



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA, BIOTECNOLOGÍA Y
MATERIALES

**SISTEMA DE CONTROL BASADO EN MACHINE LEARNING PARA
CULTIVO CELULAR EN MODO FED-BATCH CONSIDERANDO DATOS DE
UN MODELO CINÉTICO PARA EL METABOLISMO CENTRAL DE
CARBONO**

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERA CIVIL QUÍMICA

TIFFANY ALEXANDRA MARÍA PÉREZ USHIJIMA

PROFESOR GUÍA:
José Salgado Herrera

MIEMBROS DE LA COMISIÓN:
Ziomara Gerdzten Hakim
Irene Martinez Basterrechea

SANTIAGO DE CHILE
2024

RESUMEN DE LA MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO
DE INGENIERA CIVIL QUÍMICA
POR: TIFFANY ALEXANDRA MARÍA PÉREZ USHIJIMA
FECHA: 2024
PROF. GUÍA: JOSÉ SALGADO HERRERA

SISTEMA DE CONTROL BASADO EN MACHINE LEARNING PARA CULTIVO CELULAR EN MODO FED-BATCH CONSIDERANDO DATOS DE UN MODELO CINÉTICO PARA EL METABOLISMO CENTRAL DE CARBONO

En los últimos años la industria a nivel global ha presentado innovación en términos de la implementación de tecnologías basadas en la Industria 4.0., incluyendo la inteligencia artificial y machine learning. Debido a lo anterior, la industria de bioprocesos ha presentado interés en la automatización de sus procesos, donde el uso de machine learning puede contribuir.

En el presente trabajo se implementan tecnologías basadas en machine learning como Support Vector Machine (SVM) para predecir la tasa de crecimiento de un cultivo celular (μ), para luego implementarla en un sistema de control y obtener la estrategia de alimentación.

Los datos experimentales fueron generados a partir de un modelo para células CHO disponible en literatura con el cual se puede simular diferentes escenarios para entrenar al predictor considerando diferentes intervalos de medición para asemejar la toma de datos experimentales.

Los predictores diseñados presentan curvas y valores similares, obteniendo predicciones con un error cuadrático medio del orden de 10^{-6} y coeficientes de correlación de 0.99 a partir de los conjuntos de datos proporcionados. Presentando mejores resultados para el caso en que se consideran variables como la glucosa, glutamina, lactato y amoníaco.

La utilización de un controlador proporcional permite obtener un buen control del sistema, sin ser necesario emplear otros controladores de la familia PID. Por otro lado, casi todas las estrategias de alimentación obtenidas a partir del predictor, implementadas en el sistema permiten controlar la concentración de glucosa en un rango cercano al set point (11 ± 1 mM) durante las primeras 120 horas del cultivo.

Finalmente, se concluye que es posible desarrollar un predictor basado en una herramienta de machine learning, utilizando datos experimentales con intervalos de tiempo de 4, 12 y 24 horas. Sin embargo, el desempeño del predictor podría verse mejorado utilizando datos con presencia de ruido o con información faltante, como podría ocurrir en un caso real.

Ya estamos aquí, todo está a punto de cambiar. Nos enfrentamos al mañana, mientras decimos adiós al ayer. Se acaba un capítulo, pero la historia no ha hecho más que empezar.

- Hannah Montana

Agradecimientos

Quiero agradecer a mi familia que siempre ha estado dándome el apoyo y la posibilidad de estudiar y desarrollarme como persona. También quiero agradecer a todas las personas que me acompañaron en lo que fue mi vida universitaria ya que sin ustedes nada hubiese sido igual.

Gracias a los cólera, mi grupo de amigos más cercano, por las risas, su apoyo y compañía infinita. A los CSM que me acompañaron desde primer año, cada almuerzo, estudio y salida fue inolvidable por ustedes; y en especial gracias al Tom por todo su apoyo tanto en los estudios como en la vida.

Gracias a mis amigos, amigas, compañeros y compañeras de especialidad, que conocí en modo online y luego presencial haciendo que la experiencia del DIQBM sea excelente. Al PMDC Lab y el profe Salgado por la buena onda, compañía, apoyo y simpatía que caracteriza al laboratorio, donde claramente las risas no faltaron.

Por último, gracias a los profesores que me dieron la oportunidad de ser parte de sus cuerpos docentes y a mis estudiantes por dejarme ser parte de su proceso universitario.

Siempre recordaré esta época con cariño.

Go Wildcats

Tabla de Contenido

1. Introducción	1
1.1. Antecedentes generales	1
1.1.1. Industria 4.0	1
1.1.2. Cultivos celulares	3
1.1.3. Células CHO	4
1.2. Problemática, motivación y descripción del proyecto	4
1.3. Objetivos y limitaciones	5
1.3.1. Objetivo general	5
1.3.2. Objetivos específicos	6
2. Antecedentes de estudio	7
2.1. Cultivos celulares de células mamíferas	7
2.2. Reactores fed-batch	7
2.3. Modelos para cultivos celulares	8
2.4. Técnicas de <i>Machine Learning</i>	10
2.5. Sistemas de control en bioprocesos	12
3. Metodología	14
3.1. Modelo del cultivo celular	14
3.2. Elaboración sets de datos	18
3.3. Elaboración sistema de control clásico	21
3.4. Elaboración Soft Sensor	23
4. Resultados	27
4.1. Modelo del cultivo celular	27
4.2. Elaboración sets de datos	34
4.3. Elaboración sistema de control PID	35
4.4. Elaboración soft sensor	48
4.4.1. Predictores	48
4.4.2. Elaboración sistema de control basado en soft sensor	50
5. Discusiones	65
5.1. Modelo del cultivo celular	65
5.2. Sets de datos	73
5.3. Sistema de control PID	74
5.4. Soft Sensor	81
5.4.1. Predictores	82
5.4.2. Sistema de control basado en Soft Sensor	84

6. Conclusiones	88
Bibliografía	90
Anexos	98
A. Modelo de células CHO elaborado por Craven en operación Batch	98
B. Set de Datos	100
B.1. Cada 4 horas	100
B.2. Cada 12 horas	106
B.3. Cada 24 horas	111
C. Elaboración Soft Sensor	117
C.1. Cada 4 horas:	117
C.2. Cada 24 horas:	118
C.3. Elaboración sistema de control basado en <i>Soft Sensor</i>	120
C.3.1. Cada 4 horas	120
C.3.2. Cada 24 horas	127

Índice de Tablas

3.1.	Parámetros del modelo Fed Batch presentado por Craven	17
3.2.	Intervalos de muestreo encontrados en literatura para cultivos de células CHO en operación fed-batch	19
3.3.	Condiciones iniciales para densidad celular en células/L encontradas en literatura para cultivos de células CHO en operación fed-batch	20
3.4.	Concentraciones iniciales para glucosa y glutamina en mM encontradas en literatura para cultivos de células CHO en operación fed-batch. A la izquierda, se presentan los valores para glucosa y a la derecha los valores para glutamina.	20
3.5.	Condiciones iniciales para lactato y amoniaco en mM encontradas en literatura para cultivos de células CHO en operación fed-batch. A la izquierda, se presentan los valores para lactato y a la derecha los valores para amoniaco.	21
3.6.	Condiciones iniciales establecidas para los escenarios de simulación. Las densidades celulares (X_T , X_V y X_D) se encuentran en células/L y las concentraciones de especies (G , Q , L , A y C_i) se encuentran en mM	21
4.1.	Valores de R^2 para los modelos lineales elaborados con <i>RStudio</i> , en la columna Variables se especifican las variables utilizadas para el modelo	33
4.2.	Valores de los parámetros utilizados por <i>RStudio</i> para cada variable en los modelos lineales elaborados estos se condicen con el orden presentado en la Tabla 4.1.	34
4.3.	Valores obtenidos para los criterios de desempeño ISE, IAE e ITAE en cada controlador	46
4.4.	Valores obtenidos para las constantes del controlador PID según los criterios de desempeño	47
4.5.	Valores obtenidos para las métricas del error de los predictores utilizando un kernel scale de 2.2 para el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando datos cada 12 horas	49
4.6.	Valores obtenidos para las métricas del error (MSE, RMSE, MAPE y R^2) de los predictores utilizando el optimizador de hiperparámetros para el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L	50
A.1.	Parámetros del modelo batch presentado por Craven	99

C.1.	Valores obtenidos para las métricas del error (MSE, RMSE, MAPE y R^2) para el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , al considerar un kernel scale de 2.2 y datos cada 4 horas	117
C.2.	Valores obtenidos para las métricas del error (MSE, RMSE, MAPE y R^2) para el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , al considerar la optimización de hiper parámetros y datos cada 4 horas	118
C.3.	Valores obtenidos para las métricas del error (MSE, RMSE, MAPE y R^2) para el caso 1, 2 y 3 al considerar un kernel scale de 2.2 y datos cada 24 horas . . .	119
C.4.	Valores obtenidos para las métricas del error (MSE, RMSE, MAPE y R^2) para el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , al considerar la optimización de hiper parámetros y datos cada 24 horas	120

Índice de Ilustraciones

3.1.	Lazo de control a implementar, donde G representa la concentración de glucosa en mM, G_{sp} representa el set point de concentración de glucosa en mM, e representa la diferencia entre G_{sp} y G , c corresponde a la acción de control y F representa la alimentación	22
3.2.	Estructura de obtención del Soft Sensor propuesto, donde en la fase de obtención de datos se utiliza el modelo mecanístico de Craven para simular datos experimentales y en la fase de entrenamiento se utilizan los datos experimentales para predecir μ según los casos establecidos	25
3.3.	Lazo de control a implementar con Soft Sensor para predecir μ , donde G representa la concentración de glucosa en mM, G_{sp} representa el set point de concentración de glucosa en mM, e representa la diferencia entre G_{sp} y G , c corresponde a la acción de control y F representa la alimentación a suministrar en L/h	26
4.1.	Simulación escenario 4 en operación batch. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM	28
4.2.	Simulación escenario 4 utilizando el modelo fed-batch considerando una operación batch. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM	29
4.3.	Simulación escenario 4 en operación fed-batch sin alimentación con modificación. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM	30
4.4.	Simulación del escenario 4 en operación fed-batch con alimentación constante de 0.006 L/h. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM	31
4.5.	Simulación del escenario 4 en operación fed-batch con alimentación constante de 0.006 L/h considerando la modificación en la concentración del inhibidor desconocido. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM	32
4.6.	Correlación entre variables del escenario 4 en operación fed-batch sin alimentación	32

- 4.7. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional en un lapso de 300 horas. Se consideran constantes de proporcionalidad de 0.005, 0.01 y 0.1. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 35
- 4.8. Comparación del comportamiento del sistema de control proporcional para distintos valores de K_c ; considerando un valor de K_c 0.005, 0.01 y 0.1 para la primera, segunda y tercera fila respectivamente. En la primera fila se presenta la concentración de glucosa en el sistema en mM, donde la zona gris representa a $G_{sp} \pm 10\%$, en la segunda fila μ y en la tercera fila se tiene el consumo de glucosa por parte de las células junto a la alimentación de glucosa administrada al sistema, todos en un lapso de 300 horas. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 36
- 4.9. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional integral en un lapso de 300 horas. Se considera una constante de proporcionalidad de 0.1 y constantes de tiempo integral de 10, 35 y 70. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 37
- 4.10. Comparación del comportamiento del sistema de control proporcional integral para distintos valores de τ_i ; valores de τ_i de 10, 35 y 70 para la primera, segunda y tercera fila respectivamente y un valor de $K_c = 0.1$. En la primera fila se presenta la concentración de glucosa en el sistema en mM, donde la zona gris representa a $G_{sp} \pm 10\%$, en la segunda fila μ y en la tercera fila se tiene el consumo de glucosa por parte de las células junto a la alimentación de glucosa administrada al sistema, todos en un lapso de 300 horas. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 39
- 4.11. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional integral derivativo en un lapso de 300 horas. Se considera una constante de proporcionalidad de 0.1, constante de tiempo integral de 70 y constantes de tiempo derivativo de 0.01, 1 y 5. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 40

4.12.	Comparación del comportamiento del sistema de control proporcional integral derivativo para distintos valores de τ_d ; valores de τ_d de 0.1, 1 y 5 para la primera, segunda y tercera fila respectivamente junto a un valor de $K_c = 0.1$ y $\tau_d = 70$. En la primera fila se presenta la concentración de glucosa en el sistema en mM, donde la zona gris representa a $G_{sp} \pm 10\%$, en la segunda fila μ y en la tercera fila se tiene el consumo de glucosa por parte de las células junto a la alimentación de glucosa administrada al sistema, todos en un lapso de 300 horas. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM	41
4.13.	Comparación concentración de Glucosa, Flujo alimentado y Volumen según Criterios de desempeño para controlador P, todos en un lapso de 200 horas. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM	43
4.14.	Comparación concentración de Glucosa, Flujo alimentado y Volumen según criterios de desempeño para controlador PI, todos en un lapso de 200 horas. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM	44
4.15.	Comparación concentración de Glucosa, Flujo alimentado y Volumen según Criterios de desempeño para controlador PID, todos en un lapso de 200 horas. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM	45
4.16.	Comparación de la concentración de glucosa en biorreactor para distintas constantes de proporcionalidad al ampliar la curva junto a una ampliación de la curva	47
4.17.	Comparación F para distintos K_c	48
4.18.	Predictor de μ utilizando SVM y kernel scale de 2.2 para para el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando datos cada 12 horas	49
4.19.	Predictor de μ utilizando SVM y la optimización de hiperparámetros para el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando datos cada 12 horas	50

- 4.20. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel de 2.2 y datos cada 12 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V . Las condiciones iniciales para el sistema son: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. 51
- 4.21. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 12 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando un kernel scale 2.2. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 52
- 4.22. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel scale de 2.2 y datos cada 12 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 53
- 4.23. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 12 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A , considerando un kernel scale 2.2. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 54

- 4.24. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel scale de 2.2 y datos cada 12 horas según el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 55
- 4.25. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 12 horas según el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando un kernel scale de 2.2. G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 56
- 4.26. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 12 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 57
- 4.27. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 12 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando la optimización de hiper parámetros. G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 58

- 4.28. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 12 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 59
- 4.29. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 12 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A , considerando la optimización de hiper parámetros. G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 60
- 4.30. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 12 horas según el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 61
- 4.31. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 12 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando la optimización de hiper parámetros. G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 62

4.32.	Comparación de las estrategias de alimentación entregadas por el sistema de control proporcional y los distintos soft sensor implementados con un kernel scale de 2.2, para un cultivo con condiciones iniciales de: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. F_P corresponde al flujo de alimentación entregado por el sistema de control proporcional y $F_{caso\ i}$ corresponde a la estrategia de alimentación entregada por los soft sensor considerando diferentes entradas, donde el caso 1 considera X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2 considera G , Q , L y A y el caso 3 considera G y L	63
4.33.	Comparación de las estrategias de alimentación entregadas por el sistema de control proporcional y los distintos soft sensor implementados con un kernel scale de 2.2, para un cultivo con condiciones iniciales de: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. F_P corresponde al flujo de alimentación entregado por el sistema de control proporcional y $F_{caso\ i}$ corresponde a la estrategia de alimentación entregada por los soft sensor considerando diferentes entradas, donde el caso 1 considera X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2 considera G , Q , L y A y el caso 3 considera G y L	64
5.1.	Simulación considerando que la concentración inicial del inhibidor desconocido (C_i) es 20 mM utilizando el model Fed-Batch modificado.	71
5.2.	Comparación concentración de Glucosa, Flujo alimentado y Volumen según criterio ITAE para controlador PI y PID. $G_{orig,PI}$ representa la concentración de glucosa con la adivinanza inicial para controlador PI, $G_{orig,PID}$ representa la concentración de glucosa con la adivinanza inicial para el controlador PID, $G_{ITAE,PI}$ representa la concentración de glucosa con el criterio ITAE para el controlador PI, $G_{ITAE,PID}$ representa la concentración de glucosa con el criterio ITAE para el controlador PID y la zona gris representa la zona de $G_{sp} \pm 10\%$	81
5.3.	Estructura básica para un predictor en base a una red neuronal, donde la capa de entrada corresponde a las variables a considerar siendo una neurona por variable, las capas ocultas se definen en función de los datos y la capa de salida corresponde a lo que se desea predecir, siendo una neurona por variable deseada. En este caso, se incluye como ejemplo la utilización del caso 3 correspondiente a una entrada de G y L para predecir μ	84
B.1.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 1 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.5 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.5 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.2$ mM, $L = 0$ mM, $A = 1.5$ mM y $C_i = 0$ mM	100
B.2.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 2 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 29$ mM, $Q = 4.8$ mM, $L = 0$ mM, $A = 1.0$ mM y $C_i = 0$ mM	101
B.3.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 3 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 29$ mM, $Q = 3.9$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.0$ mM y $C_i = 0$ mM	101

B.4.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 4 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM	102
B.5.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 5 considerando datos cada 4 horas	102
B.6.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 6 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.5 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.5 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 32$ mM, $Q = 10$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM	103
B.7.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 7 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 35$ mM, $Q = 10$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM	103
B.8.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 8 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 32$ mM, $Q = 8$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM	104
B.9.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 9 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 3 \times 10^8$ células/L, $X_V = 3 \times 10^8$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 15$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.1$ mM y $C_i = 0$ mM	104
B.10.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 10 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^6$ células/L, $X_V = 3 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 10$ mM, $Q = 0.2$ mM, $L = 0.05$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM	105
B.11.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 1 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.5 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.5 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.2$ mM, $L = 0$ mM, $A = 1.5$ mM y $C_i = 0$ mM	106
B.12.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 2 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 29$ mM, $Q = 4.8$ mM, $L = 0$ mM, $A = 1.0$ mM y $C_i = 0$ mM	106
B.13.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 3 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 29$ mM, $Q = 3.9$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.0$ mM y $C_i = 0$ mM	107
B.14.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 4 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM	108
B.15.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 5 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 18$ mM, $Q = 4.0$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.7$ mM y $C_i = 0$ mM	108

B.16.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 6 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.5 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.5 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 32$ mM, $Q = 10$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM	109
B.17.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 7 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 35$ mM, $Q = 10$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM	109
B.18.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 8 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 32$ mM, $Q = 8$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM	110
B.19.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 9 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 3 \times 10^8$ células/L, $X_V = 3 \times 10^8$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 15$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.1$ mM y $C_i = 0$ mM	110
B.20.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 10 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^6$ células/L, $X_V = 3 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 10$ mM, $Q = 0.2$ mM, $L = 0.05$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM	111
B.21.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 1 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.5 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.5 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.2$ mM, $L = 0$ mM, $A = 1.5$ mM y $C_i = 0$ mM	111
B.22.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 2 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 29$ mM, $Q = 4.8$ mM, $L = 0$ mM, $A = 1.0$ mM y $C_i = 0$ mM	112
B.23.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 3 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 29$ mM, $Q = 3.9$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.0$ mM y $C_i = 0$ mM	112
B.24.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 4 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM	113
B.25.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 5 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 18$ mM, $Q = 4.0$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.7$ mM y $C_i = 0$ mM	113
B.26.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 6 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.5 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.5 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 32$ mM, $Q = 10$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM	114

B.27.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 7 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 35$ mM, $Q = 10$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM	114
B.28.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 8 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 32$ mM, $Q = 8$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM	115
B.29.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 9 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 3 \times 10^8$ células/L, $X_V = 3 \times 10^8$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 15$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.1$ mM y $C_i = 0$ mM	115
B.30.	Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 10 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^6$ células/L, $X_V = 3 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 10$ mM, $Q = 0.2$ mM, $L = 0.05$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM	116
C.1.	Comparación de los predictores de μ según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando datos cada 4 horas y un kernel scale de 2.2	117
C.2.	Comparación de los predictores de μ según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando datos cada 4 horas y la optimización de hiper parámetros	118
C.3.	Comparación de los predictores de μ según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando datos cada 24 horas y un kernel scale de 2.2	119
C.4.	Comparación de los predictores de μ según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando datos cada 24 horas y la optimización de hiper parámetros	120
C.5.	Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel scale de 2.2 y datos cada 4 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V . Las condiciones iniciales para el sistema son: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM	121

- C.6. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 4 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando un kernel scale 2.2. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 121
- C.7. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel scale de 2.2 y datos cada 4 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A . Las condiciones iniciales para el sistema son: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 122
- C.8. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 4 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando un kernel scale 2.2. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 122
- C.9. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel scale de 2.2 y datos cada 4 horas según el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G y L . Las condiciones iniciales para el sistema son: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 123

- C.10. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 4 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando un kernel scale 2.2. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 123
- C.11. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 4 horas según el caso , correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 124
- C.12. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 4 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando la optimización de hiper parámetros. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 124
- C.13. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 4 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 125

- C.14. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 4 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando la optimización de hiper parámetros. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 125
- C.15. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 4 horas según el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 126
- C.16. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 4 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando la optimización de hiper parámetros. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 126
- C.17. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel scale de 2.2 y datos cada 24 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V . Las condiciones iniciales para el sistema son: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 127

- C.18. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 24 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando un kernel scale de 2.2. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 128
- C.19. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel scale de 2.2 y datos cada 24 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A . Las condiciones iniciales para el sistema son: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 128
- C.20. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 24 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A , un kernel scale de 2.2. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 129
- C.21. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel scale de 2.2 y datos cada 24 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla G y L . Las condiciones iniciales para el sistema son: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 129

- C.22. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 24 horas según el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando un kernel scale de 2.2. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 130
- C.23. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 24 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 130
- C.24. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 24 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando la optimización de hiper parámetros. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 131
- C.25. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 24 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 131

- C.26. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 24 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A , considerando la optimización de hiper parámetros. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 132
- C.27. Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 24 horas según el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 132
- C.28. Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 24 horas según el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando la optimización de hiper parámetros. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM 133

Abreviaciones

ANN	<i>Artificial Neural Network</i>
CEPAL	Comisión Económica para América Latina
CHO	<i>Chinese Hamster Ovary</i>
CNN	<i>Convolutional Neural Network</i>
CPS	Sistemas cibernéticos
CSTR	<i>Continuous Stirred Tank Reactor</i>
DNN	<i>Deep neural network</i>
IA	Inteligencia Artificial
IoT	<i>Internet of Things</i>
LSTM	<i>Long Short Term Memory</i>
P	Proporcional
PAT	Process Analytical Technologies
PD	Proporcional derivativo
PI	Proporcional integral
PID	Proporcional integrativo derivativo
PV	Variable del proceso
QbD	Quality by Design
RNN	<i>Recurrent neural network</i>
SS	<i>Soft Sensor</i>
SP	<i>Set point</i>
SVM	<i>Support vector machine</i>
SVR	<i>Support vector regressor</i>

Nomenclatura

Simbología latina

A	Concentración de amoníaco (mM)
C_i	Concentración de inhibidor desconocido (mM)
C_i^*	Concentración de saturación del inhibidor desconocido (mM)
F	Flujo o tasa de alimentación ($L h^{-1}$)
G	Concentración de glucosa (mM)
K_A	Constante de saturación del amoníaco (mM)
K_d	Constante derivativa
K_G	Constante de saturación del glucosa (mM)
K_i	Constante integral
K_L	Constante de saturación del lactato (mM)
K_{LYSIS}	Tasa de lisis celular (h^{-1})
K_p	Constante derivativa
K_Q	Constante de saturación del glutamina (mM)
k_d	Tasa de muerte celular (h^{-1})
$k_{d,max}$	Tasa máxima de muerte celular (h^{-1})
$k_{d,Q}$	Grado de degradación de glutamina (h^{-1})
k_μ	Tasa de muerte intrínseca (h^{-1})
L	Concentración de lactato (mM)
m_G	Coefficiente de mantención de glucosa ($mmol\ célula^{-1}\ h^{-1}$)
m_Q	Coefficiente de mantención de glutamina ($mmol\ célula^{-1}\ h^{-1}$)
Q	Concentración de glutamina (mM)
q_i	Tasa de producción específica del inhibidor desconocido (k^{-1})
S	Predictor basado en SVR
S_G	Concentración de glucosa en la alimentación (mM)
S_Q	Concentración de glutamina en la alimentación (mM)
τ_d	Constante de tiempo derivativa
τ_i	Constante de tiempo integral
V	Volumen (L)
X_D	Densidad celular muerta (células L^{-1})
X_T	Densidad celular total (células L^{-1})

X_V	Densidad celular viable (células L ⁻¹)
x	Conjunto de datos de entrada para entrenamiento
$Y_{A/Q}$	Rendimiento del amoniaco desde la glutamina
$Y_{L/G}$	Rendimiento del lactato desde la glucosa
$Y_{X/G}$	Rendimiento del amoniaco respecto a la glucosa (célula mmol ⁻¹)
$Y_{X/Q}$	Rendimiento de las células respecto la glutamina (célula mmol ⁻¹)
y	Conjunto de datos de salida para entrenamiento

Simbología griega

μ	Tasa de crecimiento celular (h ⁻¹)
μ_{\max}	Tasa de crecimiento máximo (h ⁻¹)

Capítulo 1

Introducción

1.1. Antecedentes generales

1.1.1. Industria 4.0

Un concepto emergente en la última década es el de Industria 4.0 o cuarta revolución industrial, el cual hace referencia a la aplicación de tecnologías digitales en la industria de procesos que permite elaborar sistemas cibernéticos (CPS, por sus siglas en inglés) que interactúan entre sí compartiendo la información disponible y tomando decisiones sin intervención humana [1]. Algunas de las tecnologías pertenecientes a este concepto corresponden a la fabricación aditiva, inteligencia artificial (IA), *big data* y análisis, internet de las cosas (IoT, por sus siglas en inglés), entre otras [2][3].

