematical modelling and parameter optimization of pulsating heat pipes* [Žiūrėta 2024-05-11] Prieiga per internetą : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1877750313001427?via%3Dihub>
34. Kunna M. A., Kadir T. A. A., Remli M. A., Ali N. M., Kohbalan M., Muhammad N. (2020) *An enhanced Segment Particle Swarm Optimization Algorithm for Kinetic Parameters Estimation of the Main Metabolic Model of Escherichia Coli* [Žiūrėta 2024-05-09] Prieiga per internetą : <https://doi.org/10.3390/pr8080963>
35. Zhou L., Zhou W., Yi C. (2023) *A Hybrid STA Based on Nelder-Mead Simplex search and Quadratic Interpolation* [Žiūrėta 2024-05-05] Prieiga per internetą : <https://doi.org/10.3390/electronics12040994>
36. Lee Y., Resiga A., Sung Y., Wern C. (2020) *The Optimization of Machining Parameters for Milling Operations by Using the Nelder-Mead Simplex Method* [Žiūrėta 2024-05-08] Prieiga per internetą : <https://doi.org/10.3390/jmmp4030066>
37. Retamal C., Dewasme L., Hantson A.-L., Vande Wouwer A. (2018) *Parameter estimation of a dynamic model of Escherichia coli fed-batch cultures* [Žiūrėta 2024-05-05] Prieiga per internetą : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X18300950>
38. Flood A., Boillat R., Isanaka S. P., Liou F. (2023) *Searching for Unknown Material Properties for AM Simulations* [Žiūrėta 2024-05-09] Prieiga per internetą : <https://doi.org/10.3390/met13111798>
39. Montague G. A., Ward A. C. (1993) *A Sub-optimal solution to the optimisation of Bioreactors Using the Chemotaxis Algorithm* [Žiūrėta 2024-05-08] Prieiga per internetą : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0032959294850186>
40. Levišauskas D., Galvanauskas V., Simutis R., Lubert A. (1999) *Model based calculation of substrate/inducer feed-rate profiles in fed-batch processes of recombinant protein production* [Žiūrėta 2024-05-05] Prieiga per internetą : <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1008887514011>