A nivel industrial, la industria 4.0 permite mejorar la eficiencia y optimización de los procesos [3]. Donde la puesta en marcha de la planta conlleva una fuente constante de datos que pueden ser utilizados a posteriori con el fin de simular escenarios en pos de la sustentabilidad de los procesos [4].

En el año 2017, *The Boston Consulting Group* realizó una encuesta a ejecutivos y empresas de Argentina, Alemania y Francia respecto a la implementación de nuevas tecnologías en sus procesos productivos y los desafíos más importantes que encuentran a la hora de ejecutar esta transformación. En los resultados se obtuvo que sobre un 70 % relaciona la implementación de una industria 4.0 a mejoras en la productividad de los procesos, siendo esto presentado por los 3 países encuestados. Por otro lado, un 40 % de las empresas en Alemania y Francia también asocia este término a un aumento en los ingresos percibidos, teniendo por sobre un 70 % de las empresas interés en incluir este tipo de tecnologías. También se destaca que el 34 % de las empresas en Argentina planea incorporar tecnologías de este tipo en sus procesos. % [5].

En un reporte realizado por la Comisión Económica para América Latina (CEPAL) relacionado a las políticas industriales y tecnológicas en América Latina en 2017 indica que las principales industrias, en Chile, que trabajan en miras de estos avances son la forestal y minera [6]. En el caso de la industria minera nacional, en 2020 se realizó un estudio de medición del nivel de digitalización del clúster minero de Chile, el cual abarcó dimensiones como el manejo de datos, maquinaria y robots, interconexión y sistemas de información. De este estudio se rescata que se debe enfatizar la importancia de una transición a la industria 4.0 [7].

Mientras que en 2022, en un reportaje de la revista Minería Chilena se hace mención a la eficientización de los procesos en virtud de la digitalización y automatización de las operaciones del rubro, donde la implementación de *Big Data* como tecnología de modernización ha sido fundamental en el avance a una Minería Inteligente e Integrada; así como también se hace mención de la utilización de *Deep learning* en el sistema de vigilancia geotécnica de taludes [8].

Otro caso de aplicaciones de tecnologías digitales a nivel nacional es el de la empresa *NotCo* y su algoritmo de inteligencia artificial Giuseppe, el cual utiliza una base de datos de plantas y sus características con el fin de reproducir algún alimento pero en base a ingredientes vegetales [9].

La industria de bioprocesos, a nivel global, ha presentado interés en la automatización de las prácticas de laboratorio, planificación experimental y modelamiento de datos sin dependencia de intervención humana [10], donde el uso de *machine learning* puede contribuir en la automatización de esta área de la industria beneficiando el desarrollo de modelos predictivos, destacando la aplicación de redes neuronales convolucionales (CNN), redes neuronales recurrentes (RNN) y redes neuronales profundas (DNN) [11]. Algunos ejemplos de aplicaciones de machine learning en bio procesos involucran el modelamiento y optimización de la producción de biodiesel a partir de microalgas [12], la elaboración de modelos híbridos basados en redes neuronales para predecir las variables de estado en un proceso [13] y estudios relacionados a la aplicación de redes neuronales recurrentes para la optimización de procesos batch [14]. Por otro lado, la implementación de *Big data* en el contexto de bioinformática y biología molecular ha significado un aumento en el aprendizaje automático, desarrollando inclusive programas basados en *Deep Learning* para la predicción de estructuras 3D de proteínas a partir de datos secuenciales [15].

Debido a la complejidad y multidimensionalidad, junto con la presencia de ruido, de los datos experimentales relacionados a contextos biológicos, la implementación de modelos basados en inteligencia artificial podría presentar mejores resultados en comparación a los modelos estadísticos comunes. Sin embargo, la utilización de herramientas como *Big Data* serán necesarias para la implementación de IA en este contexto. El desarrollo de bioprocesos en un contexto de tecnologías modernas conlleva la generación de una gran cantidad y variedad de datos experimentales e información de los procesos, donde las herramientas digitales como ML se verán potenciadas [16].

En la industria biofarmacéutica se ha presentado interés por la aplicación de AI y ML en áreas de innovación, como descubrimiento de nuevos fármacos, y manufactura, como el control de biorreactores [17]. La implementación de principios basados en Quality by Design (QbD) como estrategias de control modernas y Process Analysis Technologies (PAT) permiten mejorar los procesos y la calidad de los productos, manteniendo un objetivo específico desde el diseño [18]. En específico, el objetivo de la implementación de PAT se centra en un mejor entendimiento del proceso, mejoras en el rendimiento de procesos, disminución en el consumo de energía de procesos continuos, mejoras económicas, entre otros [19].

Algunas aplicaciones del enfoque de QbD y PAT se encuentran en el desarrollo de modelos híbridos que predicen la dinámica de cultivos, siendo esto aplicado en investigaciones para cultivos de *E. Coli* y células CHO [20], en la implementación de soft sensors para determinar

ciertos parámetros o variables asociadas a un determinado proceso [21] y en la aplicación de sensores modernos como la espectroscopia de Raman y la espectroscopia de masa para caracterizar las células, sustratos y subproductos en el biorreactor [22].

1.1.2. Cultivos celulares

Los cultivos celulares, en el área de bioprocesos, son comúnmente utilizados para elaborar productos biológicos como proteínas recombinantes, coagulantes sanguíneos, proteínas terapéuticas, anticuerpos monoclonales, vacunas, hormonas, entre otros, los cuales presentan estructuras y funciones complejas [23, 24].

En la industria química, de alimentos, energía e incluso en el área de la salud es común utilizar bioreactores para el desarrollo de cultivos microbianos y de células mamíferas [25]. En particular, las células mamíferas han sido estudiadas por décadas por sus características como productoras de proteínas, las cuales presentan variabilidad, un correcto enrollamiento y están glicosiladas. La glicosilación es una función inherente de las células mamíferas que permite modificar post traduccionalmente las proteínas, lo cual es una característica necesaria para proteínas con fines terapéuticos; presentando mayor estabilidad y actividad biológica, aumentos en la vida media y disminución de la inmugenicidad en las proteínas fabricadas [24].

Cabe mencionar que, el mercado relacionado a los cultivos celulares se valuó en 26,54 mil millones de dólares en el año 2023, teniendo proyecciones de aumento para los próximos años alcanzando un valor de 63.60 mil millones de dólares en el año 2032 [26]. Por otro lado, el mercado de cultivos de células mamíferas se valuó en 1900 millones de dólares en el año 2021, con proyecciones de aumento en los próximos años [27].

Es común utilizar reactores del tipo *fed-batch* para el crecimiento y mantenimiento de cultivos de células mamíferas debido a la prolongación de la viabilidad de las células gracias a que este equipo permite alimentar el cultivo en diferentes instantes de forma intermitente [28]. Sin embargo, también existen otros tipos de operación como *batch* y de perfusión, siendo este último de régimen semi continuo [24].

Con el fin de comprender y predecir el comportamiento celular, se han realizado modelos que describen variables como la concentración de células viables, la concentración de lactato, entre otras [29]; algunos ejemplos de estos modelos corresponden a modelos genómicos [30], en base a shifts metabólicos [31] y otros a partir de redes neuronales [32]. Sin embargo, la definición de un modelo del cultivo no es sencilla ya que el proceso metabólico de las células es complejo y depende de diversos factores como la etapa del ciclo celular en que se encuentre cada célula y los productos que genere [24].

Los principales subproductos asociados a los cultivos celulares corresponden al lactato y amoniaco, presentan un efecto tóxico e inhibitorio del crecimiento celular al acumularse en el bioreactor [29].

En las últimas décadas se han utilizado modelos fenomenológicos en la industria. Sin embargo, en ocasiones pueden ser difíciles de implementar y presentan dificultades en la generalización de los mismos por la complejidad y cantidad de parámetros desconocidos [33].

Por ejemplo, los modelos cinéticos, comúnmente utilizados para describir bioprocesos, no permiten, en algunos casos, simular la dinámica completa del proceso por sí solos y además requieren de múltiples iteraciones para identificar una estructura que describa el modelo de forma correcta [34].

1.1.3. Células CHO

La característica principal de las células mamíferas es que presentan la capacidad de realizar modificaciones post traduccionales complejas [29]. Este tipo celular ha sido destinado desde el año 1987 hasta el 2021 en un 58 % para producir anticuerpos, un 10 % como enzimas, 8 % como citoquinas, 5 % como hormonas, entre otros productos [35].

Por su parte, las células de ovario de hámster chino, también conocidas como CHO por sus siglas en inglés, son un tipo de células mamíferas ampliamente utilizadas para la producción de proteínas recombinantes en la industria farmacéutica [30] y de anticuerpos monoclonales, presentando una demanda creciente a través de los años [24]. Además, presentan ventajas como el crecimiento en suspensión y en un medio libre de suero, producción de alto rendimiento y son menos susceptibles a infecciones por virus humanos [24].

Desde el año 1987 hasta febrero del 2021, las células CHO comprenden un 81 % de las líneas celulares mamíferas utilizadas con fines biofarmacéuticos, seguidas por líneas celulares derivadas del mieloma murino correspondientes a NS0 y Sp2/0 las cuales abarcan un 7 % en conjunto. Esta preferencia se atribuye a las características propias de las células CHO como la adaptabilidad, facilidad de manipulación y capacidad de realizar modificaciones post-traduccionales [35].

Para este tipo celular, se han presentado estudios que indican que los efectos inhibitorios de la tasa de crecimiento celular están relacionadas con bajas temperaturas [36] y altas concentraciones de sub productos del crecimiento celular que pueden tener efectos adicionales en el pH del sistema [29]. En literatura se ha reportado que concentraciones superiores a 20 mM de lactato presentan un efecto inhibitorio [37], mientras que concentraciones superiores a 8 mM de amoníaco presentan efectos negativos en la tasa de crecimiento celular [38].

A lo largo de los años, se han presentado diversas investigaciones para la determinación y elaboración de modelos que describan el comportamiento de cultivos celulares de células CHO. En algunos casos se han utilizado modelos matemáticos basados en balances de masa del sistema [22], y en otros casos se han utilizando redes neuronales, siendo indicado que la motivación para este estudio es la representación de un comportamiento complejo y no lineal propio del metabolismo celular de células mamíferas, que permita definir las condiciones de operación y alimentación del cultivo [39].

1.2. Problemática, motivación y descripción del proyecto

El desarrollo de modelos que describan el comportamiento de las variables de un cultivo celular en un bioreactor puede ser de difícil deducción y requerir de largos estudios y datos experimentales que den información de la dinámica celular. La actividad metabólica de las

células puede significar la producción de subproductos como lo es el caso del lactato generado a partir del consumo de glucosa, el cual es un inhibidor del crecimiento celular [23, 29]. Siendo esto último una explicación para los comportamientos no lineales en los cultivos celulares [40]. Mientras que, la obtención de datos experimentales se ve limitada por motivos prácticos o monetarios [41].

Por un lado, la presencia de glucosa en exceso podría significar un aumento en la producción de lactato, mientras que la falta de glucosa en el sistema podría inducir una muerte celular prematura. Por lo que, comúnmente se utilizan reactores del tipo fed-batch para los cultivos celulares ya que permiten definir alimentaciones intermitentes, favoreciendo el crecimiento celular al no existir una sobrecarga de nutrientes, lo cual podría ser un inconveniente a largo plazo por la presencia de inhibidores anteriormente mencionados [42].

Es por lo anterior, que es importante mantener ciertas variables del sistema en un rango determinado de operación. Para ello, se agregan lazos de control que permiten mantener las variables de estado, como por ejemplo una concentración, en un valor cercano a un set-point establecido [43]. Por otro lado, debido a la complejidad y no linealidad de los sistemas biológicos, se propone abordar el problema desde la perspectiva de la inteligencia artificial por su capacidad de predicción de modelos no lineales a partir de datos de entrenamiento [44].

Los nutrientes requeridos por los cultivos celulares son fundamentales para el crecimiento celular y/o para el desarrollo de proteínas de interés, siendo el principal la cantidad de glucosa presente en el medio. Como se mencionó anteriormente, por bibliografía, es común encontrar sistemas de control implementados en bioreactores para mantener determinadas variables como la glucosa en un valor constante.

Por otro lado, el desarrollo de tecnologías en distintos ámbitos de la industria de procesos ha presentado un crecimiento en los últimos años tanto a nivel internacional como nacional, donde en el contexto de la industria de bioprocesos se han visto estudios a pequeña escala de implementaciones de ML para diferentes enfoques. Particularmente, la utilización de herramientas de ML para estimar variables del sistema podría permitir beneficiar la toma de decisiones de un algoritmo de control o la simulación del sistema.

En este contexto, surge el presente trabajo de título para diseñar un sistema de control que en apoyo de herramientas de ML sea capaz de mantener los niveles de glucosa en un valor establecido a través de un predictor para la tasa de crecimiento del cultivo.

1.3. Objetivos y limitaciones

1.3.1. Objetivo general

El objetivo general de este trabajo es predecir la tasa de crecimiento del cultivo celular mediante la utilización de una herramienta de inteligencia artificial (*Support Vector Machine*) para su posterior implementación en el diseño de un sistema de control para obtener la estrategia de alimentación.

1.3.2. Objetivos específicos

Los objetivos específicos contemplados son:

- Estimar la tasa de crecimiento del cultivo utilizando una herramienta de inteligencia artificial.
- Diseñar un sistema de control PID para posteriormente compararlo con la estrategia de alimentación sugerida por el Soft Sensor.
- Analizar y comparar la respuesta de distintos controladores al mantener la glucosa en un valor determinado.
- Evaluar la estrategia de alimentación sugerida a partir de una herramienta basada en machine learning respecto a tecnologías clásicas de control.

Capítulo 2

Antecedentes de estudio

2.1. Cultivos celulares de células mamíferas

La implementación de cultivos celulares ha presentado un aumento en la última década gracias a la expansión de la industria de producción de anticuerpos [45]. Además, han permitido reducir el uso de animales de laboratorio en la industria de bioprocesos [46] y han sido utilizados para investigación, producción de vacunas, producción de proteínas terapéuticas, entre otras aplicaciones [47].

Los cultivos requieren de sustrato, nutrientes, oxígeno, así como regulación del pH, presión osmótica y temperatura, entre otros factores variables dependiendo del tipo de célula utilizada [48]. En general, los cultivos de células mamíferas son utilizados para la producción de biofármacos como hormonas, enzimas, citoquinas, proteínas recombinantes, anticuerpos, entre otros; donde se destaca la producción de anticuerpos con un 58 % del total de productos obtenidos a partir de este tipo celular [35].

Las células mamíferas se han vuelto uno de los principales sistemas para la producción de proteínas recombinantes debido a su capacidad de plegamiento y ensamblaje de proteínas, junto a las modificaciones post traduccionales [49]. Algunas de las líneas celulares comúnmente empleadas provienen de hámsters, como las células de ovario de hámster chino (CHO), o de otros tipos roedores como las células NS0 y Sp2/0 provenientes de murino [29] y las 3T3 obtenidas a partir de fibroblastos de embriones de ratón [50].

2.2. Reactores fed-batch

El equipo empleado para el desarrollo de cultivos celulares corresponde a los biorreactores. Para ello, existen dos métodos de operación clásicos para cultivos celulares: Batch y Fed-Batch. En un modo de operación batch el medio y nutrientes son incluidos en el inicio de la operación sin intervención hasta finalizar el tiempo de reacción para luego ser retirado. Por otro lado, los reactores de tipo fed-batch presentan características similares a los del tipo batch pero se diferencian en la capacidad de poder suministrar nutrientes de forma continua o intermitente a lo largo del proceso [45].

Los reactores del tipo batch han sido ampliamente utilizados en cultivos a lo largo de los años para la producción de vacunas. Sin embargo, debido a la limitación de nutrientes inicial

se presentan bajas concentraciones de producto y densidades celulares. En comparación a los reactores Batch, los reactores del tipo fed-batch presentan tiempos de operación más largos y permiten obtener concentraciones celulares y de producto más altas [45].

Particularmente, para los cultivos de células mamíferas se suelen utilizar reactores del tipo fed-batch ya que permiten intervenir en las concentraciones de los nutrientes involucrados y así mejorar el rendimiento o la productividad del sistema [44]. Este tipo de biorreactor suele utilizarse para la producción de proteínas recombinantes y anticuerpos [45].

2.3. Modelos para cultivos celulares

Los bioprocesos contemplan diversos sistemas biológicos de estudio, incluyendo las células mamíferas [51]. Con el fin de representar estos sistemas se suelen desarrollar modelos descritos por ecuaciones diferenciales o algebraicas, basados a partir de mecanismos de principios básicos o a partir de datos experimentales [52].

Existen tres clasificaciones principales para los modelos desarrollados en la industria de bioprocesos: fenomenológicos o mecanísticos, empíricos o basados en datos, e híbridos [21, 53]. En el primer caso, son modelos basados en fundamentos teóricos que explican el comportamiento del caso de estudio [53], como por ejemplo balances de masa o de energía [54]. En el caso de modelos basados en datos se suele establecer relaciones entre las variables disponibles sin un fundamento teórico explícito [21]. Finalmente, los modelos híbridos combinan características de los casos anteriores, utilizando una amplia gama de datos en conjunto con modelos de sustento teórico establecido [54].

En algunos casos de estudio es posible describir los cultivos celulares con modelos simples que representen su crecimiento, siendo común la utilización de ecuaciones como la de Monod, de Michaelis Menten o la función logística [55]. La cinética de Monod es uno de los modelos más utilizados en bioprocesos [56], esta ecuación describe cuantitativamente la relación entre la tasa de crecimiento de un microorganismo y el sustrato, estableciendo que la concentración de sustrato es el factor limitante del crecimiento [21].

Por ejemplo, Lopez-Meza indica que anteriormente se han elaborado modelos basados en Monod y en la función logística para hibridomas, y presenta un modelo simple para describir el consumo de glucosa y el crecimiento celular en un cultivo de células CHO [57]. Mientras que en 2019 Xu realizó investigaciones de un modelo basado en la ecuación de Monod y un crecimiento logístico para describir la concentración de células en un fermentador en operación *batch* y en operación continua en un tanque agitado (CSTR) [55].

Craven por su parte, en el año 2013, presenta distintos modelos mecanísticos basados en una cinética de Monod para un cultivo de células CHO, bajo distintos modos de operación incluyendo un modelo batch y uno Fed-Batch. Los modelos elaborados permitieron describir las densidades celulares y concentraciones de glucosa, glutamina, lactato y amoníaco en el biorreactor bajo el contexto experimental presentado [56].

Por otro lado, existen sistemas biológicos complejos, como el metabolismo celular [31], que no pueden ser descritos de forma simple por modelos de primer principio, donde la dinámica

de algunos cultivos ha sido descrita con la ayuda de múltiples variables que requieren ser medidas en el proceso y no se encuentran disponibles siempre [58]. En la investigación de Nolan y Lee de 2011 se predice la dinámica metabólica de un cultivo de células CHO en operación fed-batch, a través de una simulación de la dinámica metabólica combinando el análisis de flujo en estado estacionario (FBA) y expresiones cinéticas.

En 2014, Mulukutla presenta un estudio de la biestabilidad de la glucólisis y su relación con el metabolismo energético, presentando dos estados estables posibles conocidos como: estados de alto flujo glucolítico y estados de bajo flujo glucolítico. En este trabajo, se desarrolla un modelo matemático mecanicista de la glucólisis considerando la vía de la pentosa fosfato. El modelo consta de un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias que describe el metabolismo de la glucosa, incluyendo el comportamiento de lactato, en función de balances de masa [59].

En otro estudio, se presenta un modelo matemático que contempla multi etapas. En la primera etapa, se consideran concentraciones pre estacionarias para las células viables e incluye un término relacionado al nacimiento de células. Mientras que la segunda etapa representa la fase post exponencial. En este modelo matemático se presentan ecuaciones diferenciales para el comportamiento de asparagina, amonio, anticuerpos monoclonales y de proteínas de la célula huésped, siendo esta última una impureza en el cultivo [60].

En función de los modelos anteriormente planteados, se puede ver que la representación de la dinámica de un cultivo celular presenta complejidades y requiere de múltiples estudios y experimentos. Por lo que, la determinación de modelos que describan el crecimiento o desarrollo de un sistema celular requiere de tiempo e inversión económica [10].

En la actualidad, para resolver problemas asociados a sistemas de dinámica compleja se han desarrollado modelos basados en datos (*Data-Driven*), como por ejemplo métodos de regresión e incluso la utilización de redes neuronales [44] u otros métodos de *machine learning* [61]. Sin embargo, este tipo de modelos se ve limitado por la cantidad y calidad de los sets de datos y el error asociado al mismo, así como por la disponibilidad de mediciones en los procesos [62].

En algunos casos, los modelos cinéticos permiten describir un cultivo bajo una determinada condición de operación. Esto se ve relacionado con los parámetros asociados al modelo, con lo cual al implementar un mismo modelo en otra condición de cultivo los resultados podrían no ajustarse al comportamiento esperado. Es por ello que los modelos *Data-Driven* se han utilizado como alternativa a los modelos cinéticos ya que permiten incluir una mayor cantidad de parámetros disponibles en los procesos [62]. Sin embargo, es importante destacar que este tipo de modelo permite extrapolar de forma correcta los datos ante distribuciones similares [10].

El alcance o disponibilidad de un gran volumen de datos permite desarrollar modelos basados en aprendizaje automático como es el caso de la fermentación bacteriana y la producción de algas, donde se han implementado redes neuronales artificiales, o ANN por sus siglas en inglés para modelar dichos bioprocesos [62].

En este contexto, se han presentado estudios en cianobacterias para obtener un modelo, utilizando redes neuronales, que describa el crecimiento de la biomasa, el producto y el sustrato según el avance del tiempo en un reactor fed-batch. Dada la naturaleza de estas variables, el modelo predice la variación de cada parámetro para un instante de tiempo adelante, considerando como variables el tiempo, la biomasa, el producto y el sustrato. [32]. Cabe mencionar que si bien este estudio no se relaciona con un cultivo de células mamíferas, permite conocer posibles enfoques en otros tipos de cultivos para la aplicación de estos recursos tecnológicos.

En 2019, Zhang diseña un modelo híbrido basado en un modelo cinético que se ve complementado una red neuronal en el contexto de producción de luteína a partir de algas [62]. La finalidad de este nuevo modelo es predecir cambios en las variables de estado para obtener los valores futuros de las mismas a partir de los valores anteriores de las variables de estado y de las tasas de alimentación al cultivo.

2.4. Técnicas de *Machine Learning*

La implementación de tecnologías basadas en *Machine Learning* e Inteligencia Artificial (IA) ha despertado interés por parte de diversas industrias como el *e-commerce*, transporte, robótica e incluso atención médica [18]. En el área de bioprocesos el foco de las investigaciones se ha visto centrado en la predicción de la función de proteínas, análisis de datos multi-ómicos, ingeniería metabólica y bioquímica [15], automatización y control de procesos, predicción de fallas, [18], entre otros.

En general los algoritmos de ML e IA se pueden clasificar según su modo de aprendizaje en tres tipos: Supervisado, No supervisado y por refuerzo. Cuando un algoritmo recibe un conjunto de datos correctos o esperados (salida) y un conjunto de datos (entrada) para establecer relaciones entre la entrada y salida, se considera que es de aprendizaje supervisado; siendo común utilizar este tipo de algoritmos para predecir variables. Por otro lado, cuando un algoritmo recibe únicamente un conjunto de datos con el fin de establecer la estructura y características del mismo se considera que es un aprendizaje no supervisado; siendo común utilizar este tipo de algoritmos para clasificación. Por último, en el caso de algoritmos por refuerzo se considera que existe un factor de recompensa asociado donde finalmente se busca maximizar la recompensa global; este tipo de algoritmo se suele utilizar en optimización y control [18].

En el área de bioprocesos, se han visto implementaciones de algoritmos supervisados como redes neuronales, *support vector regression* (SVR) y árboles de decisión, algoritmos no supervisados como *K-means*, análisis de componentes principales, y algoritmos por refuerzo como *Q-learning* [18].

Una de las aplicaciones más comunes de IA en bioprocesos corresponde a las redes neuronales artificiales (ANN) [18]. Las ANN corresponden a una estructura computacional que permite, en su forma más simple, obtener una regresión lineal que describa un set de datos o resuelva un problema de clasificación. Teniendo como principal ventaja la estimación del proceso al tratarlo como una caja negra [63]. Mientras que, dentro de sus desventajas se puede encontrar la necesidad de una gran cantidad de datos con la menor magnitud posible

de ruido y el sobreajuste del modelo obtenido [18].

Se ha de mencionar que las ANN ha sido ampliamente utilizadas para predecir variables de estado de un cultivo, como el caso de la producción de luteína [62] y el de cyanobacterias [32] mencionados anteriormente. Del estudio de las cyanobacterias se rescata que la red neuronal tuvo un buen desempeño en la predicción de las variables anteriormente mencionadas al compararlo con un set de datos experimental desconocido, donde los parámetros de error para el entrenamiento y validación presentan un error del orden de 10^{-2} [32].

En 2019, Beiroti presentó una investigación de la aplicación de redes neuronales recurrentes para la predicción de la densidad celular de *Pichia pastoris* recombinante para la producción del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg). A partir de los resultados se concluye que la red neuronal implementada predice la densidad celular con precisión en un reactor fed-batch de fermentación [64].

Asimismo, tras una revisión bibliográfica, se encontraron otros estudios relacionados a la industria de bio procesos con aplicaciones de redes neuronales. Entre ellos, se destaca la elaboración de una red neuronal que modela la cinética de un cultivo células CHO [39], una red neuronal que describe el proceso de glicosilación del producto recombinante [65], una red neuronal recurrente para optimizar la operación de un reactor batch [14], una red neuronal convolucional para clasificación de células cancerígenas mediante análisis de imágenes [66], una red neuronal que modela la producción de *C-phycoerythrin* en un reactor batch [63], el modelamiento del pH en la fermentación de queso crema en un reactor batch [67], una red neuronal que estima la biomasa fúngica en un reactor *fed-batch* [68], entre otros.

A partir de la bibliografía revisada, se reconocen 2 tipos principales de redes neuronales para la predicción de las variables de estado de un sistema, siendo estos las redes neuronales profundas y las redes neuronales recurrentes, donde se indica que, estos dos tipos de estructuras permiten predecir de forma acertada el comportamiento del cultivo presentado para el caso de una bacteria [32] y un hongo [68]. Sin embargo, se menciona, en otras referencias, que la aplicación de redes neuronales recurrentes podría presentar beneficios al retroalimentar la red neuronal para la obtención de mejores resultados al basar su predicción en la historia de la misma variable y su valor actual [69].

Además, se destaca que la implementación de redes neuronales en los procesos químicos y bioquímicos permite un ahorro del costo y dificultad asociado a la determinación de modelos no lineales que describan el comportamiento de las variables en los sistemas a estudiar [70]. Con lo cual, se puede reconocer que la posibilidad de elaborar un modelo libre a cualquier cultivo celular en función de sus datos experimentales puede beneficiar la determinación de un modelo de sus variables de estado de interés.

Otra herramienta de *Machine Learning* reportada corresponde al *Support Vector Machine*, el cual puede responder tanto a problemas de clasificación como de regresión para aproximar, modelar o predecir funciones tanto lineales como no lineales [71].

En el área de bioprocesos, se han encontrado estudios que para predecir el crecimiento de microalgas en función de la luz a partir de un modelo basado en *machine learning*.

Particularmente, este estudio aborda la aplicación de Long-Short Term Memory (LSTM), correspondiente a una red neuronal recurrente, y SVR utilizando datos experimentales de reactores *airlift* en un periodo de 50 días [72].

2.5. Sistemas de control en bioprocesos

Los sistemas de control suelen ser implementados en bioprocesos para mantener las condiciones de diseño establecidas en un entorno impredecible, y así favorecer el crecimiento y desarrollo de las células para la síntesis del producto de interés. Sin embargo, la implementación del control en el contexto de cultivos celulares se ve dificultada por comportamientos no lineales, variabilidad, complejidad de los procesos biológicos que se encuentran basados en su metabolismo y la complejidad de las operaciones unitarias en un cultivo celular [18]. Algunos parámetros controlados en bioprocesos para proporcionar un entorno óptimo en cultivos celulares son el pH, temperatura, oxígeno disuelto, agitación y la concentración de nutrientes [73, 74].

Mantener un control eficiente del proceso puede significar mejoras en la productividad del mismo, siendo necesario para ello un sensor y una acción de control definida para la toma de decisiones, siendo estructuras de control clásicas controladores Proporcional-Integral (PI) y el Proporcional-Integral-Derivativo (PID) [75]. Ambos controladores mencionados pertenecen a la familia de controladores PID, comúnmente utilizados a nivel industrial para controlar los procesos [76]. En las últimas décadas se han presentado avances en el control de procesos, desarrollo que se ha visto reflejado principalmente en control adaptativo, lógica difusa e incluso redes neuronales [18].

La familia de controladores PID contempla 4 tipos de controladores: el proporcional (P), el proporcional integral (PI), el proporcional derivativo (PD) y el proporcional integral derivativo (PID) [77], los cuales son utilizados por más de un 95 % de la producción industrial [76]. Para alcanzar el valor deseado, estos controladores operan calculando la señal de error, establecida como la diferencia entre el valor del *set point* (SP) y el de la variable de proceso medida (PV). Una vez obtenido este valor, el sistema realiza una acción que corrige el valor de la entrada; la acción se basa en términos proporcionales a: la señal de error, la integral de la señal de error y la derivada de la señal de error. Lo anteriormente mencionado se puede representar matemáticamente como se muestra en la ecuación 2.1, donde $F(t)$ corresponde a la tasa de alimentación, K_p , K_i y K_d son las constantes proporcional, integral y derivativa respectivamente. Cada uno de los sumandos de la ecuación se pueden asociar al error actual, el error acumulado en el tiempo y la tasa de cambio del error, respectivamente [78]. [78].

$$F(t) = K_p e(t) + K_i \int_0^t e(t) dt + K_d \frac{de(t)}{dt} \quad (2.1)$$

La implementación de controladores PI o PID es preferible en escenarios con no linealidades leves. Debido a la naturaleza lineal del controlador PID, la presencia de no linealidades significativas puede resultar en que pequeñas perturbaciones alejen el proceso del punto de operación deseado [75]. Algunas estrategias de control comúnmente utilizadas para controladores PID en bioprocesos se centran en la temperatura, oxígeno disuelto y niveles de pH [1], siendo generalmente empleada como acción de control la tasa de alimentación al sistema [78].

Mientras que, para dinámicas complejas se requiere de sistemas de control con mayor alcance o desarrollo tecnológico, como lo es el caso de un cultivo de células mamíferas y las reacciones metabólicas que conlleva [18].

La aplicación y desarrollo de redes neuronales y sus variantes ha sido un foco reciente en la industria de bio procesos debido a su característica de adaptarse a sistemas no lineales y presentar un aprendizaje adaptativo. Sin embargo, uno de los inconvenientes que presenta este método es la falta de datos experimentales para el entrenamiento de la red neuronal [18]. Un método de control implementado a partir de redes neuronales es el de optimización de un reactor fed-batch para la producción de *C-phycoyanin* y el diseño de un controlador [63]. Por otro lado, se ha elaborado un sistema de control basado en machine learning a partir un modelo que describe la dinámica de un cultivo de cyanobacterias utilizando redes neuronales. Para el sistema de control se utilizó deep reinforcement learning con un algoritmo Asynchronous Advantage Actor-Critic (A3C), indicando que la utilización de este algoritmo permite obtener resultados con mayor rapidez de convergencia al presentar ambientes paralelos que se ejecutan y toman decisiones en simultáneo. Se menciona también, que el objetivo de control en este estudio es la maximización del rendimiento del cultivo celular y la acción de control es añadir una determinada concentración de nutrientes, en particular de nitrato. [32]. Otras aplicaciones se encuentran relacionadas a un sistema de control basado en aprendizaje profundo para la producción de luteína [68], un sistema de control basado en *reinforcement learning* para la optimización de bioprocesos en modo batch [14], un sistema de control basado en *reinforcement learning* para un proceso de polimerización en modo batch [79], entre otros.

Capítulo 3

Metodología

Un concepto importante en la digitalización de la industria de bioprocesos es el de *Soft Sensor* (SS). Este término hace referencia a un predictor o estimador de variables asociadas a un proceso, el cual puede estar basado en modelos matemáticos, como los modelos mencionados anteriormente, o herramientas de ML [10]. En general los SS son utilizados para estimar variables que sean difíciles de medir y se han visto implementados en plantas de energía, refinerías, procesamiento de comida, tratamiento de aguas, entre otros [80].

Según lo presentado en la investigación de Yeh, es posible desarrollar un soft sensor para estimar el crecimiento en un cultivo de microalgas utilizando Support Vector Machine, como herramienta de regresión, en el software Matlab [72]. Debido a la naturaleza de este proceso, donde se busca maximizar la cantidad de biomasa presente, el foco se encuentra relacionado a la tasa de crecimiento del cultivo (μ) y la fuente de sustrato, correspondiente a la luz.

Al comparar los cultivos celulares con la implementación descrita por Yeh [72], se encuentra un análogo en el factor asociado a la tasa de crecimiento y al sustrato a proporcionar, que en el caso de un cultivo celular puede corresponder a glucosa. Por lo que, es posible implementar un soft sensor basado en SVR que estime la tasa de crecimiento del cultivo para luego obtener la cantidad de glucosa que se debe alimentar.

Para el desarrollo de un predictor basado en una herramienta de ML se requiere de múltiples datos que representen el comportamiento del parámetro de interés para entrenar la herramienta a utilizar [15, 21, 63]. En el caso de estudio, los datos se obtendrán desde de un modelo celular basado en el metabolismo del carbono para células CHO para obtener información de la glucosa así como de otras posibles variables de interés presentes en diferentes instantes de tiempo dentro del biorreactor.

3.1. Modelo del cultivo celular

Con el fin de simular datos experimentales de un cultivo celular en un biorreactor, se escoge un modelo matemático que represente la evolución de un cultivo de células CHO en operación fed-batch. Esta línea es escogida dado que es ampliamente utilizada en la industria con diversos fines [30] y por lo mismo presenta una amplia investigación y modelos previamente ajustados. Por otro lado, los cultivos en operación fed-batch presentan ventajas por sobre los batch en términos de tiempo de operación .

En una investigación realizada por S. Craven, se presenta un modelo matemático mecánico basado en un balance de masa a un biorreactor en operación *fed-batch* continua, que describe la evolución del cultivo celular en función de variables de estado como la concentración celular, glucosa, glutamina, lactato, amoníaco y un inhibidor desconocido [22]. Dentro de las principales características del modelo se encuentra que es del tipo no estructurado y no segregado, bajo el supuesto de un biorreactor perfectamente agitado, un estado cuasi estacionario para los metabolitos internos y un control perfecto para variables como el pH, temperatura y oxígeno disuelto [56]. Por último, considera que la capacidad del reactor es de 15 L y que existe una alimentación pero no una salida, asimismo se presentan términos asociados a la generación y consumo para cada una de las especies en el reactor [22].

El modelo a utilizar se encuentra basado en balances de masa, por lo que se presenta la ecuación general del balance de masa a continuación:

$$\text{Acumulación} = \text{Entradas} - \text{Salidas} + \text{Generación} - \text{Consumo} \quad (3.1)$$

Al realizar un balance de masa general en el reactor operando en modo *fed-batch* no se consideran salidas; manteniendo el término asociado a la entrada másica (\dot{M}_{in}) y a la acumulación ($\frac{dM}{dt}$), resultando en lo presentado en la Ecuación 3.2.

$$\frac{dM}{dt} = \dot{M}_{in} - \cancel{\dot{M}_{out}} \quad (3.2)$$

Luego, en términos de volumen el balance queda como se estipula en la Ecuación 3.3, donde ρ corresponde a la densidad, V el volumen y F el flujo de alimentación.

$$\frac{d(\rho \cdot V)}{dt} = \rho_{in} \cdot F_{in} \quad (3.3)$$

Si se considera que la densidad es constante en el sistema, se obtiene que la variación del volumen en función del tiempo está dada por el flujo de alimentación al reactor, como se muestra en la ecuación 3.4.

$$\frac{dV}{dt} = F_{in} \quad (3.4)$$

La alimentación propuesta considera una concentración de 653 mM de glucosa y 58.8 mM de glutamina, según lo presentado por Craven [22], por lo que en caso de existir una alimentación se tendrán entradas de ambas especies. Al realizar un balance de masa por especie en el biorreactor se consideran ecuaciones similares a la presentada en la ecuación 3.1, donde se analiza lo que ocurre particularmente con cada especie.

En primer lugar, se debe notar que no existen entradas ni salidas asociadas a las células presentes en el biorreactor. Sin embargo, la densidad celular presente se verá afectada por una tasa de crecimiento (μ), una tasa de muerte celular (k_d) y por una tasa de ruptura celular (K_{LYSIS}). La densidad celular total se puede separar en células viables (X_V) y células muertas (X_D), donde las células viables se verán aumentadas por μ y disminuidas por k_d ; mientras que las células muertas se verán aumentadas por k_d y disminuidas por K_{LYSIS} .

Por otro lado, se realizaron balances de masa a los metabolitos presentes en el reactor. En

el caso de la glucosa (G) y glutamina (Q), se debe considerar como entrada la alimentación por su contenido de estas especies. Adicionalmente, la glucosa y glutamina son consumidas por las células por lo que tienen un término de consumo asociado así como de mantención celular. En ambas ecuaciones se debe notar que en el caso de no presentar un flujo de alimentación al reactor, la concentración de estas especies disminuirá debido a los términos asociados al consumo; siendo posible alcanzar valores negativos para G y Q .

En cuanto a los términos asociados al lactato (L) y amoniaco (A), tras lo presentado en el Capítulo 2 estos son metabolitos resultantes del consumo de glucosa y glutamina respectivamente; por lo que se consideran términos de generación asociados al consumo de glucosa y glutamina, contemplando un término asociado a la degradación de glutamina en el sistema. Por otro lado, se considera adicionalmente un término asociado a un inhibidor desconocido (C_i) que posee un comportamiento similar al de L y A en el sentido que se genera a partir de la actividad celular. Se ha de mencionar que la concentración del inhibidor desconocido fue una variable introducida para explicar el comportamiento del cultivo en operación *fed-batch*, en comparación al caso Batch presentado en una investigación previa [56], dado que en el sistema existía un efecto inhibitorio adicional al presentado por el lactato y glutamina.

$$\frac{dX_T}{dt} = \mu \cdot X_V - K_{LYSIS} \cdot X_D - X_T \cdot \frac{F}{V} \quad (3.5)$$

$$\frac{dX_V}{dt} = (\mu - k_d) \cdot X_V - X_V \cdot \frac{F}{V} \quad (3.6)$$

$$\frac{dX_D}{dt} = (k_d - K_{LYSIS}) \cdot X_V - X_D \cdot \frac{F}{V} \quad (3.7)$$

$$\frac{dG}{dt} = \frac{F}{V} \cdot (S_G - G) - \left(m_G + \frac{\mu}{Y_{X/G}} \right) \cdot X_V \quad (3.8)$$

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{F}{V} \cdot (S_Q - Q) - \left(m_Q + \frac{\mu}{Y_{X/Q}} \right) \cdot X_V - k_{d,Q} \cdot Q \quad (3.9)$$

$$\frac{dL}{dt} = Y_{L/G} \cdot \left(m_G + \frac{\mu}{Y_{X/G}} \right) - L \cdot \frac{F}{V} \quad (3.10)$$

$$\frac{dA}{dt} = Y_{A/Q} \cdot \left(m_Q + \frac{\mu}{Y_{X/Q}} \right) + k_{d,Q} \cdot Q - A \cdot \frac{F}{V} \quad (3.11)$$

$$\frac{dC_i}{dt} = q_i \cdot X_V - C_i \cdot \frac{F}{V} \quad (3.12)$$

En las ecuaciones 3.5-3.12 se presenta el modelo de S. Craven para un cultivo de células CHO en operación *fed-batch*, donde X_T , X_V y X_D corresponden a la densidad celular en células/L de células totales, de células viables y células muertas respectivamente. Mientras que G , Q , L , A y C_i representan las concentraciones en mmol/L de glucosa, glutamina, lactato, amoniaco y un inhibidor desconocido respectivamente. En cuanto a los parámetros presentes, K_{LYSIS} corresponde a la tasa de ruptura celular en h^{-1} , S_G y S_Q corresponden a las concentraciones en mM de glucosa y glutamina en la alimentación respectivamente, m_G y m_Q corresponden a los coeficientes de mantención de glucosa y glutamina respectivamente en mmol/célula, $Y_{X/G}$ y $Y_{X/Q}$ corresponden al rendimiento de células a partir de glucosa y células a partir de glutamina respectivamente en células/mmol, $Y_{L/G}$ y $Y_{A/Q}$ corresponden

a las razones estequiométricas de lactato a partir de glucosa y de amoniaco a partir de glutamina respectivamente en mmol/mmol, $k_{d,Q}$ corresponde al grado de degradación de la glutamina en h^{-1} y q_i corresponde a la tasa de producción específica del inhibidor. Por último, F representa el flujo de alimentación al reactor en L/h y V el volumen del reactor en L [22].

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \cdot G \cdot Q \cdot (C_i^* - C_i)}{C_i^* \cdot (K_G + G) \cdot (K_Q + Q) \cdot \left(\frac{L}{K_L} + 1\right) \cdot \left(\frac{A}{K_A} + 1\right)} \quad (3.13)$$

$$k_d = k_{d,\max} \cdot \left(\frac{k_\mu}{\mu + k_\mu}\right) \quad (3.14)$$

Las expresiones asociadas a la tasa de crecimiento (μ) en h^{-1} y tasa de muerte (k_d) en h^{-1} se encuentran presentadas en las ecuaciones 3.13 y 3.14, donde μ_{\max} representa la tasa de crecimiento máxima en h^{-1} , C_i^* es la concentración de saturación del inhibidor desconocido en mM, K_G la constante de saturación de la glucosa en mM, K_Q la constante de saturación de la glutamina en mM, K_L la constante de saturación del lactato en mM y K_A la constante de saturación del amoniaco en mM, $k_{d,\max}$ la tasa máxima de muerte celular en h^{-1} y k_μ la tasa de muerte intrínseca en h^{-1} . La tasa de crecimiento específica ha sido establecida a partir de la relación de dependencia con el sustrato, siendo representada por una expresión del tipo Monod. Se ha de notar que para el caso de análisis el sustrato corresponde a glucosa y glutamina, que producen como subproducto lactato y amoniaco a partir de su consumo, los cuales presentan un efecto inhibidor [56].

Tabla 3.1: Parámetros del modelo Fed Batch presentado por Craven [22].

Parámetro	Unidad	Valor
$k_{d,Q}$	h^{-1}	0.001
m_G	mmol cell^{-1}	1.4×10^{-10}
$Y_{A/Q}$	-	0.90
$Y_{L/G}$	-	2.0
$Y_{X/G}$	cells mmol^{-1}	1.70×10^8
$Y_{X/Q}$	cells mmol^{-1}	1.3×10^9
K_L	mM	150
K_A	mM	40
$k_{d,\max}$	h^{-1}	0.01
μ_{\max}	h^{-1}	0.04
K_G	mM	1.0
K_Q	mM	0.22
m_Q	$\text{mmol cell}^{-1}\text{h}^{-1}$	7.0×10^{-10}
k_μ	h^{-1}	0.01
K_{LYSIS}	h^{-1}	0
C_i^*	mM	100
q_i	$\text{mmol cell}^{-1}\text{h}^{-1}$	3.5×10^{-10}

Cada uno de los parámetros mencionados anteriormente fueron ajustados en la investigación de Craven [56], estos valores y sus respectivas unidades se presentan en la Tabla 3.1 correspondientes al modelo para un reactor de 15 L de capacidad y condiciones iniciales para el cultivo de: $X_V=0.3 \times 10^9$ células/L, $G=18$, $Q=4$, $L=0.1$ y $A=1.7$.

A partir de los valores presentados en la Tabla 3.1 se puede ver que para valores altos de G y A resulta despreciable el efecto de estas especies en la expresión asociada a μ . Por otro lado, al revisar la ecuación 3.12 se puede ver que no existe un término de consumo asociado al inhibidor desconocido, por lo que es posible que esta variable alcance valores iguales o superiores a la concentración de saturación. A raíz de esto, es importante notar que al superar el valor de C_i^* se tiene un cambio de signo en la tasa de crecimiento, lo cual aceleraría la muerte celular de las células viables. Se debe notar que la magnitud que presenta q_i es del orden de 10^{-10} , por lo que al mantener una densidad celular inferior a este orden no se presentará un cambio de signo para μ .

Cabe mencionar que, en virtud de las ecuaciones es posible alcanzar valores negativos para las variables de estado, lo cual carece de sentido físico. Por ejemplo, si la glucosa alcanza una magnitud de 0 el término asociado a mantención y dilución provocarán valores negativos en pasos posteriores. Es por ello que, se incluye una condición adicional al modelo que evite alcanzar estos valores negativos, esta restricción se encuentra asociada a asignar un valor 0 a valores de concentración cercanos a 0.

Al analizar otros términos del modelo, se puede ver que la constante K_{LYSIS} presenta un valor nulo, con lo cual la ecuación 3.5 se ve influenciada por el término μ y el de dilución, mientras que la ecuación 3.7 por el término k_d y el de dilución.

3.2. Elaboración sets de datos

En literatura se encuentran disponibles múltiples investigaciones relacionadas a cultivos celulares en los cuales los tiempos o intervalos de muestreo difieren entre sí. Al centrarse en la toma de muestras de densidades celulares para células CHO en operación fed-batch se han presentado investigaciones con intervalos de 15 minutos utilizando emisores y receptores de luz infrarroja [81]. En otras investigaciones se han indicado intervalos de muestreo de 12 horas [82], de 24 horas [60, 83] y unos menos específicos como muestreos diarios [22, 73, 84–86] y dos veces al día [87].

Por otro lado, al centrarse en las concentraciones de metabolitos como la glucosa, glutamina, lactato y amoníaco se han encontrado intervalos de mediciones de 12 horas [81], 24 horas [60, 83] y también mediciones diarias [73, 84]. A modo resumen, se presenta la Tabla 3.2 para visualizar la información anteriormente planteada, donde cada una de las investigaciones fueron realizadas para células CHO en operación fed-batch.

Tabla 3.2: Intervalos de muestreo encontrados en literatura para cultivos de células CHO en operación fed-batch.

Variable de medición	Intervalo	Referencia
Densidad celular	15 min	[81]
Densidad celular	12 h	[82]
Densidad celular	24 h	[60, 83]
Densidad celular	Diariamente	[22, 73, 84–86]
Densidad celular	2 veces al día	[87]
Glucosa	12 h	[81]
Metabolitos	24 h	[60, 83]
Metabolitos	Diariamente	[73, 84]

En virtud de lo presentado anteriormente, la toma de datos experimentales en el contexto de cultivos celulares mamíferos presenta amplias ventanas, siendo una toma de muestras común cada 12 o 24 horas. Con el fin de representar la realidad en un caso ideal y otro realista, se escoge realizar 3 muestreos diferentes para los experimentos a simular considerando intervalos de: 4, 12 y 24 horas.

Por otro lado, es necesario definir las condiciones iniciales a considerar para la simulación de cada experimento. A partir del modelo a utilizar presentado en la sección 3.1 se ha de notar que las variables a definir se ven representadas por las densidades celulares, las concentraciones de glucosa, glutamina, lactato y amoníaco, junto con el volumen presente en el reactor.

Tras una revisión bibliográfica se ha encontrado que es común utilizar densidades celulares iniciales de un orden de 10^5 a 10^9 para células CHO en operación fed-batch. Particularmente, en una investigación realizada por Masuda para la producción de anticuerpos monoclonales se indicaron concentraciones celulares iniciales 3×10^5 y 9×10^5 células/L [88]. Mientras que, Craven presenta un experimento con una concentración celular inicial de aproximadamente 0.5×10^9 [22] y de 0.3×10^9 células/L [56]. Asimismo, otros autores han indicado densidades celulares iniciales de 0.3×10^6 células/L aproximadamente [83, 89–91], 0.5×10^6 células/L aproximadamente [86] y 1.5×10^6 células/L aproximadamente [31]. Respecto a la concentración de células muertas inicial, Ohadi indica que esta tiene un valor de 0 células/L [91]. En la Tabla 3.3 se presenta un resumen de las condiciones iniciales encontradas en literatura para células CHO en operación fed-batch.

Tabla 3.3: Condiciones iniciales para densidad celular en células/L encontradas en literatura para cultivos de células CHO en operación fed-batch.

Densidad celular [células/L]	Referencia
3×10^5	[83, 88–91]
5×10^5	[86]
9×10^5	[88]
1.5×10^6	[31]
0.3×10^9	[56]
0.5×10^9	[22]

En una investigación realizada por Martinez-Monge para un cultivo celular CHO se consideraron condiciones iniciales de 32, 34 y 35 mM aproximadamente para la glucosa [83]. Domján por su parte, indica concentraciones iniciales de glucosa de 40 y 42 mM [89]. Por otro lado, Craven presenta una concentración inicial de aproximadamente de 18, 20, 22 y 30 mM en una primera investigación [56] y de aproximadamente 17 y 21 mM en una segunda investigación [22]. En [86] se presenta un valor inicial de 5 mM en el cultivo, manteniendo este valor adicionando diariamente glucosa. Por último, Ohadi presenta condiciones iniciales de glucosa de 25, 35 y 45 [91]. En cuanto a la presencia de glutamina al iniciar un cultivo celular, se han encontrado valores iniciales de 0 [91], 4 [22, 56, 89, 91], 5 [56], 8 [83, 91] y 10 mM [83]. En la Tabla 3.4 se presenta un resumen de las concentraciones iniciales encontradas en literatura para la glucosa y glutamina en cultivos de células CHO en operación fed-batch.

Tabla 3.4: Concentraciones iniciales para glucosa y glutamina en mM encontradas en literatura para cultivos de células CHO en operación fed-batch. A la izquierda, se presentan los valores para glucosa y a la derecha los valores para glutamina.

Glucosa [mM]	Referencia	Glutamina [mM]	Referencia
5	[86]	0	[91]
17–18	[22, 56]	4	[22, 56, 89, 91]
20–22	[22, 56]	5	[56]
25	[91]	8	[83, 91]
30	[56]	10	[83]
32–35	[83, 91]		
40–42	[89]		
45	[91]		

En el modelo a utilizar, también se contemplan concentraciones de lactato y amoníaco, los cuales corresponden a inhibidores del crecimiento según se reporta en literatura. En literatura se han encontrado cultivos que inicialmente contienen un valor cercano a 0 mM de lactato [22, 56, 83, 86, 89] y de aproximadamente 0 [83, 86, 89] y 1.5 mM de amoníaco [22, 56]. En la Tabla 3.5 se presenta un resumen de las concentraciones iniciales encontradas en literatura para lactato y amoníaco en cultivos de células CHO en operación fed-batch.

Tabla 3.5: Condiciones iniciales para lactato y amoniaco en mM encontradas en literatura para cultivos de células CHO en operación fed-batch. A la izquierda, se presentan los valores para lactato y a la derecha los valores para amoniaco.

Lactato [mM]	Referencia	Amoniaco [mM]	Referencia
~ 0	[22, 56, 83, 86, 89]	0	[83, 86, 89]
		1.5	[22, 56]

Es importante mencionar que el inhibidor desconocido es propio del modelo presentado por Craven, en el cual no se incluye un valor inicial para esta variable. Sin embargo, debido a que este inhibidor es un subproducto del metabolismo celular [22], se consideraran concentraciones nulas para esta variable al iniciar el cultivo. La consideración de C_i en la estructura de estudio es necesaria para poder implementar este modelo bajo una condición de operación fed-batch que represente un escenario experimental real previamente calibrado, donde la tasa de crecimiento está definida en función de esta variable.

A partir de lo presentado, se establecen 10 escenarios diferentes de simulación con las condiciones iniciales presentadas en la Tabla 3.6, los cuales corresponden a los sets de datos a utilizar. Cabe mencionar que, los escenarios 1 al 8 se encuentran presentes en las investigaciones anteriormente mencionadas, mientras que el 9 y 10 se encuentran basados en la información proporcionada por los autores.

Tabla 3.6: Condiciones iniciales establecidas para los escenarios de simulación. Las densidades celulares (X_T , X_V y X_D) se encuentran en células/L y las concentraciones de especies (G , Q , L , A y C_i) se encuentran en mM.

Escenario	X_T	X_V	X_D	G	Q	L	A	C_i	Referencia
1	0.5×10^9	0.5×10^9	0	20	3.2	0	1.5	0	[22]
2	0.3×10^9	0.3×10^9	0	29	4.8	0	1	0	[56]
3	0.3×10^9	0.3×10^9	0	22	3.9	0.1	1	0	[56]
4	0.3×10^9	0.3×10^9	0	20	3.5	0.1	1.4	0	[56]
5	0.3×10^9	0.3×10^9	0	18	4	0.1	1.7	0	[56]
6	0.5×10^6	0.5×10^6	0	32	10	0	0	0	[89]
7	0.1×10^6	0.1×10^6	0	35	10	0	0	0	[83]
8	0.1×10^6	0.1×10^6	0	32	8	0	0	0	[83]
9	3×10^8	3×10^8	0	15	3.5	0.1	1.1	0	-
10	0.3×10^6	0.3×10^6	0	10	0.2	0.05	0	0	-

3.3. Elaboración sistema de control clásico

Como se mencionó anteriormente en la discusión bibliográfica, la familia de controladores PID es comúnmente utilizada en la industria por su simpleza y robustez. Con el fin de analizar y comparar el comportamiento de un sistema de control clásico se implementará un lazo de control proporcional, proporcional integral y proporcional integral derivativo en el modelo presentado en la Sección 3.1.

En el área de bioprocesos se ha utilizado controladores de la familia PID para un cultivo de células madres sanguíneas, cuya implementación fue realizada en matlab [92].

Como fue mencionado anteriormente, una variable de control comúnmente utilizada en los cultivos celulares es la concentración de glucosa, buscando mantenerla en un valor establecido. Particularmente, Craven y Domján presentaron investigaciones relacionadas a cultivos celulares CHO en el cual establecieron como objetivo de control mantener la concentración de glucosa al rededor de un valor de 11 mM [22, 89].

En función de lo anterior, se define que el objetivo de control es mantener la concentración de glucosa en un determinado valor. Con ello, la variable a controlar dentro del sistema será la glucosa, estableciendo como set point una concentración de 11 mM; donde la variable manipulable corresponde a la alimentación del biorreactor compuesta por glucosa y glutamina. El lazo de control anteriormente descrito se presenta en la Figura 3.1 de forma simplificada, donde G_{sp} representa el set point de concentración de glucosa, F el flujo a alimentar y G la concentración de glucosa. Cabe mencionar que, el proceso está definido a partir del modelo anteriormente planteado, incluyendo las expresiones para μ y k_d . Además, se utilizará el *software Matlab* para implementar el sistema de control debido a su disponibilidad y conocimiento previo.

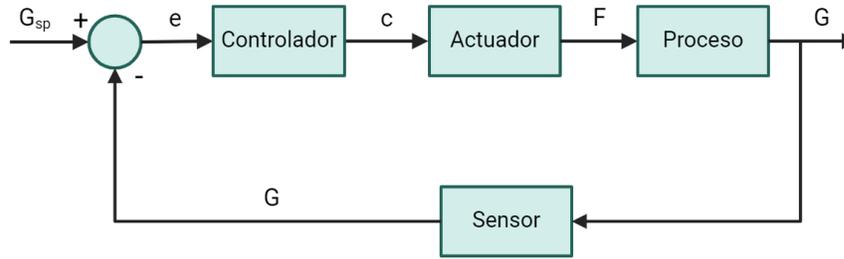


Figura 3.1: Lazo de control a implementar, donde G representa la concentración de glucosa en mM, G_{sp} representa el set point de concentración de glucosa en mM, e representa la diferencia entre G_{sp} y G , c corresponde a la acción de control y F representa la alimentación a suministrar en L/h. Elaboración propia.

Con el fin de ajustar los parámetros del controlador PID se minimizó la integral del error cuadrático (ISE), la integral del error absoluto (IAE) y la integral del error absoluto ponderado por el tiempo (ITAE), los cuales son presentados en las ecuaciones 3.15, 3.16 y 3.17 respectivamente.

$$ISE = \int_0^t e(t)^2 dt = \int_0^t (G_{sp} - G)^2 dt \quad (3.15)$$

$$IAE = \int_0^t |e(t)| dt = \int_0^t |G_{sp} - G| dt \quad (3.16)$$

$$ITAE = \int_0^t t|e(t)| dt = \int_0^t t|G_{sp} - G| dt \quad (3.17)$$

Estos 3 criterios representan índices del desempeño de un sistema de control, donde para

el criterio ISE presenta una mayor sensibilidad a valores que se encuentren lejanos al set point, el criterio IAE cuantifica únicamente la separación de los datos y el criterio ITAE además de cuantificar la separación de los datos les asigna un mayor peso a aquellos errores que persisten en el tiempo [22].

3.4. Elaboración Soft Sensor

Los Soft Sensor son utilizados para predecir variables de difícil obtención a partir de modelos de primer principio o puramente datos, incluyendo en este último técnicas asociadas a ML como redes neuronales, Support Vector Machine, Gaussian Processes Regression, entre otros [80].

El presente trabajo se enfoca en la aplicación de SVM para predecir una variable relacionada al cultivo celular y así obtener una estrategia de alimentación al reactor. En la investigación de Yeh [72] se implementó Support Vector Machine como herramienta de regresión para predecir la tasa de crecimiento de un cultivo de microalgas en un instante i a partir de la concentración de biomasa presente en el cultivo en el instante i y del historial de intensidad lumínica recibida por el cultivo en un intervalo de 12 horas.

A partir de una revisión de literatura se identifica que la implementación de SVR requiere definir una función del Kernel adecuada, teniendo opciones como Gausiana, Lineal, Polinomial y Sigmoide; siendo la función gaussiana la con mayor exactitud [71] y más adecuada en casos no lineales [93]. En Yeh [72] especifican que utilizan una función de Kernel Gausiana, junto a un Kernel Scale de 2.2 y una estandarización de los datos con el promedio y desviación estándar de cada característica.

La elección de los parámetros asociados al SVM no presenta un método específico y está ligado a los datos experimentales [94]. En algunas investigaciones se ha mencionado que es posible mejorar el desempeño del modelo mediante la optimización de hiperparámetros [95, 96]. El desempeño de modelos basados en SVM o SVR se ve afectado en gran medida por la selección de hiperparámetros, los cuales pueden ser optimizados utilizando la toolbox de optimización de Matlab. Sin embargo, debido al método de validación cruzada que utiliza, existe un gran dominio de soluciones posibles [95].

Al revisar la documentación de matlab asociada a SVR se menciona que los hiperparámetros optimizables asociados a modelos basados en SVR corresponden a la función del Kernel, el Box Constraint, la escala del Kernel, epsilon y si la estandarización de los datos. Además, el método de optimización por defecto corresponde a la optimización Bayesiana, teniendo como posibilidad adicional Grid search o Random Search. Otras características atribuibles al optimizador corresponden a la función de adquisición, el número de iteraciones, el tiempo de entrenamiento y el número de divisiones en la grilla.

Al implementar herramientas de ML es necesario entrenar el modelo y posteriormente validarlo para evitar un sobreajuste y revisar su capacidad de generalización. Para ello, el set de datos suele ser fraccionado en dos partes, destinando un 70-80 % de los datos para entrenamiento y un 20-30 % para validación [72]. En una investigación realizada por Jueyendah [71] relacionada a la implementación de SVR para la predicción de las propiedades mecánicas

del cemento a partir de las características de la mezcla menciona una división de 80% de los datos destinados a entrenamiento y un 20% para validación. Otras investigaciones con aplicaciones de SVR mencionan la división por operación batch, destinando 7 batches para el entrenamiento y 4 para la validación [97].

Se debe tener en consideración que para evaluar el soft sensor diseñado, se suelen utilizar criterios como el de error de raíz cuadrada media (RMSE), el coeficiente de correlación (R^2), el error promedio porcentual absoluto (MAPE) y el error cuadrático medio (MSE) [71]. Estos criterios se presentan en las ecuaciones 3.18, 3.19, 3.20 y 3.21 respectivamente, donde n , t , y o representan el número total de datos, el valor de la variable experimental y el valor predicho respectivamente.

$$\text{RMSE} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (t_i - o_i)^2} \quad (3.18)$$

$$R^2 = 1 - \left(\frac{\sum_{i=1}^n (t_i - o_i)^2}{\sum_{i=1}^n (o_i)^2} \right) \quad (3.19)$$

$$\text{MAPE} = \frac{1}{2} \left(\sum_{i=1}^n \left| \frac{t_i - o_i}{t_i} \right| \right) \quad (3.20)$$

$$\text{MSE} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (t_i - o_i)^2 \quad (3.21)$$

A partir de lo anteriormente mencionado, se implementará SVR para predecir la tasa de crecimiento, con una función del kernel Gaussian. Adicionalmente, se considera un escala del kernel de 2.2 y una estandarización de los datos al igual que en el trabajo de Yeh [72] donde se predice la tasa de crecimiento en un cultivo de microalgas.

Con el fin de obtener un mejor acercamiento a los hiperparámetros que mejor describan μ a partir de los set de datos utilizados, se implementa la optimización de hiperparámetros integrada en matlab para comparar el caso original con el optimizado. Para ello se optimiza la búsqueda del valor de epsilon, la escala del kernel y el box Constraint, definiendo la función gaussiana como función del kernel y especificando la estandarización de los datos.

Para la distribución del set de datos, se selecciona el escenario 4 para la validación. Con ello, los escenarios 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 son utilizados para entrenar el predictor. Si bien la proporción de escenarios no corresponde con lo presentado en literatura, permite evaluar el desempeño del predictor de forma directa en un escenario diferente.

Para el predictor, se establece utilizar distintas combinaciones de variables en la entrada. En específico, se considerarán 3 casos:

- **Caso 1:** Todas las variables de estado (X_V , X_D , G , Q , L , A y C_i).
- **Caso 2:** Las concentraciones en el reactor medibles (G , Q , L , A).
- **Caso 3:** Las concentraciones de dos variables por definir mediante un análisis utilizando R.

Cabe mencionar que, en el caso 1 no se considera X_T debido a que esta variable corresponde a la suma de las variables X_V y X_D , por lo que su utilización sería redundante. En el caso 2, se consideran las concentraciones de G , Q , L y A dado que son variables posibles de medir, dejando C_i de lado por ser una especie no medible y utilizada para ajustar el modelo inicial a los datos experimentales. Por último, la selección del caso 3 surge a partir de explorar la posibilidad de utilizar un número de variables reducido que permita representar el sistema; estas variables serán escogidas utilizando R a partir de la combinación que permita describir de mejor forma los datos. Por otro lado, el soft sensor presenta una única salida correspondiente a la variable μ . Con ello, se obtendrían 3 predictores para μ .

En la Figura 3.2 se presenta la estructura de la obtención del predictor propuesto, la cual se puede dividir en 2 fases. En primer lugar, la fase de obtención de datos donde a partir del modelo de Craven [22] se obtienen los datos experimentales asociados a las densidades celulares (en células/L) y concentraciones al interior del reactor (en mM) junto con los valores de las tasas de crecimiento y muerte celular. Luego, en la fase de entramiento los datos almacenados serán utilizados para entrenar el soft sensor, donde las variables de estado a utilizar serán establecidas según el caso 1, 2 y 3, y obtener la predicción de μ .

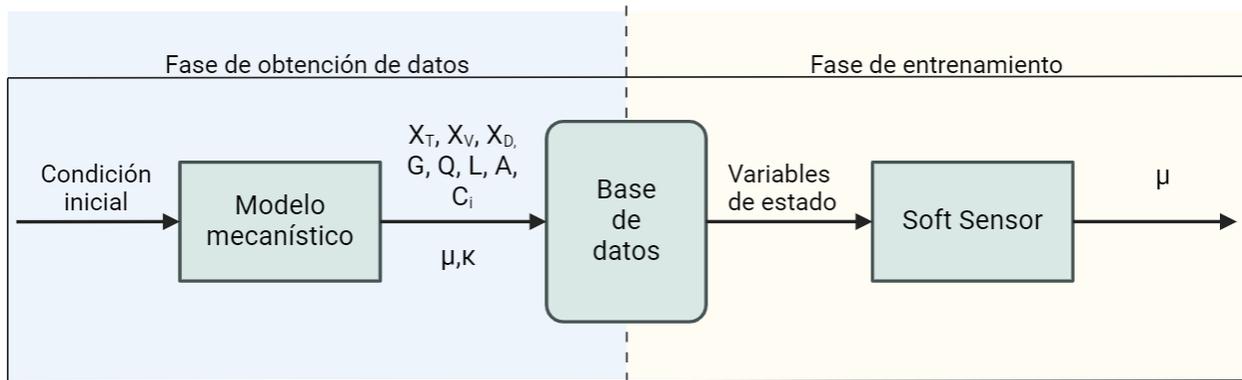


Figura 3.2: Estructura de obtención del Soft Sensor propuesto, donde en la fase de obtención de datos se utiliza el modelo mecanístico de Craven [22] para simular datos experimentales y en la fase de entrenamiento se utilizan los datos experimentales para predecir μ según los casos establecidos. Elaboración propia.

Por otro lado, como se mencionó anteriormente, se han considerado tres situaciones de tiempo de muestreo diferentes. Con ello, se tienen tres predictores a partir de mediciones cada 4, 12 y 24 horas, para cada uno de los casos propuestos según la información proporcionada para la predicción.

Con el fin de comparar el comportamiento del predictor diseñado a partir de SVM, se implementa el soft sensor en el lazo de control establecido en la sección 3.3. En la Figura 3.3 se presenta el lazo de control con el soft sensor implementado, donde μ es predecido y utilizado en el balance de masa. Con ello, se obtiene la estrategia de alimentación sugerida que luego es implementada en el sistema para ver su comportamiento.

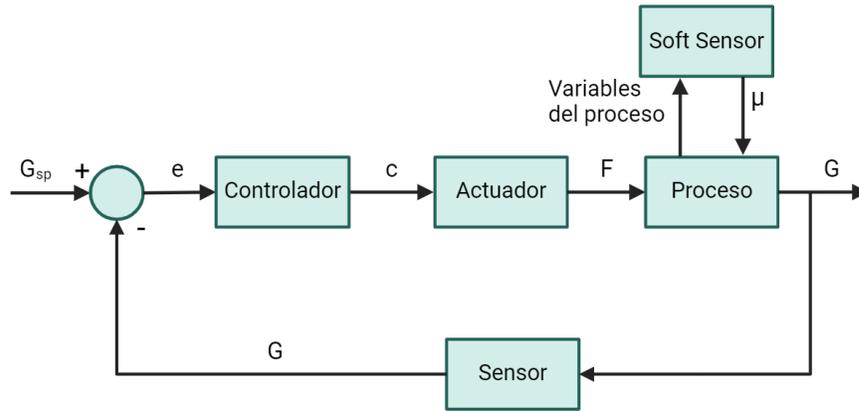


Figura 3.3: Lazo de control a implementar con Soft Sensor para predecir μ , donde G representa la concentración de glucosa en mM, G_{sp} representa el set point de concentración de glucosa en mM, e representa la diferencia entre G_{sp} y G , c corresponde a la acción de control y F representa la alimentación a suministrar en L/h. Elaboración propia.

Capítulo 4

Resultados

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos en el trabajo de título los cuales serán discutidos más adelante en el Capítulo de discusiones. La primera sección abarca el comportamiento del modelo utilizado, la segunda sección se ve relacionada con los sets de datos a utilizar, la tercera sección aborda la implementación de un sistema de control PID y la cuarta sección incluye los resultados asociados al predictor de μ utilizando SVR.

4.1. Modelo del cultivo celular

A partir de lo presentado en la Tabla 3.6 se puede ver que, para el experimento 4, inicialmente existe presencia de glucosa, glutamina, amoníaco y lactato, y que la glucosa disponible tiene un valor por sobre el set point. Además, las densidades celulares tienen una magnitud del orden de 10^9 células/mL.

Con el fin de comparar los modelos presentados por Craven para operación Batch [56] y operación Fed-Batch [22] se realiza la simulación de un cultivo Batch utilizando ambos modelos. En el caso de considerar el modelo en operación batch el desarrollo del cultivo ocurrirá hasta agotar la glucosa disponible en el sistema, ya que no existe una tasa de alimentación. Este caso se presenta en la Figura 4.1, donde se puede ver que la glucosa y glutamina disminuyen en función del tiempo, para esta simulación se consideró el modelo presentado en el Anexo A el cual fue establecido para una operación Batch.

En el gráfico asociado a la glucosa y lactato, presentado en la Figura 4.1, se puede ver que la glucosa disminuye su concentración hasta un valor cercano a 0 mM, lo cual ocurre aproximadamente a las 100 horas manteniendo este valor en el tiempo sin realizar modificaciones en el modelo. Mientras que, la concentración de lactato aumenta su valor hasta alcanzar un valor constante cercano a 32 mM aproximadamente a las 100 horas.

En cuanto a la glutamina y amoníaco, se exhibe un comportamiento similar a la relación entre la glucosa y lactato donde la glutamina disminuye su concentración hasta un valor de 0.5 mM aproximadamente y el amoníaco aumenta su concentración hasta una magnitud de 3.55 mM aproximadamente.

Por otro lado, el valor de μ se ve disminuido a medida que avanza el tiempo alcanzando un valor cercano a 0 h⁻¹ aproximadamente a las 100 horas, coincidente con el comportamiento de

la curva de glucosa. Mientras que, k_d aumenta a medida que avanza el tiempo hasta alcanzar un valor constante de 0.0101 h^{-1} .

En cuanto a las densidades celulares se tiene un crecimiento exponencial de las células viables hasta las 100 horas aproximadamente, momento en el cual se alcanza un máximo en la cantidad de células viables. Este comportamiento es coincidente con el agotamiento de glucosa en el sistema y con la magnitud μ . Por otro lado, las células muertas aumentan su concentración con una menor velocidad que las células viables; teniendo un máximo a las 120 horas aproximadamente, instante a partir del cual la densidad celular de células muertas comienza a disminuir. Esto último se ve relacionado a la definición del modelo en operación Batch, donde se utiliza una constante K_{LYSIS} de 0.004 h^{-1} asociada a la ruptura celular.

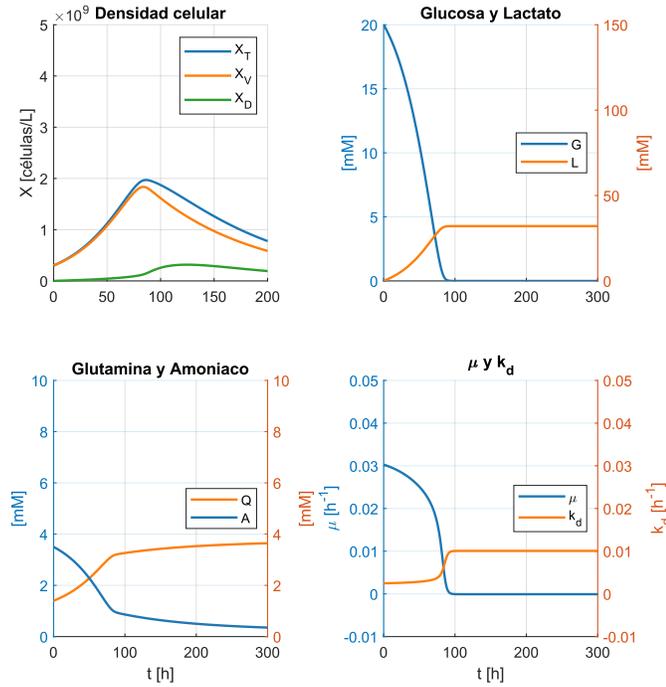


Figura 4.1: Simulación escenario 4 en operación batch. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Al considerar el modelo Fed-Batch sin una alimentación, se obtuvieron los gráficos presentados en la Figura 4.2. A partir de lo presentado, se puede notar que la simulación se ve interrumpida aproximadamente a las 65 horas luego de que las células viables hayan aumentado su densidad celular hasta un valor de 1.8×10^9 células/L para luego disminuir de forma abrupta; las células muertas también exhiben un aumento en función del tiempo hasta aumentar de forma abrupta, instante en el cual la simulación se detiene. Al observar las concentraciones en el reactor, se puede ver que las concentraciones de glucosa y glutamina disminuyen en función del tiempo mientras que el lactato, amoniaco y el inhibidor desconocido aumentan su valor; además, se puede ver que la glucosa alcanza valores negativos antes de detener la simulación. Por último, μ disminuye en función de tiempo teniendo una

disminución abrupta a las 65 horas aproximadamente; mientras que k_d aumenta su valor en función del tiempo teniendo un aumento abrupto aproximadamente a las 65 horas.

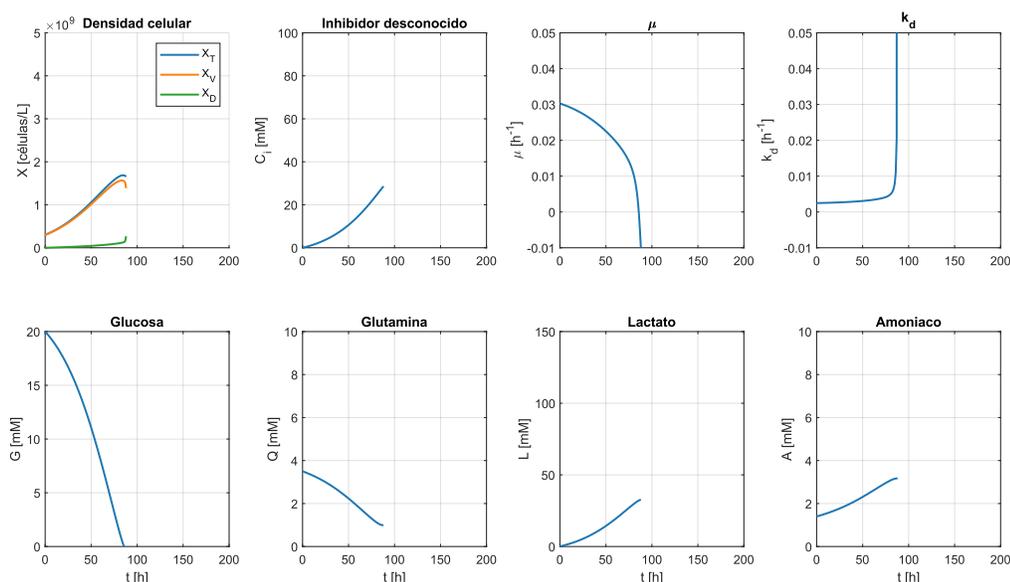


Figura 4.2: Simulación escenario 4 utilizando el modelo fed-batch considerando una operación batch. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

En virtud de lo anterior, se incluyó un criterio ante concentraciones cercanas a cero (del orden de 10^{-3}) para condicionar que la derivada tenga una magnitud 0 al acercarse a este valor, dado que en un escenario real las células no podrán consumir glucosa no disponible en el sistema. Con esta consideración, se obtuvieron los resultados presentados en la Figura 4.3 con lo cual la glucosa no alcanza valores negativos como ocurre en la Figura 4.2, permitiendo que el cultivo pueda ser modelado por más tiempo para poder observar la trayectoria del resto de las variables una vez agotada la glucosa.

Al establecer un mismo tiempo de operación que en el caso Batch, se puede ver que los resultados difieren de los presentados en la Figura 4.1. En primer lugar, se observa que la densidad celular total alcanza un máximo por sobre 2×10^9 que se ve sostenido en el tiempo, en comparación a lo presentado en la Figura 4.1 donde la densidad celular aumenta hasta alcanzar un máximo inferior a 2×10^9 para luego disminuir. Por otro lado, las células viables mantienen un máximo similar al caso Batch, cercano a 1.8×10^9 , teniendo como diferencia que el máximo en la Figura 4.3 se alcanza aproximadamente a las 60 horas mientras que en el modelo Batch se alcanza a las 80 horas aproximadamente. Por último, las células muertas presentan un comportamiento inicial similar al del caso Batch hasta las 60 horas aproximadamente, momento en el cual la densidad celular aumenta hasta alcanzar un valor cercano a 2×10^9 células/L, a diferencia de lo presentado en la Figura 4.1 donde la curva decrece aproximadamente a las 130 horas de iniciado el cultivo.

Al observar las concentraciones en el reactor se puede ver que la concentración de glucosa y glutamina disminuyen en función del tiempo hasta alcanzar un valor cercano a 0 mM, siendo G agotado aproximadamente a las 70 horas. Mientras que, la concentración de lactato, amoniaco e inhibidor desconocido aumentan en función del tiempo hasta alcanzar valores cercanos a 85, 4.5 y 82 mM respectivamente.

En el caso de μ , se puede ver que presenta un valor inicial cercano a 0.04 h^{-1} , que disminuye hasta una magnitud de 0 h^{-1} , el cual es alcanzado a las 70 horas de iniciado el cultivo. Mientras que, k_d presenta un valor inicial de 0.002 h^{-1} , que aumenta hasta un valor de 0.01 h^{-1} .

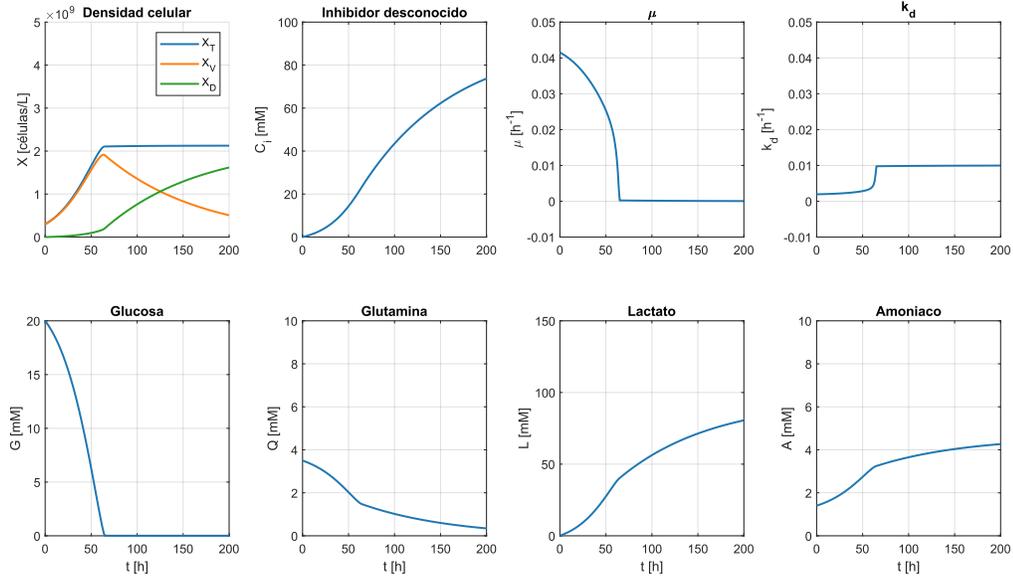


Figura 4.3: Simulación escenario 4 en operación fed-batch sin alimentación con modificación. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Al emplear el modelo en operación fed-batch, con la modificación para la concentración de glucosa, considerando una alimentación de leve magnitud para ver cómo responde el sistema en esta situación, se obtuvieron los resultados presentados en la Figura 4.4, donde se puede ver que la tasa de crecimiento presentada alcanza un valor negativo al rededor de las 130 horas manteniendo el signo en el tiempo. Mientras que, k_d aumenta hasta alcanzar un máximo de magnitud 0.033 h^{-1} aproximadamente.

En cuanto a las concentraciones de glucosa y glutamina se tiene que estas presentan un aumento inicial hasta un valor de 25.378 y 3.770 mM respectivamente, disminuyendo hasta un valor de 6 y 2 mM aproximadamente, para luego aumentar su concentración hasta 16 y 3.8 mM para G y L respectivamente. Mientras que el lactato alcanza una concentración de aproximadamente 150 mM y el amoniaco aumenta hasta alcanzar un valor de 6.710 mM.

Por otro lado, se puede ver que la concentración de C_i sobrepasa el valor de 100 mM correspondiente a la concentración de saturación de esta especie, lo cual es coincidente con

el instante en que μ cambia de signo. A raíz de esto, se incluye una condición para que en caso de superar el valor de 99 mM de C_i , establecer que su derivada asociada tenga un valor de 0 para evitar el cambio de signo en μ .

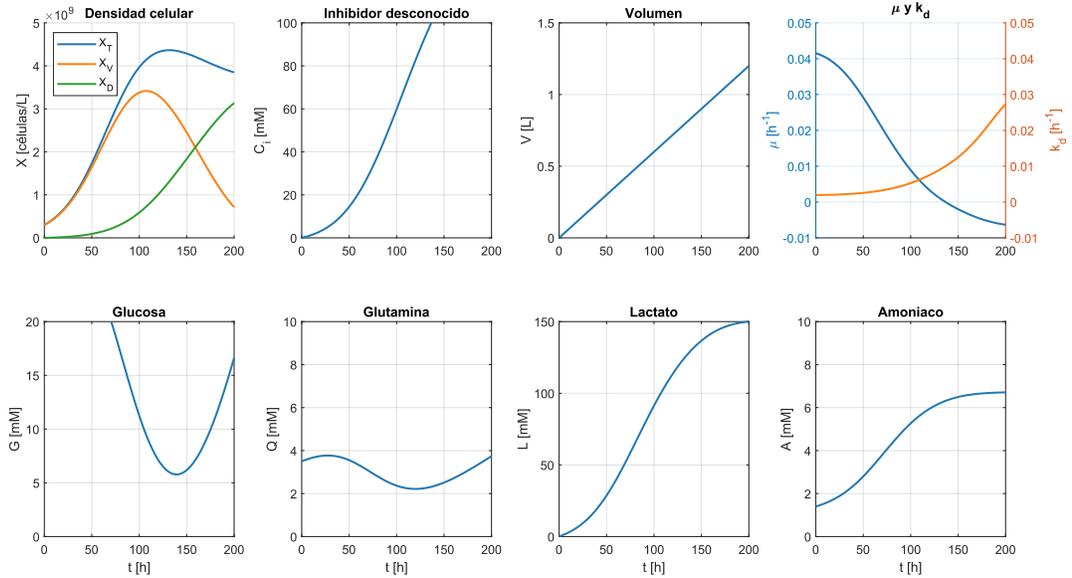


Figura 4.4: Simulación del escenario 4 en operación fed-batch con alimentación constante de 0.006 L/h. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Al incluir la condición asociada a la concentración de C_i se obtuvieron los gráficos presentados en la Figura 4.5, donde se puede ver que una vez que la concentración de C_i alcanza un valor cercano a los 100 mM este deja de aumentar. Por otro lado, el gráfico asociado a μ no presenta un cambio de signo, manteniendo un valor cercano a 0 h^{-1} hasta el fin de la simulación. Asimismo, el comportamiento de k_d aumenta hasta alcanzar un valor cercano a 0.01 h^{-1} a las 120 horas aproximadamente, coincidente con el instante en que el crecimiento alcanza un valor cercano a 0 h^{-1} .

En cuanto a las concentraciones al interior del reactor, se puede ver que tanto la glucosa como la glutamina aumentan su magnitud inicialmente, alcanzando un máximo de 25.384 y 3.770 mM respectivamente, teniendo una disminución momentánea en la concentración entre las 80 y 120 horas aproximadamente alcanzando un valor final de 11.5 y 4.7 mM aproximadamente. Por otro lado, el lactato aumenta hasta alcanzar un valor de aproximadamente 150 mM y el amoniaco aumenta hasta alcanzar un valor de 6.710 mM al terminar el tiempo de simulación.

También es posible ver que la densidad de células viables alcanza su máximo a las 110 horas aproximadamente. Mientras que la densidad de células muertas aumenta en función del tiempo teniendo un aumento considerable a partir de las 100 horas. Por último, la densidad de células totales alcanza su máximo poco después de que las células viables alcanzan su

máximo valor.

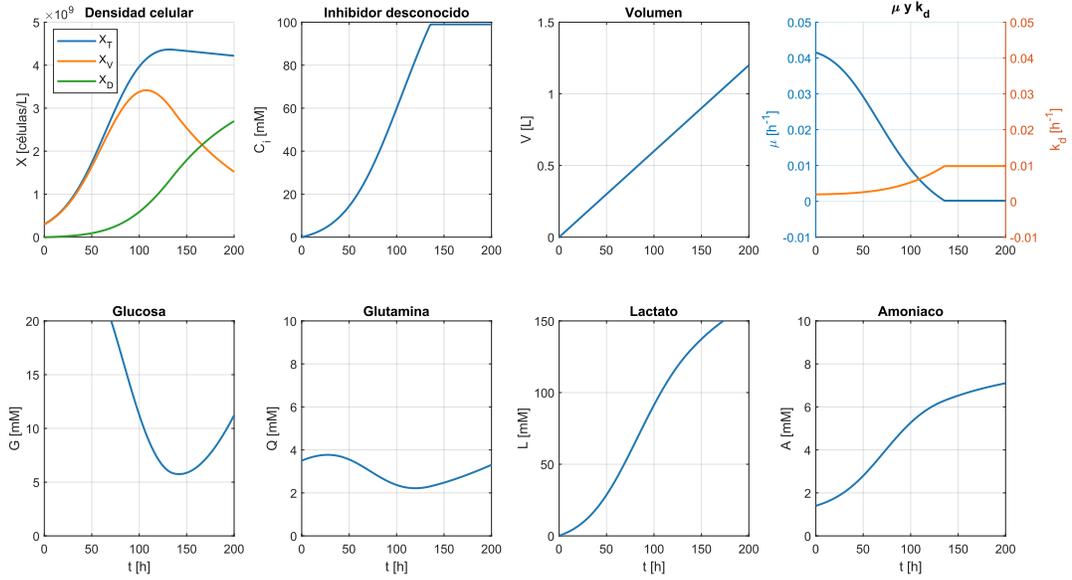


Figura 4.5: Simulación del escenario 4 en operación fed-batch con alimentación constante de 0.006 L/h considerando la modificación en la concentración del inhibidor desconocido. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

En la Figura 4.6 se puede observar la correlación entre las variables cuando no existe una alimentación al sistema, este fue realizado con *RStudio*. Las variables que presentan una correlación positiva superior a 0.9, sin considerar el tiempo (t), corresponden a los pares (X_T, A) , (X_D, L) , (X_D, A) , (X_D, C_i) , (G, Q) , (G, μ) , (Q, μ) , (L, A) , (L, C_i) y (A, C_i) . Mientras que, las variables que presentan una correlación negativa superior a 0.9 corresponden a los pares (X_T, G) , (X_T, Q) , (X_T, μ) , (X_D, Q) , (G, A) , (Q, L) , (Q, A) , (Q, C_i) y (A, μ) .

Correlation matrix

	t	Xt	Xv	Xd	G	Q	L	A	Ci	mu
t	1.00	0.66	-0.68	0.98	-0.67	-0.89	0.94	0.89	0.96	-0.71
Xt	0.66	1.00	0.05	0.69	-1.00	-0.92	0.85	0.92	0.77	-0.96
Xv	-0.68	0.05	1.00	-0.69	-0.04	0.35	-0.48	-0.36	-0.60	0.08
Xd	0.98	0.69	-0.69	1.00	-0.70	-0.92	0.97	0.92	0.99	-0.76
G	-0.67	-1.00	-0.04	-0.70	1.00	0.92	-0.86	-0.92	-0.78	0.97
Q	-0.89	-0.92	0.35	-0.92	0.92	1.00	-0.99	-1.00	-0.96	0.94
L	0.94	0.85	-0.48	0.97	-0.86	-0.99	1.00	0.99	0.99	-0.89
A	0.89	0.92	-0.36	0.92	-0.92	-1.00	0.99	1.00	0.96	-0.94
Ci	0.96	0.77	-0.60	0.99	-0.78	-0.96	0.99	0.96	1.00	-0.83
mu	-0.71	-0.96	0.08	-0.76	0.97	0.94	-0.89	-0.94	-0.83	1.00

Figura 4.6: Correlación entre variables del escenario 4 en operación fed-batch sin alimentación. Elaboración propia.

Cabe mencionar que, en general, μ presenta una alta correlación tanto negativa como positiva con el resto de variables. Por lo que, utilizando *RStudio* se diseñó un modelo lineal a partir de combinaciones de las concentraciones de G , Q , L , A y C_i que entregue el valor de

μ para ver la relevancia de estas variables en la obtención de μ ; se descartan las densidades celulares debido a la diferencia de magnitud de las variables. Para este modelo se obtuvo un valor de R^2 de 0.9985, siendo identificado como modelo 1 en la Tabla 4.1. Sin embargo, *RStudio* sugirió que la variable C_i no es significativa, no siendo considerada para el modelo lineal que describe a μ .

Una vez definidas las variables que permiten describir μ se realizan 6 modelos que contemplan la combinación de 2 variables de las indicadas anteriormente (G , L , A y C_i). Esto con el fin de encontrar 2 variables que permitan obtener un buen acercamiento al valor de μ para la posterior implementación del soft sensor. Para las distintas combinaciones se obtuvieron valores de R^2 en un rango de 0.9391 a 0.9608, siendo el máximo alcanzado por la combinación de G y L ; el resto de valores es presentado en la Tabla 4.1.

Por último, con el fin de ver si es posible mejorar la descripción de μ al utilizar un modelo de mayor complejidad se elaboran modelos polinómicos utilizando las variables G y L , correspondientes a los Modelos 8 y 9 de la Tabla 4.1. En el Modelo 8, *RStudio* sugirió que todas las variables utilizadas son significativas, mientras que en el modelo 9 se indicó que el término asociado a L no es necesario incluirlo, manteniendo la combinación de variables restante.

Tabla 4.1: Valores de R^2 para los modelos lineales elaborados con *RStudio*, en la columna Variables se especifican las variables utilizadas para el modelo

Modelo	Variables	R^2
1	$G + Q + L + A + C_i$	0.9985
2	$G + Q$	0.9592
3	$G + L$	0.9608
4	$G + A$	0.9591
5	$Q + L$	0.9398
6	$Q + A$	0.9404
7	$L + A$	0.9391
8	$G + G^2 + L + L^2$	0.9894
9	$G + G \times L + G^2 + L + L^2$	0.9894

Por otro lado, los coeficientes entregados por *RStudio* son reportados en la Tabla 4.2, donde c_i corresponde al parámetro de la variable i presentada en la columna Variables de la Tabla 4.1. Como se mencionó anteriormente, en el Modelo 1 y 9 el coeficiente asociado a C_i y L respectivamente no fueron considerados por lo que no se reporta un valor para estos. Las unidades de estos parámetros son de mM^{-1} o mM^{-2} dependiendo del orden de la variable que lo acompaña.

Respecto a los valores adoptados por los parámetros del modelo se puede ver que para la G en general se considera un signo positivo, mientras que para Q se suelen utilizar valores positivos a excepción de en el Modelo 1. Al observar los parámetros asociados a L se puede ver que el signo negativo predomina a excepción de en el modelo 5 y 7, mientras que A presenta valores negativos a excepción del Modelo 6. Por último, al considerar parámetros polinómicos

el signo de G^2 adquiere un signo negativo, L^2 un signo positivo y $G \cdot L$ tiene un signo negativo.

Tabla 4.2: Valores de los parámetros utilizados por *RStudio* para cada variable en los modelos lineales elaborados estos se condicen con el orden presentado en la Tabla 4.1.

Modelo	c_1	c_2	c_3	c_4	c_5	n
1	1.516×10^{-2}	-5.024	-7.599×10^{-2}	-5.225	-	24.641
2	1.752×10^{-3}	3.548×10^{-3}	-	-	-	-1.260×10^{-3}
3	1.878×10^{-3}	-1.044×10^{-4}	-	-	-	8.312×10^{-3}
4	1.753×10^{-3}	3.896	-	-	-	1.659×10^{-2}
5	3.873×10^{-2}	9.236×10^{-4}	-	-	-	-8.804×10^{-2}
6	4.345×10^{-3}	4.771	-	-	-	-21.857
7	9.240×10^{-4}	-4.267×10^{-2}	-	-	-	1.073×10^{-1}
8	3.295×10^{-3}	-1.128×10^{-4}	-5.074×10^{-4}	3.447×10^{-6}	-	1.824×10^{-2}
9	2.042	-5.081×10^{-2}	-1.017×10^{-1}	-	3.447×10^{-6}	-2.105×10^{-3}

4.2. Elaboración sets de datos

A partir de lo expuesto en la Sección 3.2 se elaboran los 10 escenarios de simulación que representan los set de datos a utilizar posteriormente, estos se encuentran en el Anexo B, donde se utilizaron intervalos de medición cada 4, 12 y 24 horas.

En cuanto a las densidades celulares, se puede observar que presentan un crecimiento exponencial a inicios del cultivo hasta que la glucosa presente en el sistema disminuye a un mínimo local cercano a las 110 horas. Por otro lado, existen escenarios en que la densidad de células viables aumenta hasta alcanzar su máximo luego de las 200 horas, como ocurre en las Figuras B.16, B.17, B.18 y B.20, instante que coincide con la disminución de la glucosa hasta agotar la glucosa disponible.

Se puede ver que en general la concentración de glucosa y glutamina tienen tendencias similares a una escala diferente, presentando, en general, un comportamiento creciente cuando el volumen aumenta. Por otro lado, las concentraciones de lactato y amoníaco presentan un comportamiento creciente en cada escenario, manteniendo una tendencia similar a diferente escala.

Al analizar el comportamiento del inhibidor desconocido se puede notar que este presenta una tendencia creciente hasta alcanzar el valor de 100 mM donde este se vuelve constante. Siendo posible ver que en el escenario 6, 7, 8 y 10 no se alcanza el valor de 100 mM, correspondiente a las Figuras B.16, B.17, B.18 y B.20.

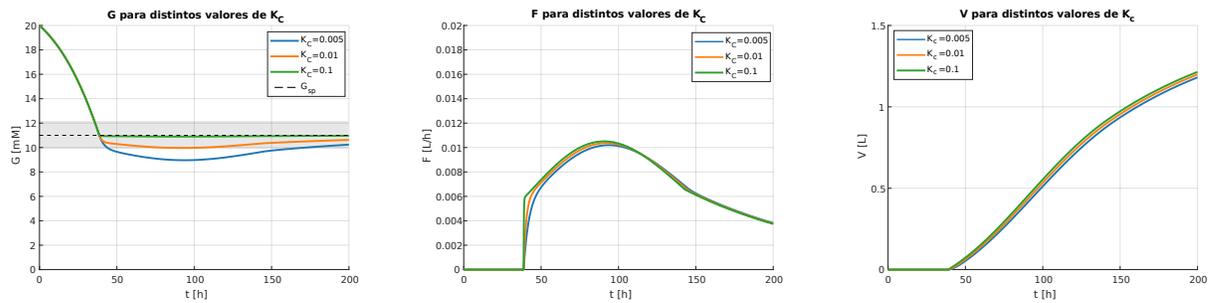
De los gráficos asociados a μ y k_d se puede ver que estos presentan una relación inversamente proporcional, donde al aumentar μ disminuye k_d y viceversa. De la misma forma, cuando μ alcanza un valor constante k_d mantiene su valor constante. En general, se puede ver que μ presenta una mayor magnitud a inicios del cultivo. Mientras que, a medida que avanza el tiempo la tasa desciende con mayor velocidad de la que alcanzó un valor máximo;

ocurriendo lo opuesto con el valor de k_d .

Además, se puede notar que mantener niveles altos de glucosa al inicio del cultivo favorece el valor de μ , por ejemplo en el escenario 10 se observa un crecimiento de μ hasta aproximadamente las 180 horas. Mientras que, mantener la glucosa en valores similares al inicial produce que la tasa de crecimiento disminuya su valor o lo mantenga por un periodo de tiempo.

4.3. Elaboración sistema de control PID

En primer lugar, se implementó un lazo de control proporcional en el sistema de estudio considerando el modelo presentado por Craven con las condiciones iniciales establecidas para el escenario 4. Para ello se utilizan 3 constantes de proporcionalidad diferentes en un rango de 0.005 a 0.1 para ver el comportamiento del sistema al aumentar el valor de la constante proporcional. La curva de la glucosa, la acción de control y el volumen acumulado debido a la alimentación se pueden ver en la Figura 4.7.



(a) Concentración de glucosa en el reactor en mM. (b) Alimentación F al reactor en L/h. (c) Volumen acumulado por alimentación en L.

Figura 4.7: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional en un lapso de 300 horas. Se consideran constantes de proporcionalidad de 0.005, 0.01 y 0.1. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

A partir de la Figura 4.7 se puede ver que a medida que la constante proporcional aumenta, el sistema exhibe una respuesta de mayor velocidad ante la disminución de glucosa. Siendo 8.961 mM el valor de glucosa más bajo alcanzado, asociado a la constante proporcional de 0.005. Es importante mencionar que utilizar una constante de 0.01 y 0.1, la glucosa se mantiene en un rango de ± 1 mM desde que se sobrepasa el set point; además, en el caso de la constante de valor 0.1 se puede ver que el set point es mantenido de forma inmediata.

Al rededor de las 40 horas se puede ver que inicia la alimentación del sistema, alcanzando un máximo de 0.01 L/h aproximadamente a las 90 horas para las tres constantes utilizadas. Junto a esta alimentación se puede ver que la concentración de glucosa en el sistema aumenta, disminuyendo la tasa de disminución de la misma hasta las 90 horas cuando la concentración de glucosa aumenta hasta alcanzar el set point pasadas las 300 horas. Por último, se observa

que el volumen acumulado a partir de la alimentación no supera los 1.5 L a lo largo del tiempo analizado para los tres controladores, teniendo un volumen total final de 11.453 L en el caso de la constante 0.1, correspondiente al máximo de los tres volúmenes, el cual no supera la capacidad total del biorreactor.

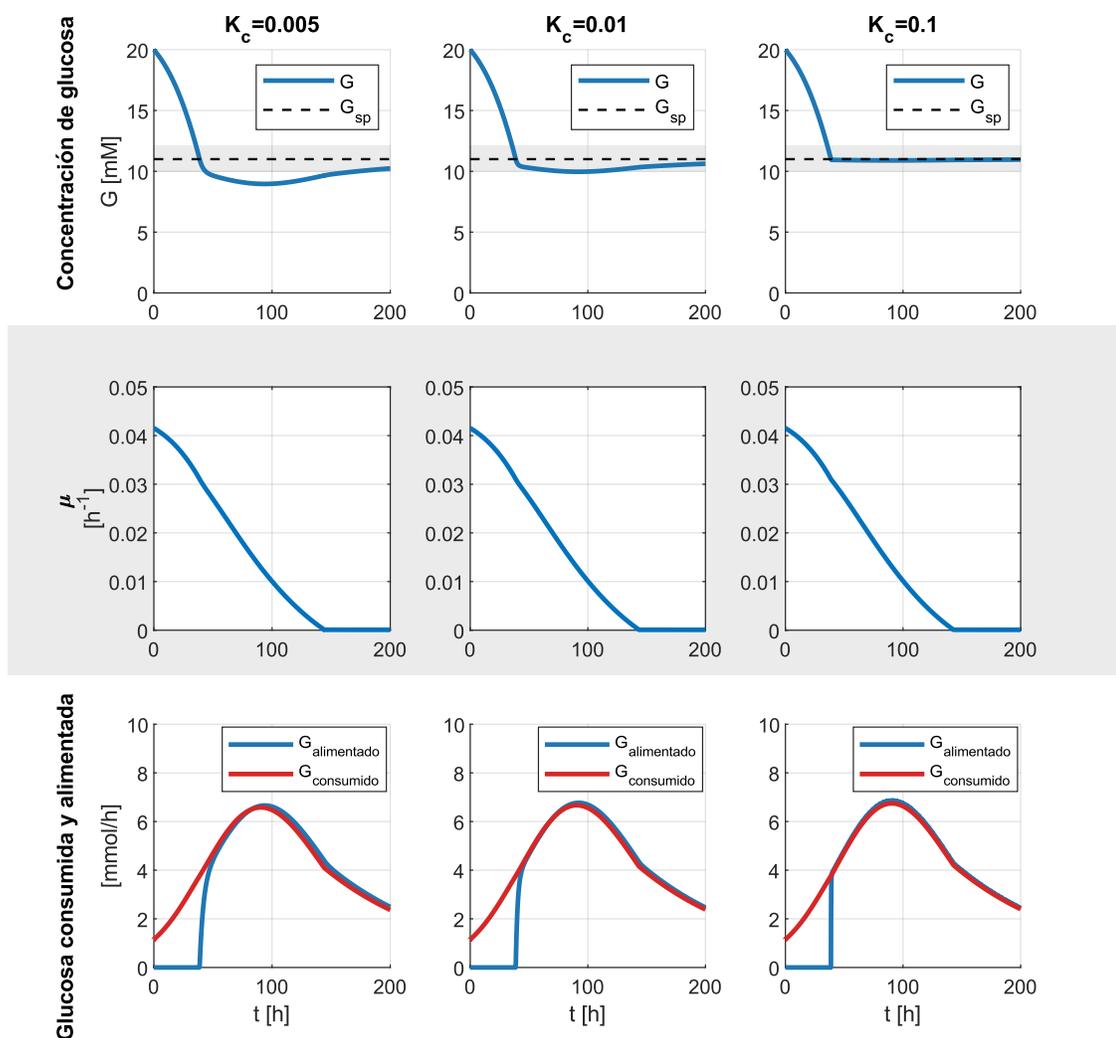
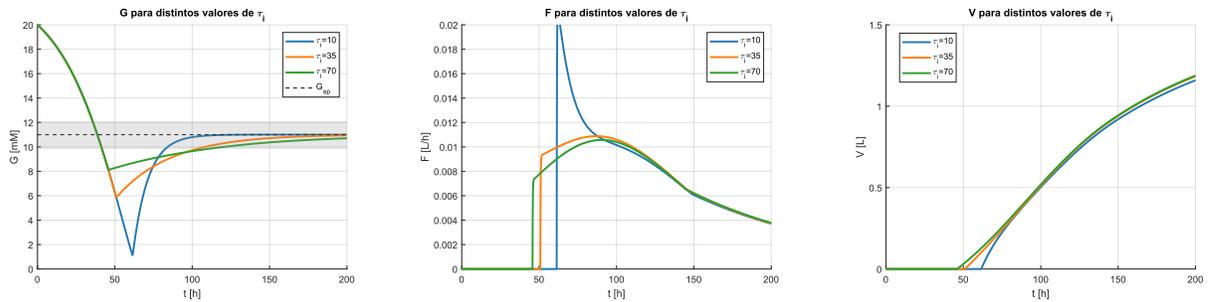


Figura 4.8: Comparación del comportamiento del sistema de control proporcional para distintos valores de K_c ; considerando un valor de K_c 0.005, 0.01 y 0.1 para la primera, segunda y tercera fila respectivamente. En la primera fila se presenta la concentración de glucosa en el sistema en mM, donde la zona gris representa a $G_{sp} \pm 10\%$, en la segunda fila μ y en la tercera fila se tiene el consumo de glucosa por parte de las células junto a la alimentación de glucosa administrada al sistema, todos en un lapso de 300 horas. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

De forma adicional, en la Figura 4.8 se presenta la comparación de G , μ y el consumo junto

a la alimentación de glucosa para las 3 constantes de proporcionalidad presentadas. A partir de ello se puede ver que para las distintas constantes el valor de μ no presenta variaciones notorias al cambiar la constante de proporcionalidad en este rango, teniendo una disminución desde el valor inicial de 0.0415 h^{-1} hasta alcanzar un valor de 0 h^{-1} a las 140 horas aproximadamente. Desde los gráficos asociados a las tasas de consumo de glucosa por parte de las células y de alimentación de glucosa al sistema, se puede ver que el punto de intersección de ambas curvas para el caso de una constante de 0.005 y 0.01 ocurre aproximadamente a las 80 y 68 horas respectivamente, mientras que en el caso de la constante 0.1 la curva de la tasa de alimentación de glucosa siempre se encuentra por sobre la curva de consumo.

En segundo lugar, se implementa un lazo de control proporcional integral en el sistema de estudio. Para ello se consideran 3 constantes de tiempo integral diferentes en un rango de 10 a 70 para ver la respuesta del sistema ante distintos valores, considerando una constante proporcional de 0.01. La curva de la glucosa, la acción de control y el volumen acumulado debido a la alimentación para el control PI se pueden ver en la Figura 4.9.



(a) Glucosa en el reactor en mM.

(b) Alimentación F en L/h.

(c) Volumen acumulado por alimentación en L.

Figura 4.9: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional integral en un lapso de 300 horas. Se considera una constante de proporcionalidad de 0.1 y constantes de tiempo integral de 10, 35 y 70. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

En la Figura 4.9 se puede ver que una vez que la glucosa sobrepasa el set point el sistema, no responde de forma inmediata, siendo una respuesta de menor velocidad en comparación al caso proporcional. Particularmente, se puede ver que el mayor overshoot alcanzado en el caso PI es de 1.045 mM, valor que coincide con el instante en que la alimentación inicia, provocando un rápido aumento hasta el set point. En el caso de las otras constantes τ_i utilizadas se tiene un comportamiento similar en el cual el instante de menor valor de G , 5.543 y 7.654 mM para un valor de τ_i de 35 y 70 respectivamente, coincide con el inicio de la alimentación al sistema. De las estrategias de alimentación se puede ver que la propuesta por la constante de menor magnitud presenta una acción de mayor agresividad, alcanzando un flujo de alimentación de 0.0193. Por otro lado, el volumen total alcanza un valor máximo de 11.423 L, el cual no supera la capacidad máxima del biorreactor.

En la Figura 4.10 se puede ver la comparación de la concentración de glucosa en el sistema, μ y las tasas de consumo y alimentación de glucosa para los tres valores de τ_i utilizados. A partir de ello se puede ver que μ tiene una magnitud inicial de 0.041 que desciende hasta alcanzar un valor de 0; presentando una disminución abrupta seguido de un rápido aumento a las 60 horas al utilizar un τ_i de 10 y 35, siendo este comportamiento de menor intensidad en el caso de la constante de valor 70. Este comportamiento también se observa en la curva asociada a la glucosa, donde la disminución de la concentración ocurre con gran velocidad al igual que el alcance del set point.

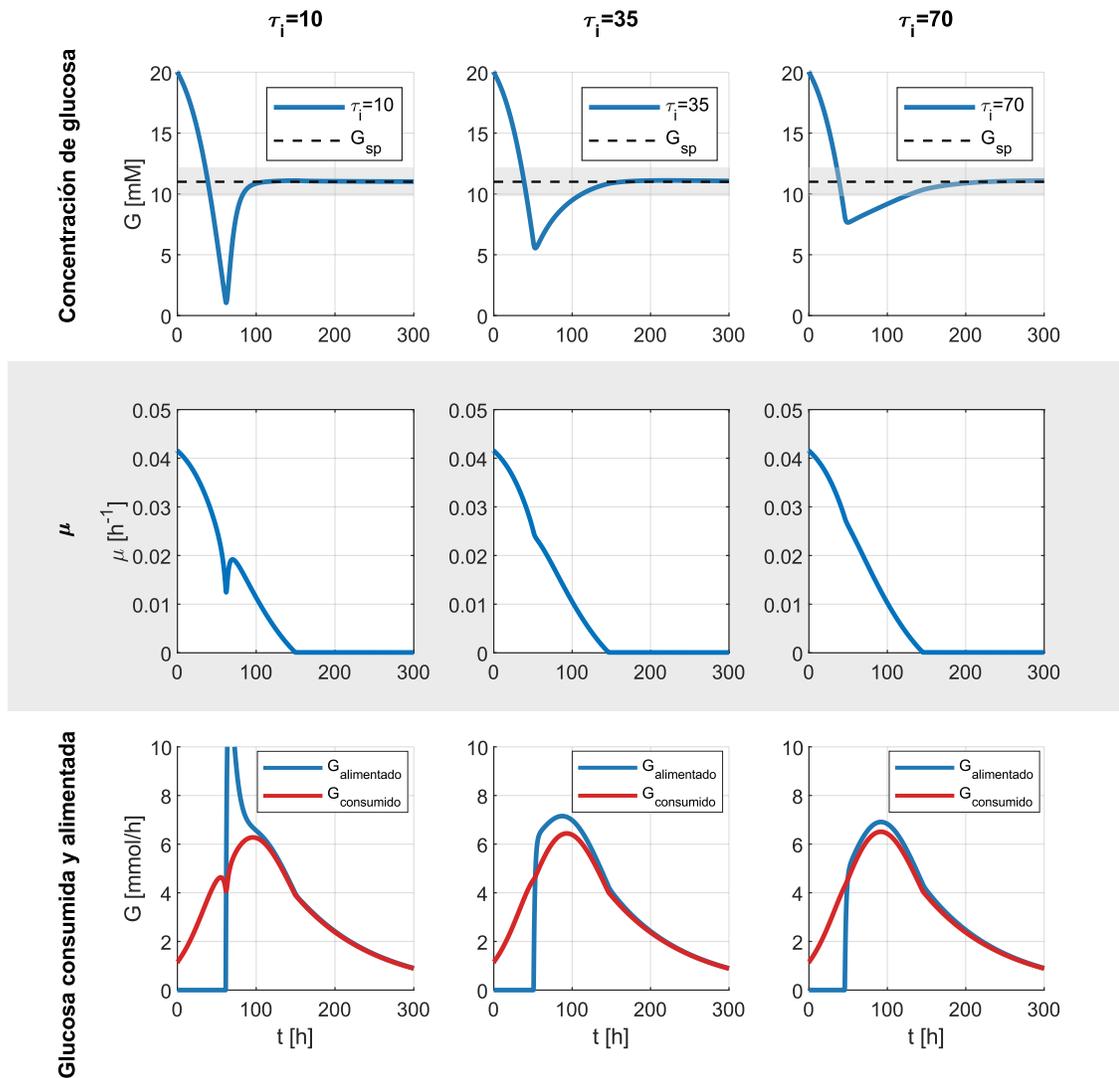
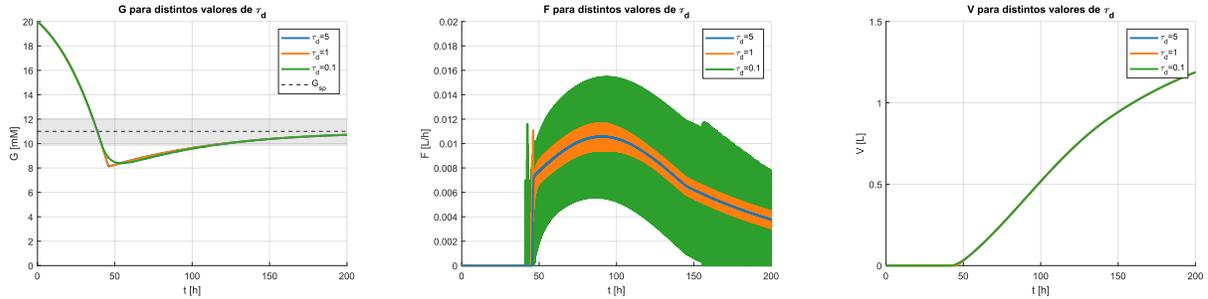


Figura 4.10: Comparación del comportamiento del sistema de control proporcional integral para distintos valores de τ_i ; valores de τ_i de 10, 35 y 70 para la primera, segunda y tercera fila respectivamente y un valor de $K_c = 0.1$. En la primera fila se presenta la concentración de glucosa en el sistema en mM, donde la zona gris representa a $G_{sp} \pm 10\%$, en la segunda fila μ y en la tercera fila se tiene el consumo de glucosa por parte de las células junto a la alimentación de glucosa administrada al sistema, todos en un lapso de 300 horas. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

En cuanto a la tasa de consumo y alimentación de glucosa, se puede ver que una vez iniciada la alimentación, el consumo de glucosa por parte de las células nunca es mayor que la tasa de alimentación proporcionada para las tres constantes τ_i . Siendo la estrategia de control propuesta por la constante de valor 10 la de mayor agresividad y la que el consumo y alimentación difiere en mayor magnitud.

Por último, se implementa un lazo de control proporcional integral en el sistema de estudio. Para ello se consideran 3 constantes de tiempo derivativo diferentes en un rango de 0.01 a 5 para ver la respuesta del sistema ante distintos valores, considerando una constante proporcional de 0.01 y una constante de tiempo integral de 70. La curva de la glucosa, la acción de control y el volumen acumulado debido a la alimentación para el control PID se pueden ver en la Figura 4.11.



(a) Glucosa en el reactor en mM.

(b) Alimentación F en L/h.

(c) Volumen acumulado por alimentación en L.

Figura 4.11: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional integral derivativo en un lapso de 300 horas. Se considera una constante de proporcionalidad de 0.1, constante de tiempo integral de 70 y constantes de tiempo derivativo de 0.01, 1 y 5. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

En la Figura 4.11.a se puede ver que las curvas de glucosa asociadas a una constante τ_d de 0.1 y 1 presentan comportamientos similares donde el mínimo valor alcanzado es de 8.133 y 8.184 mM respectivamente. Mientras que, la curva asociada a un τ_d de magnitud 5 presenta un valor mínimo de 8.390 mM y una curvatura de mayor suavidad que los otros dos casos presentados. Es posible ver que el set point es alcanzado en los tres casos al rededor de las 300 horas, teniendo una mayor velocidad aparente al utilizar una constante τ_d de 5.

Al observar la Figura 4.11.b se puede ver que la alimentación no inicia cuando la concentración sobrepasa el set point, sino que ocurre aproximadamente a las 45 horas. Es posible notar una tendencia creciente general inicial para el flujo a alimentar, siendo este claro para un τ_d de 0.1, donde el flujo máximo alcanzado es de 0.106 L/h a las 90 horas aproximadamente. En el caso de utilizar un τ_d de 1 y 5 se presenta un comportamiento oscilatorio en el flujo, siendo el caso de $\tau_d = 5$ el de mayor amplitud. En cuanto al volumen acumulado por la alimentación, se puede ver que no sobrepasa los 1.5 L alcanzando los 11.428 L sin superar la capacidad máxima del biorreactor.

Al comparar las 3 constantes propuestas se puede ver que al utilizar una menor magnitud de τ_d la curva de la variable controlada tiende a tener un comportamiento similar al presentado en el caso proporcional integral, donde el descenso de la concentración ocurre rápidamente hasta que ocurre la acción de control. También es posible notar que a medida que aumenta el valor de la constante de tiempo derivativa, con los valores establecidos para K_c y τ_i , aumenta

la inestabilidad del lazo de control como se puede ver en la Figura 4.11.b.

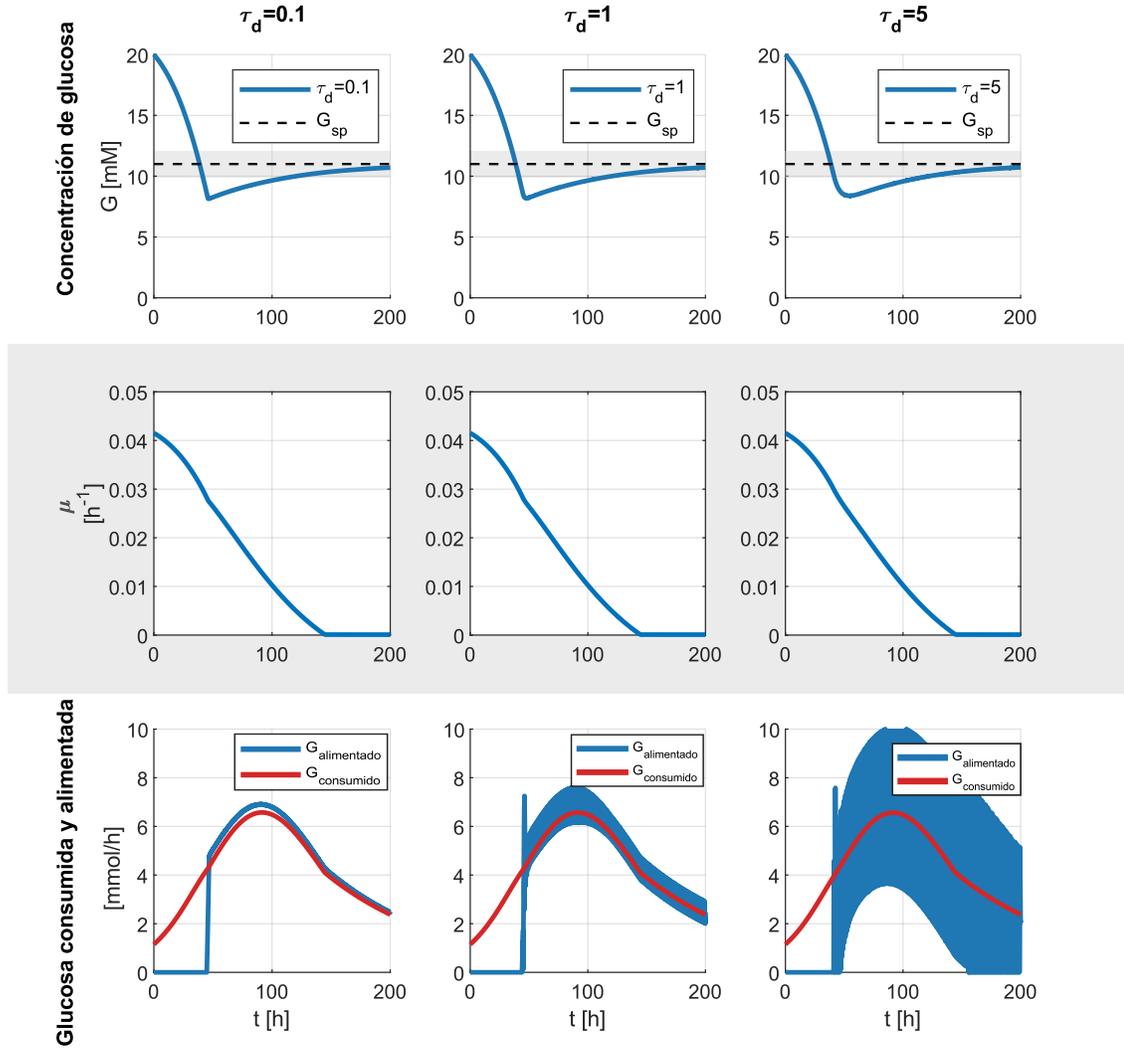


Figura 4.12: Comparación del comportamiento del sistema de control proporcional integral derivativo para distintos valores de τ_d ; valores de τ_d de 0.1, 1 y 5 para la primera, segunda y tercera fila respectivamente junto a un valor de $K_c = 0.1$ y $\tau_d = 70$. En la primera fila se presenta la concentración de glucosa en el sistema en mM, donde la zona gris representa a $G_{sp} \pm 10\%$, en la segunda fila μ y en la tercera fila se tiene el consumo de glucosa por parte de las células junto a la alimentación de glucosa administrada al sistema, todos en un lapso de 300 horas. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

A partir de la Figura 4.12 se observa que el comportamiento de μ mantiene una tendencia decreciente en el tiempo alcanzando un valor de 0 a las 144 horas aproximadamente. También es posible ver que en el instante que la glucosa alcanza su valor mínimo la tasa de disminución de μ presenta un cambio leve en su trayectoria, el cual es más notorio al considerar un τ_d de

0.1 y 1.

Por último, de los gráficos asociados al consumo y alimentación de glucosa presentes en la Figura 4.12, se puede ver que la alimentación tiene una mayor magnitud que el consumo desde que inicia la acción de control en el caso de $\tau_d=0.1$. Mientras que, las otras constantes se tiene un comportamiento oscilatorio al rededor de la tasa de consumo de glucosa, siendo de mayor amplitud para un τ_d de 5.

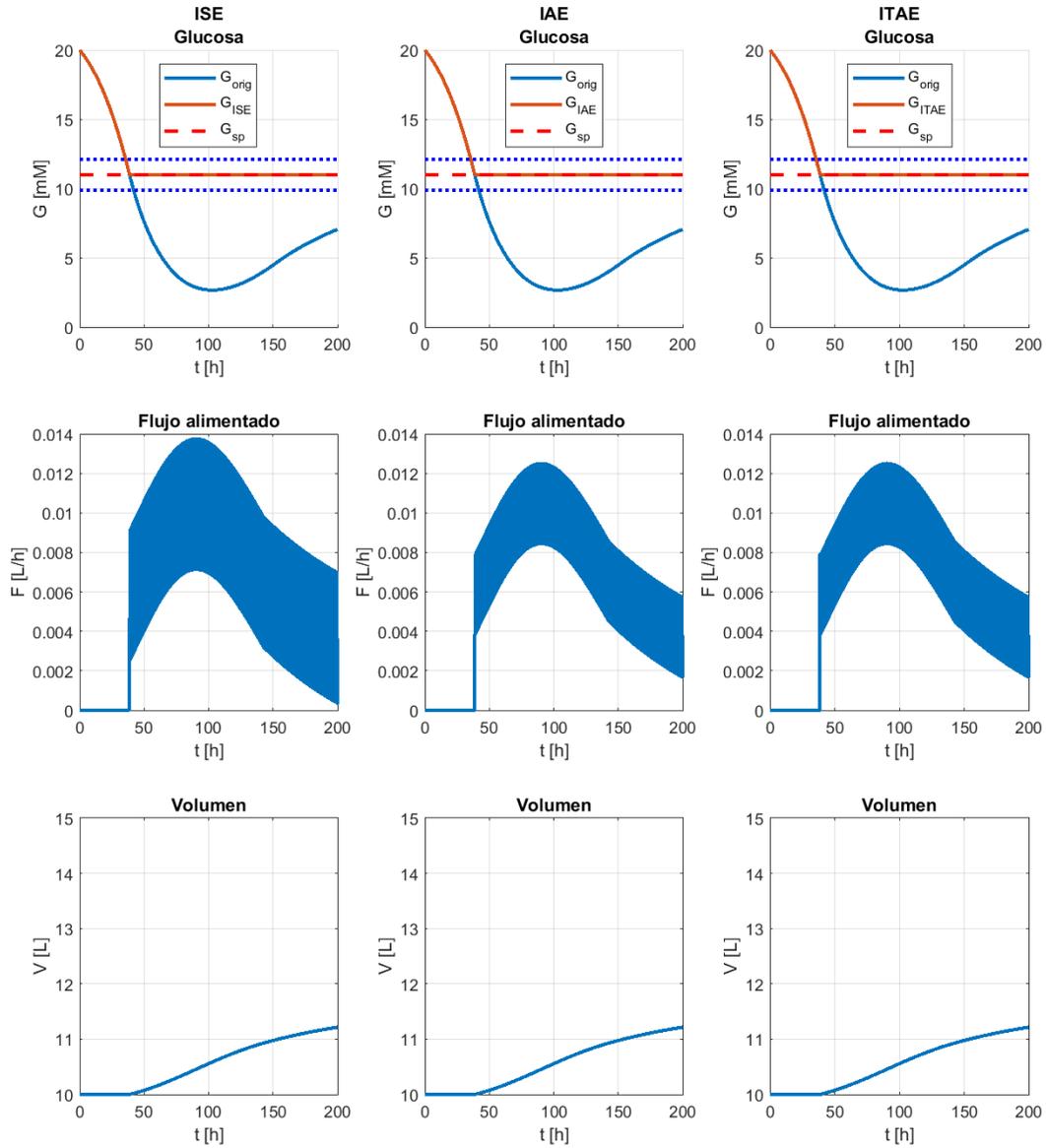


Figura 4.13: Comparación concentración de Glucosa, Flujo alimentado y Volumen según Criterios de desempeño para controlador P, todos en un lapso de 200 horas. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Al implementar los criterios de desempeño ISE, IAE e ITAE para el controlador proporcional se obtuvieron los resultados presentados en la Figura 4.13, donde se puede ver que los tres casos exhiben resultados similares. Al comparar las curvas relacionadas a la concentración de glucosa se observa que el set point es mantenido de forma inmediata cuando la concentración disminuye hasta un valor de 11 mM. En el caso de las estrategias de control se observa que estas son similares entre si pero presentan un comportamiento oscilatorio en

los tres casos, con una mayor amplitud para el criterio ISE. Por último, se puede ver que las curvas asociadas al volumen total presentan un comportamiento similar alcanzando un valor máximo de 11.216 L, correspondiente con el volumen final en el biorreactor sin superar la capacidad máxima.

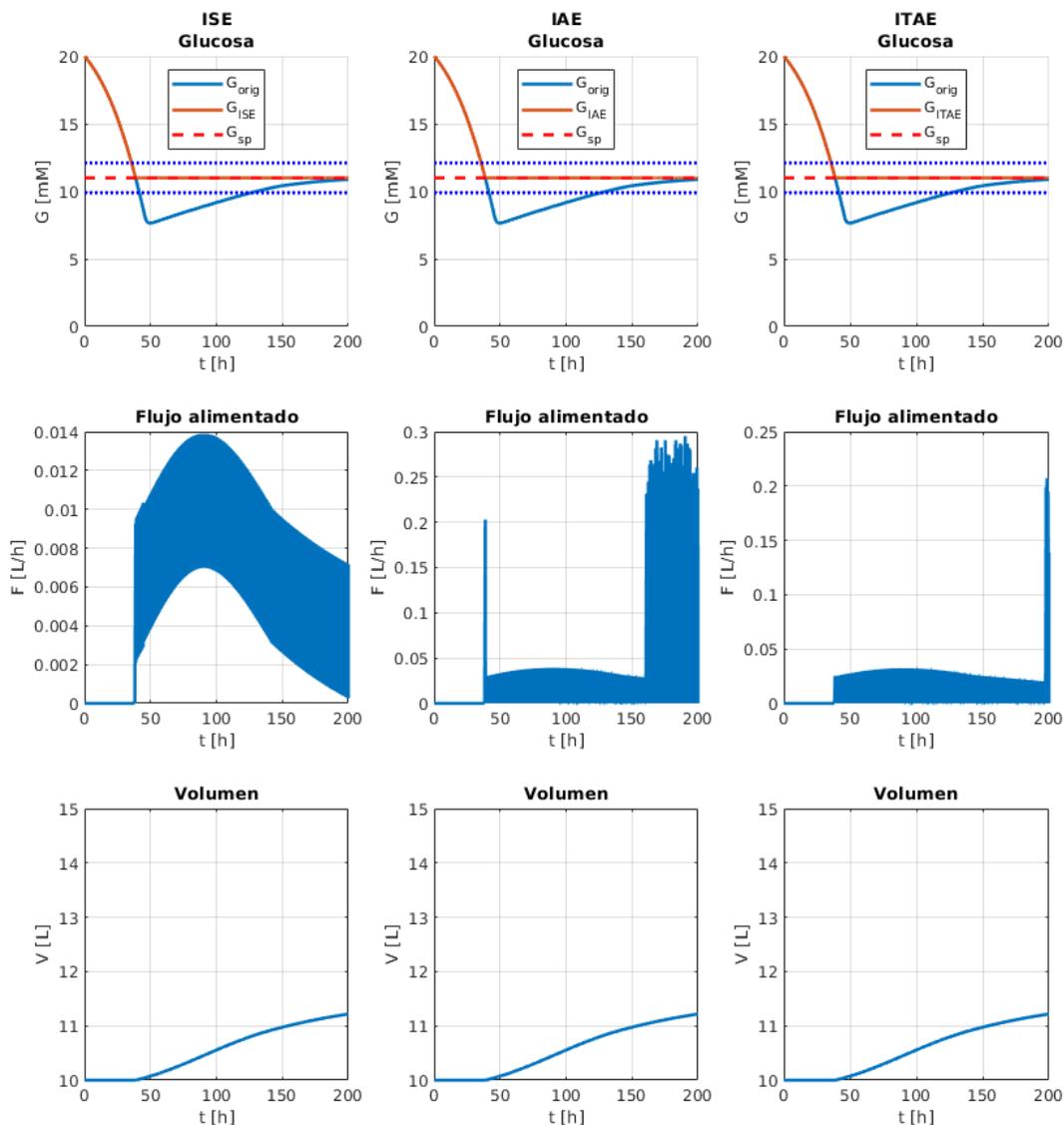


Figura 4.14: Comparación concentración de Glucosa, Flujo alimentado y Volumen según criterios de desempeño para controlador PI, todos en un lapso de 200 horas. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

En el caso del controlador proporcional integral se obtuvieron los resultados presentados en la Figura 4.14, donde se puede ver que en los tres criterios se tiene un comportamiento similar

al del controlador proporcional, para la curva de la concentración de glucosa; alcanzando el set point de forma inmediata una vez que se alcanzan sus cercanías. En cuanto al flujo de alimentación se exhiben flujos oscilantes, al observar el criterio ISE la curva del flujo alimentado presenta una tendencia y magnitudes similares al caso proporcional; mientras que en el criterio IAE e ITAE se alcanzan flujos de alimentación de mayor magnitud. Por último, se puede notar que el volumen total en el sistema alcanza un valor de 1.218 L para los tres criterios, el cual no supera la capacidad máxima del reactor.

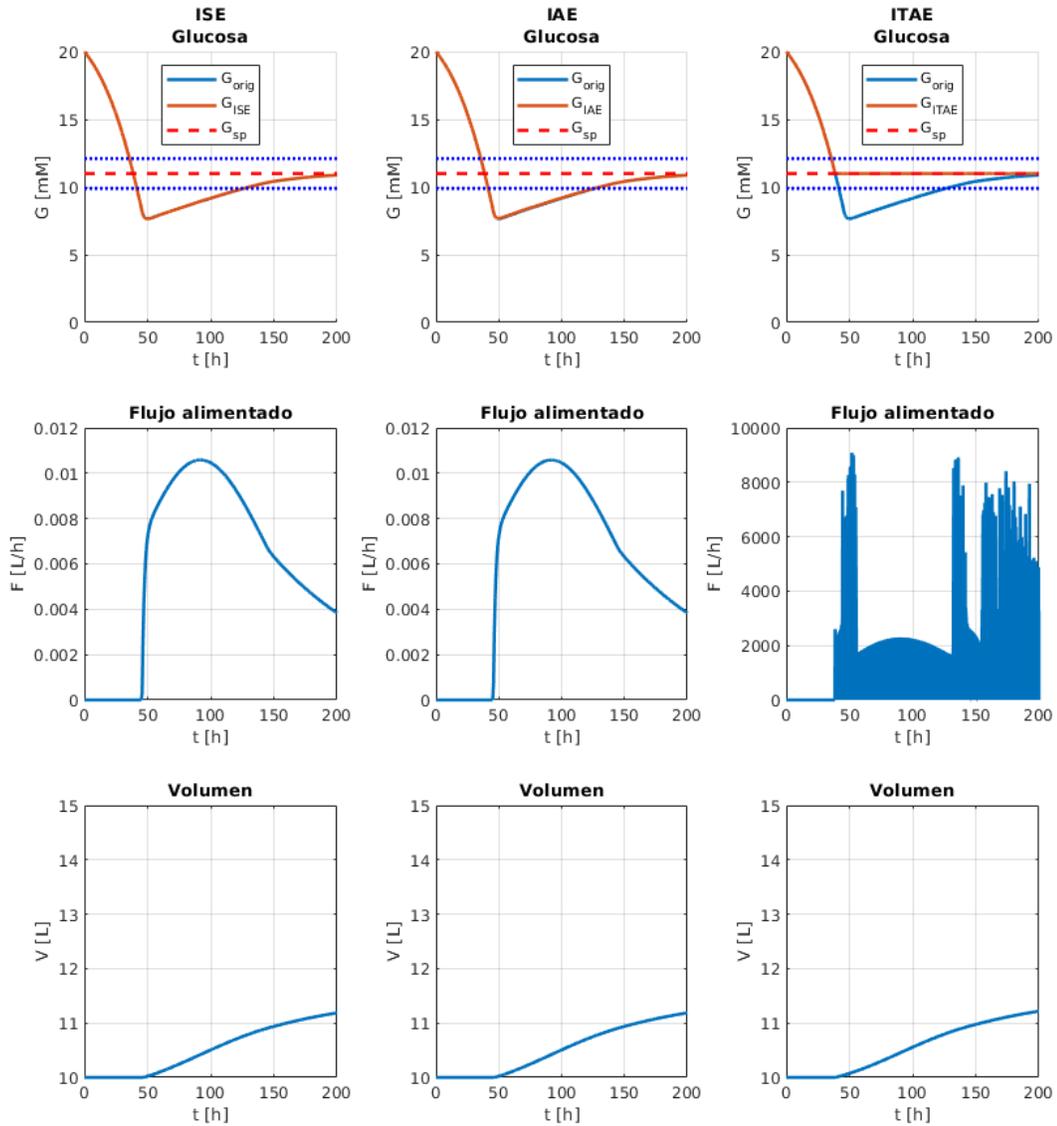


Figura 4.15: Comparación concentración de Glucosa, Flujo alimentado y Volumen según Criterios de desempeño para controlador PID. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Por último, para el controlador proporcional integral derivativo se obtuvieron los resultados presentados en la Figura 4.14, donde se puede ver que para el criterio ISE e IAE la optimización entregó un resultado similar a la adivinanza inicial; alcanzando el set point al final del intervalo de tiempo analizado. Por otro lado, a partir del criterio ITAE se obtuvo una curva de G similar a la presentada en el controlador P y PI, donde el set point es alcanzado de forma inmediata una vez que la glucosa disminuye a 11 mM.

En este caso, las curvas de alimentación del criterio ISE e IAE no presentan oscilaciones como en los casos anteriores, y mantienen un comportamiento similar al visto en la Figura 4.7. Mientras que, el caso ITAE presenta oscilaciones de gran magnitud, alcanzando flujos instantáneos mayores a 8000 L/h. Finalmente, los volúmenes totales alcanzados se encuentran en el rango permitido por el reactor, alcanzando valores de 11.187, 11.187 y 11.219 L para el criterio ISE, IAE e ITAE respectivamente.

En la Tabla 4.3 se presentan los valores alcanzados por cada criterio en cada tipo de controlador, donde el criterio de detención fue una tolerancia de 10^{-3} en cada caso.

Tabla 4.3: Valores obtenidos para los criterios de desempeño ISE, IAE e ITAE en cada controlador.

Controlador	ISE	IAE	ITAE
P	1372.15	207.253	2898.93
PI	1372.15	207.22	2891.90
PID	1665.16	392.83	2892.66

A partir de lo presentado en la Tabla 4.3 se puede ver que el controlador P, PI y PID presentan valores y magnitudes similares para el criterio ISE, IAE e ITAE. Aunque, en el controlador PID para el criterio ISE e IAE el valor alcanzado es levemente mayor en comparación al criterio.

Por otro lado, en la Tabla 4.4 se presentan los valores obtenidos para las constantes asociadas a cada controlador a partir de los criterios ISE, IAE e ITAE. Se puede ver que en el caso proporcional las constantes no presentan valores de gran magnitud, no superando el valor de 30. Sin embargo, en el caso PI algunas constantes proporcionales superan este valor alcanzando una magnitud de 600 y 900; acompañado de esto se tienen constantes de tiempo integral de gran magnitud, del orden de $\times 10^6$, presentando un signo negativo para el criterio ITAE. Para el caso PID, los parámetros entregados por el criterio ISE e IAE presentan magnitudes y valores similares, con K_c y τ_d de baja magnitud y un τ_i cercano a 70. Al observar el criterio ITAE en un controlador PID se puede ver que la constante de tiempo integral presenta un signo negativo y de gran magnitud, mientras que K_c y τ_d presentan signo positivo pero valores cercanos a 200 y 1100 respectivamente, considerablemente mayores a los exhibidos en el criterio ISE e IAE para este mismo controlador.

Tabla 4.4: Valores obtenidos para las constantes del controlador PID según los criterios de desempeño. De izquierda a derecha, las Tablas se corresponden con el controlador P, PI y PID respectivamente.

Criterio	K_c	Criterio	K_c	τ_i	Criterio	K_c	τ_i	τ_d
ISE	29.543	ISE	30.680	1.154×10^6	ISE	0.010	69.417	0.101
IAE	18.177	IAE	982.659	1.280×10^6	IAE	0.011	70.000	0.100
ITAE	18.177	ITAE	688.610	-5.722×10^6	ITAE	198.182	-2.512×10^6	1099.732

Con el fin de escoger una constante apropiada para el sistema de análisis se compara el comportamiento del controlador proporcional utilizando valores de 0.02, 0.1 y 0.5 para K_c . En la Figura 4.16 se puede ver que ante estos valores de K_c la concentración de glucosa en el reactor presenta cierta inestabilidad en forma de oscilaciones al considerar valores de K_c mayores o iguales a 0.1. Mientras que, para una constante de 0.02 no se exhibe una variabilidad en el valor de la concentración presente. Sin embargo, al considerar el valor de 0.02 la acción de control no es inmediata alcanzando un valor mínimo de glucosa de 10.478 mM.

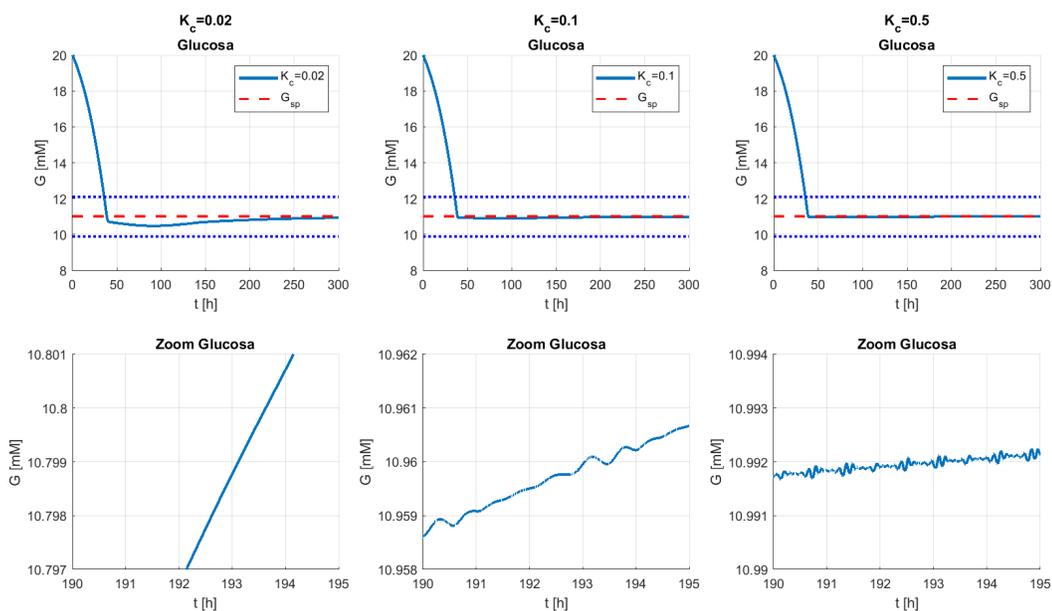


Figura 4.16: Comparación de la concentración de glucosa en biorreactor para distintas constantes de proporcionalidad junto a una ampliación de la curva. Elaboración propia.

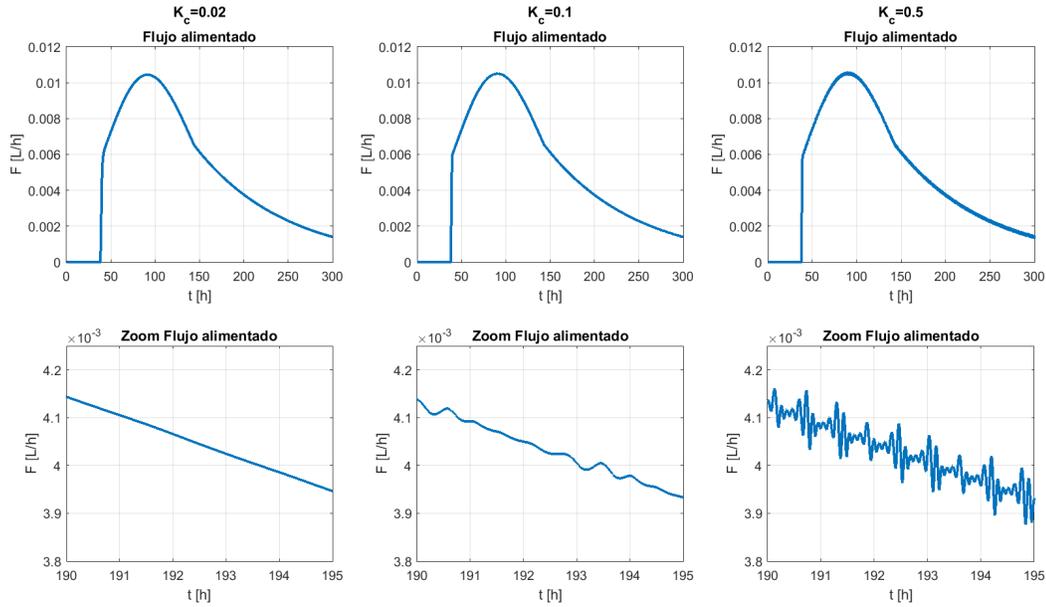


Figura 4.17: Comparación del flujo alimentado para distintas constantes de proporcionalidad. Elaboración propia.

En la Figura 4.17 se puede ver el flujo alimentado asociado a las constantes anteriormente mencionadas, donde también se percibe un comportamiento inestable para valores de K_c iguales o mayores a 0.1. Cabe mencionar que, las curvas de alimentación al reactor presentan una forma similar para cada constante utilizada, con magnitudes y tiempos de acción levemente distintos.

4.4. Elaboración soft sensor

4.4.1. Predictores

Como fue presentado en el capítulo anterior, se diseñó un soft sensor basado en SVM que sea capaz de predecir la tasa de crecimiento de un cultivo celular CHO. Para ello, se entrenó el SVR con los experimentos 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, siguiendo lo presentado en [72] bajo 3 casos diferentes.

En la Figura 4.18 se presentan los predictores obtenidos, donde el caso 1 requiere de todos los datos disponibles en el modelo, esto involucra las densidades celulares (X_V y X_D), las concentraciones en el reactor (G , Q , L , A y C_i) y el volumen (V), el caso 2 utiliza las concentraciones medibles en el biorreactor (G , Q , L y A) y el caso 3 requiere de las concentraciones de G y L .

Se puede ver que en los tres casos la predicción tiene dificultades para representar los valores tanto en tiempos iniciales como finales, siendo el valor de μ subestimado a inicios y mediados del cultivo y sobre estimado entre las 20 y 60 horas aproximadamente y luego a partir de las 100 horas aproximadamente, cuando se acerca a las 0 h^{-1} ; siendo siempre positivo el valor de μ . Al utilizar métricas para cuantificar el error de la predicción se obtuvieron los

resultados presentados en la Tabla 4.5, donde se puede ver que el caso 2 presenta mejores indicadores que el resto. Sin embargo, visualmente el caso 1 pareciese representar mejor los valores cercanos a 0.

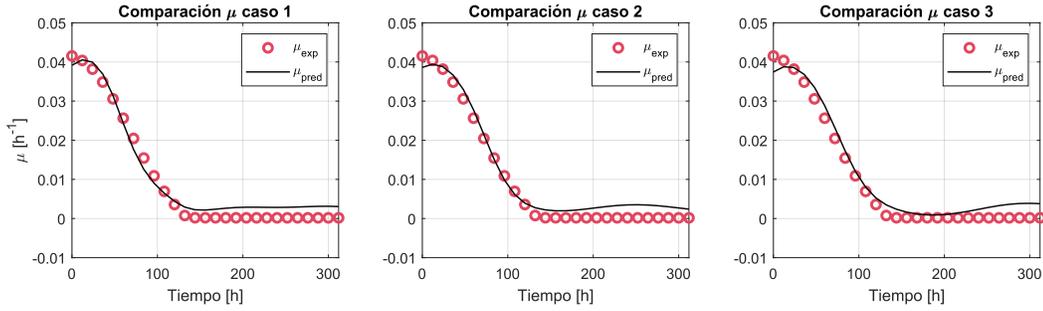


Figura 4.18: Predictor de μ utilizando SVM y kernel scale de 2.2 para el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando datos cada 12 horas. Elaboración propia.

Tabla 4.5: Valores obtenidos para las métricas del error de los predictores utilizando un kernel scale de 2.2 para el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando datos cada 12 horas.

Caso	MSE	RMSE	MAPE	R^2
1	0.000005	0.002308	8.052682	0.986748
2	0.000005	0.002242	8.015311	0.991609
3	0.000006	0.002381	6.748603	0.989205

Con el fin de obtener una mejor predicción para los casos presentados, se implementó la optimización de hiperparámetros utilizando una función propia de matlab, con la cual se obtuvieron los resultados presentados en la Figura 4.19. En general, se puede ver que las 3 predicciones se asemejan a los datos experimentales de μ , y logran representar de mejor forma el comportamiento inicial y en las proximidades de 0 h^{-1} que el caso con kernel scale de 2.2. Sin embargo, en el caso 2 se puede observar que μ alcanza valores negativos aunque de baja magnitud.

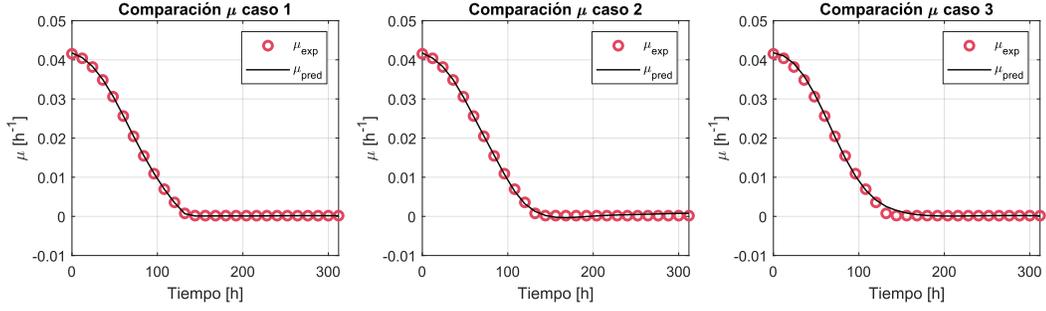


Figura 4.19: Predictor de μ utilizando SVM y la optimización de hiperparámetros para el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando datos cada 12 horas. Elaboración propia.

Las métricas del error asociadas a estas predicciones se encuentran en la Tabla 4.6, donde se puede ver que el caso 1 es el que presenta mejores resultados.

Tabla 4.6: Valores obtenidos para las métricas del error (MSE, RMSE, MAPE y R^2) de los predictores utilizando el optimizador de hiperparámetros para el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L .

Caso	MSE	RMSE	MAPE	R^2
1	0.000000	0.000091	0.136094	0.999995
2	0.000000	0.000330	1.043610	0.999505
3	0.000000	0.000586	0.621259	0.998784

En el Anexo C se presentan los predictores obtenidos al considerar un set de datos con mediciones en intervalos de 4 y 24 horas. En primer lugar, al considerar un kernel scale de 2.2, se obtuvieron predictores que presentan un comportamiento similar al presentado en el caso de 12 horas donde se ve dificultada la representación de los datos iniciales y cercanos a un valor de 0 h^{-1} principalmente. Por otro lado, al considerar la optimización de hiperparámetros se obtuvieron resultados que en general representan de mejor forma los valores problemáticos (a inicios del cultivo y a medida que μ se aproxima a un valor de 0 h^{-1}).

4.4.2. Elaboración sistema de control basado en soft sensor

Una vez definidos los predictores presentados en anteriormente, se implementaron en el modelo del proceso para predecir el valor de μ en el lazo de control según lo presentado en la Figura 3.3. En particular, se utilizó el control proporcional para obtener la estrategia de alimentación.

En primer lugar, se implementó el predictor con los hiperparámetros presentados por Yeh [72] para el caso 1, 2 y 3. En el caso 1, como se ve en la Figura 4.20, se obtuvo una estrategia de alimentación de forma similar a la esperada, presentando diferencias a finales del tiempo analizado, donde el flujo aumenta en lugar de disminuir a partir de las 150 horas. Es

posible ver que la acción de control inicia aproximadamente a las 40 horas y el flujo máximo alimentado es de aproximadamente 0.0102 L/h al considerar un K_c de 0.1, cabe mencionar que el volumen administrado no supera la capacidad máxima del reactor, alcanzando un valor de 11.377 L en su totalidad.

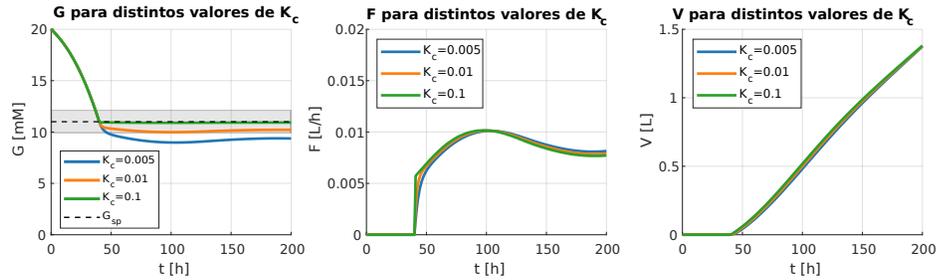


Figura 4.20: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel de 2.2 y datos cada 12 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V . Las condiciones iniciales para el sistema son: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Al implementar la estrategia de alimentación presentada en la Figura 4.20, utilizando la constante proporcional de 0.1, se obtuvo lo mostrado en la Figura 4.21, donde se puede ver que la concentración de glucosa, una vez sobrepasado el set point, disminuye hasta alcanzar un valor de 9.122 mM para luego aumentar por sobre el valor deseado alcanzando una concentración superior a 20 mM. Es posible notar que la concentración de glucosa alimentada presenta valores similares a la tasa de glucosa consumida por las células, aunque inferiores, hasta las 100 horas aproximadamente, momento en el cuál la alimentación supera la tasa consumida.

Por otro lado, la glutamina presenta un comportamiento similar al presentado por la glucosa, donde disminuye inicialmente para luego aumentar su concentración de forma cuasi constante hasta un valor de 4.119 mM; por su parte el amoniac y el lactato presentan un comportamiento creciente hasta alcanzar aproximadamente un valor de 6.759 y 151.488 mM respectivamente. Mientras que, la densidad de células viables alcanza su máximo a las 110 horas aproximadamente con un valor de 3.179×10^9 células/L, y la densidad de células muertas aumenta su valor hasta superar el valor de 2.487×10^9 células/L.

Respecto a μ se puede ver que presenta un comportamiento decreciente, hasta alcanzar un valo cercano a 0 al rededor de las 150 horas. Mientras que, la concentración del inhibidor desconocido aumenta hasta alcanzar un valor de aproximadamente 100 mM.

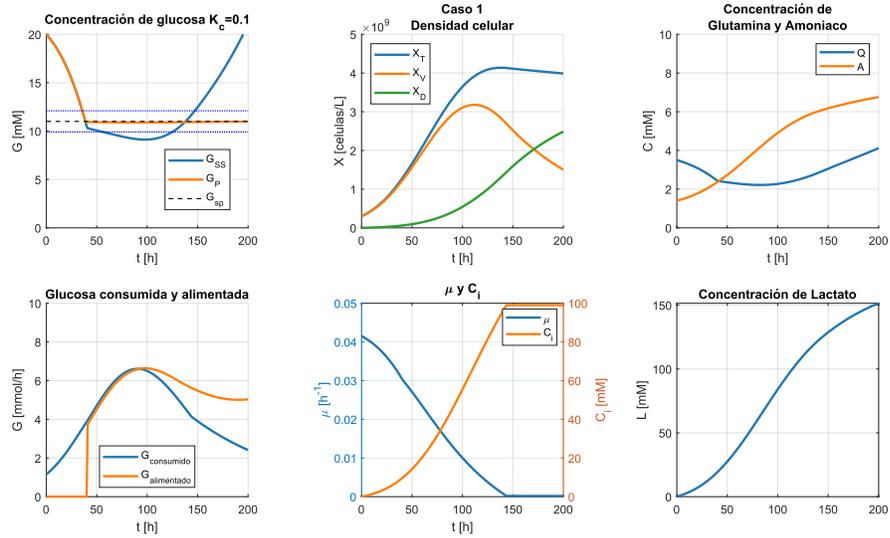


Figura 4.21: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 12 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando un kernel scale 2.2. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Para el caso 2, se obtuvo una estrategia de alimentación de forma similar a la esperada pero de mayor magnitud, como se muestra en la Figura 4.22. Se puede observar que aproximadamente a las 100 horas el flujo alimentado alcanza un valor de 0.0102, 0.0103 y 0.0104 L/h aproximadamente para valores de K_c de 0.005, 0.01 y 0.1 respectivamente. Luego de alcanzar el máximo, la alimentación disminuye hasta las 180 horas, donde aumenta levemente su magnitud. Cabe mencionar que el volumen total no supera los 11.5 L, por lo que la capacidad máxima del sistema no es sobrepasada.

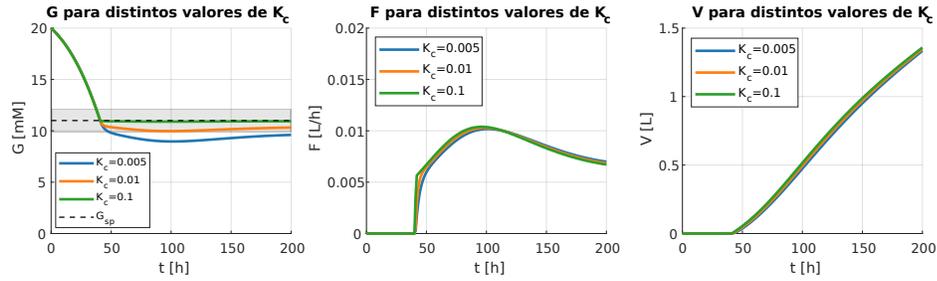


Figura 4.22: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa a un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel scale de 2.2 y datos cada 12 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Una vez implementada la estrategia de alimentación presentada en la Figura 4.22, utilizando la constante proporcional de 0.1, se obtuvo lo expuesto en la Figura 4.23. A partir del gráfico asociado a la concentración de glucosa es posible ver que la acción de control no ocurre en el instante que G sobrepasa el valor del set point, disminuyendo hasta aproximadamente los 10 mM. Al iniciar la acción de control la disminución de G ocurre con una menor velocidad hasta alcanzar un mínimo de aproximadamente 8.5 mM, para luego aumentar hasta el final de la simulación. Algo similar ocurre con la concentración de glutamina, presentando un comportamiento convexo.

Al observar el gráfico asociado a la tasa de consumo y alimentación de glucosa, se puede ver que una vez iniciada la acción de control la tasa de alimentación al sistema es de menor magnitud que la tasa de consumo de glucosa por parte de las células. Esto ocurre aproximadamente hasta las 80 horas, cuando la tasa de alimentación de glucosa supera a la tasa de consumo de glucosa hasta el final de la simulación. Por otro lado, μ presenta un comportamiento decreciente, alcanzando el 0 aproximadamente a las 150 horas, mientras que C_i aumenta su valor hasta alcanzar un valor de 100 mM en el instante que μ se vuelve 0.

Las concentraciones asociadas al amoníaco y lactato presentan un comportamiento creciente hasta alcanzar valores de 6.765 y 151.614 mM. Por último, la densidad de células viables alcanza su máximo aproximadamente a las 115 horas con un valor superior a 3.172×10^9 células/L, mientras que la densidad de células muertas aumenta en el tiempo hasta alcanzar un valor de 2.487×10^9 células/L aproximadamente.

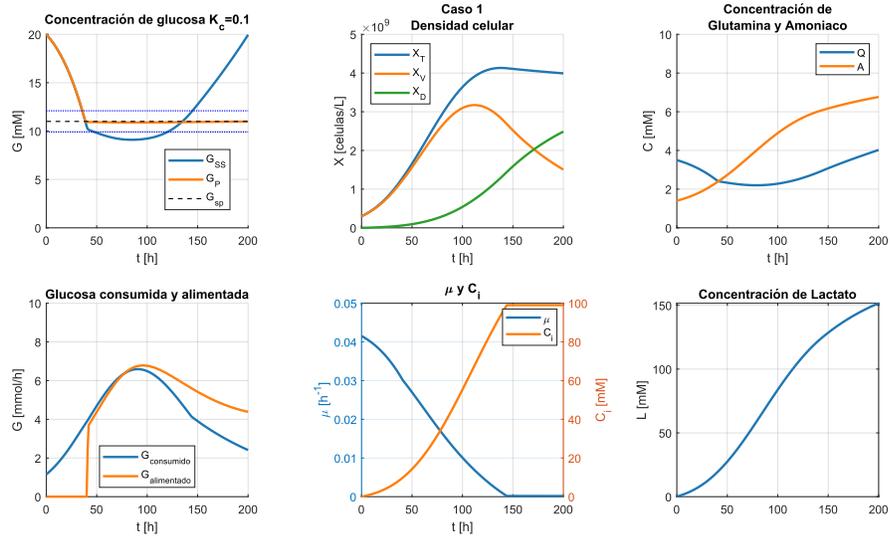


Figura 4.23: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 12 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A , considerando un kernel scale 2.2. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Al considerar el caso 3, presentado en la figura 4.24, se puede ver que la curva de alimentación presenta una forma similar a los casos anteriores, pero con una disminución en la curvatura final. Para el caso de $K_c = 0.1$ la acción de control inicia cerca de las 40 horas, hasta alcanzar un valor máximo de 0.0104 L/h aproximadamente a las 100 horas. Pasado este instante, el flujo alimentado disminuye hasta un valor de 0.0067 L/h aproximadamente. Cabe mencionar que, el volumen total alcanzado tiene un valor de 11.350 L, el cual no supera la capacidad máxima del biorreactor. En el caso de las constantes de proporcionalidad de 0.005 y 0.01 se observan valores máximos de 0.0101 y 0.0102 L/h respectivamente, alcanzando un volumen total de 11.316 y 11.334 L respectivamente.

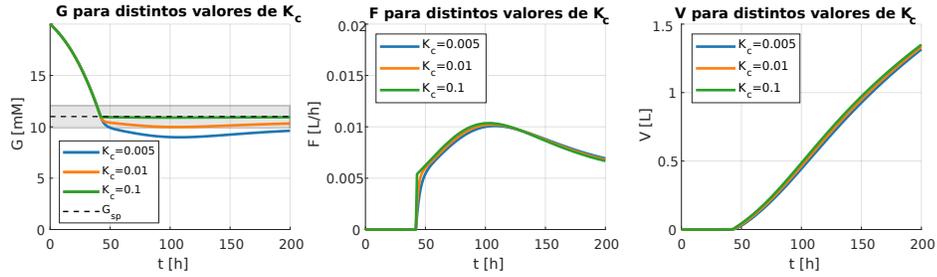


Figura 4.24: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel scale de 2.2 y datos cada 12 horas según el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

La estrategia de alimentación propuesta para el caso 3 con un K_c de 0.1, se encuentra implementada en la Figura 4.25. A partir de esta se puede notar que la acción de control ocurre en un tiempo mayor que los casos anteriores, disminuyendo la concentración de glucosa en el sistema hasta un valor inferior a 10 mM. A partir de ese momento, se suministra glucosa al sistema alcanzando un valor mínimo de 7.591 mM, que luego aumenta hasta superar el valor inicial de esta variable. Ocurriendo un comportamiento similar con la glutamina, que alcanza un valor mínimo de 2.081 mM antes de aumentar hasta superar el su valor inicial.

En cuanto a las tasas de consumo y alimentación de glucosa es posible notar que, al igual que en el caso 1 y 2, la tasa de glucosa alimentada presenta un valor inferior a la tasa de consumo de glucosa por parte de las células inicialmente, hasta aproximadamente las 80 horas donde la tasa es superada hasta el final de la simulación.

Respecto a la concentración de lactato y amoniaco se puede ver que ambos presentan un comportamiento creciente hasta alcanzar un valor de 149.789 y 6.696 mM respectivamente. Presentando la misma tendencia para la concentración del inhibidor desconocido hasta que alcanza un valor constante cercano a 100 mM a las 150 horas aproximadamente, siendo este instante en el que μ alcanza un valor de aproximadamente 0 mM luego de haber disminuido desde su valor inicial. Por último, la densidad de células viables alcanza su máximo aproximadamente a las 110 horas con un valor de 3.121×10^9 células/L mientras que las células muertas aumentan hasta alcanzar un valor cercano a las 2.453×10^9 células/L.

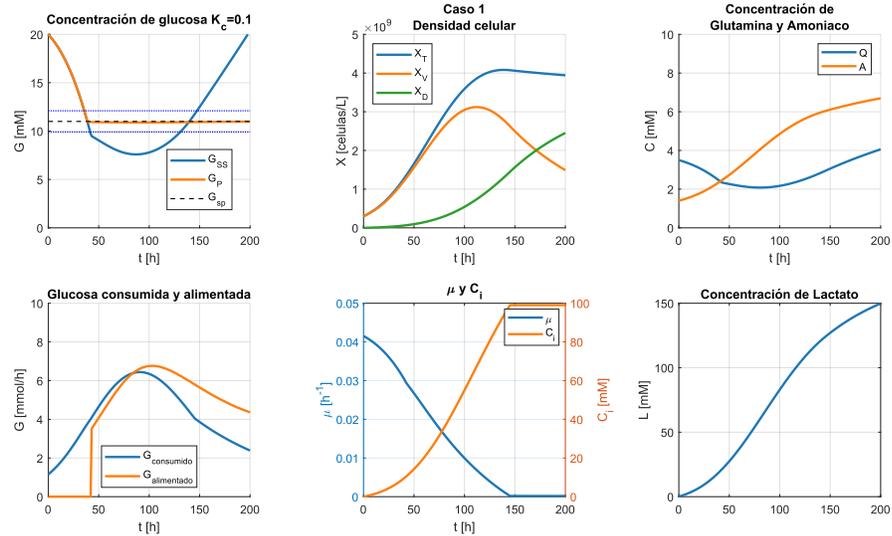


Figura 4.25: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 12 horas según el correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando un kernel scale de 2.2. G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Al utilizar la optimización de hiperparámetros en el caso 1 se obtuvo la estrategia de alimentación presentada en la Figura 4.26. A partir de esta, se puede ver que el flujo alimentado presenta un comportamiento de forma similar a la esperada, con un máximo de aproximadamente 0.0103 L/h para la curva asociada a $K_c = 0.1$, alcanzando un volumen total de 11.191 L. Por otro lado, las curvas de alimentación asociadas a las constantes de proporcionalidad de 0.005 y 0.01 presentar valores máximos de 0.0099 y 0.0101 L/h respectivamente, alcanzando un volumen total de 11.148 y 11.171 L.

Al comparar las 3 curvas de alimentación, se puede ver que a medida que aumenta K_c se presenta una respuesta de mayor velocidad, alcanzando flujos de mayor magnitud y el máximo de alimentación en un tiempo más rápido. Sin embargo, a partir de las 150 horas aproximadamente, el comportamiento de las 3 curvas es similar hasta el final de la simulación.

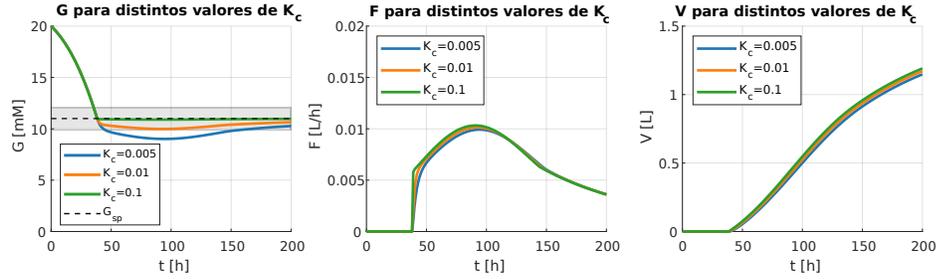


Figura 4.26: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 12 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Al implementar la estrategia de alimentación presentada en la Figura 4.26 utilizando la constante proporcional de 0.1 se obtuvo lo presentado en la Figura 4.27, donde se puede ver que la concentración de glucosa mantiene un valor en el rango de $11 \pm 10\%$ mM hasta las 160 horas aproximadamente. Por otro lado, la acción de control ocurre rápidamente, alimentando una cantidad de glucosa por sobre la tasa de consumo por parte de las células en casi todo instante; siendo ambas de magnitud similar en el peak de consumo de glucosa hasta que el crecimiento celular cesa. A partir de este momento, la tasa de consumo de glucosa por parte de las células es mayor a la tasa de alimentación al sistema.

Al comparar la tasa de consumo y de alimentación al sistema se puede ver que una vez iniciada la acción de control, la tasa de glucosa alimentada alcanza valores levemente superiores al consumo de glucosa, manteniendo una magnitud similar hasta que cesa el crecimiento celular, instante en el que la tasa de consumo de glucosa por las células sobrepasa a la tasa de alimentación al biorreactor.

Es posible ver que las células viables presentan un crecimiento hasta las 100 horas aproximadamente, alcanzando un valor máximo de 3.222×10^9 células/L, a diferencia del caso sin optimización de hiper parámetros donde se obtuvo una densidad celular de células viables de 3.179×10^9 células/L. Mientras que las células muertas presentan un crecimiento hasta alcanzar un valor de 2.561×10^9 células/L.

Del valor de μ se puede notar que este disminuye hasta alcanzar un valor nulo aproximadamente a las 143 horas. Por su parte, la concentración de inhibidores alcanza valores de 155.631 y 6.904 mM para L y A respectivamente, siendo mayor al caso sin optimización, donde se alcanzaron valores de 151.488 y 6.759 mM para L y A respectivamente. En el caso de la concentración del inhibidor desconocido, se tiene que este aumenta hasta alcanzar un valor cercano a 100 mM, instante en el que μ mantiene una magnitud cercana a 0 mM.

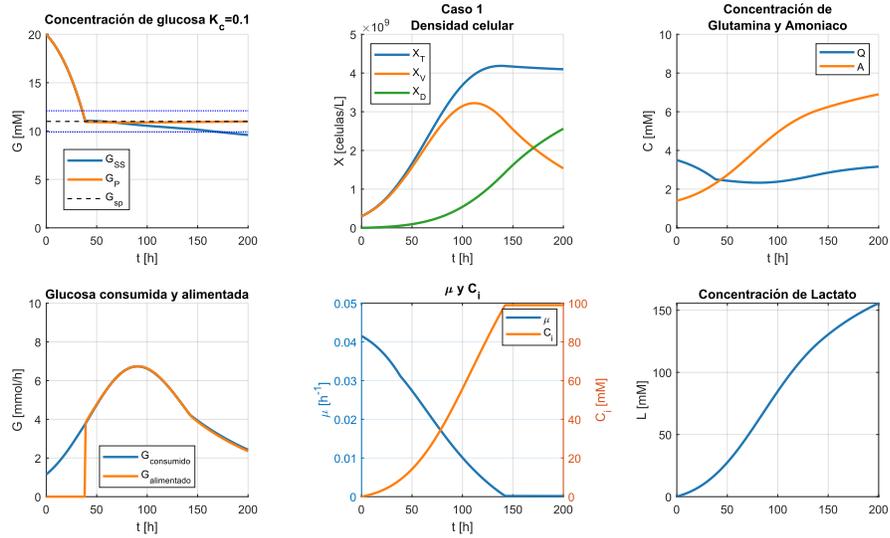


Figura 4.27: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 12 horas según el caso 1 considerando la optimización de hiper parámetros. G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Para el caso 2, presentado en la Figura 4.28, se tiene una tendencia similar a la esperada, al igual que en el caso 1 con optimización de hiperparámetros. Para esta estrategia de alimentación se alcanza un valor máximo de 0.0108 L/h y un volumen total de 11.269 L, al considerar K_c de 0.1. En el caso de la constante proporcional de 0.005 y 0.01 se alcanza un máximo de 0.0104 y 0.0106 L/h respectivamente, con un volumen total de 11.240 y 11.255 L para cada constante respectivamente.

Al comparar las 3 curvas de alimentación, se puede ver que a medida que aumenta K_c se presenta una respuesta de mayor velocidad, alcanzando flujos de mayor magnitud y el máximo de alimentación en un tiempo más rápido.

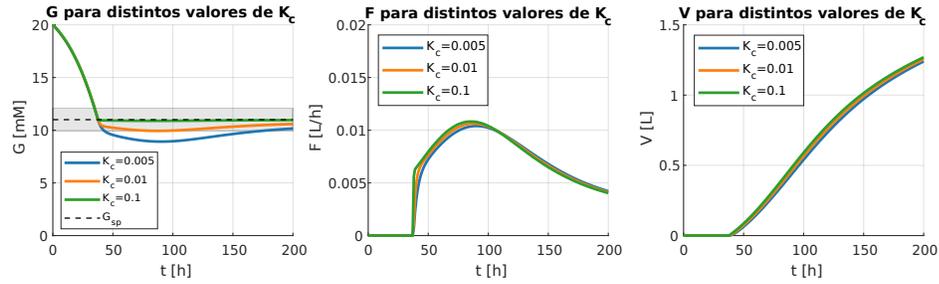


Figura 4.28: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 12 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

En la Figura 4.29 se presenta la estrategia de alimentación mostrada en la Figura 4.28, donde se puede ver que la concentración de glucosa mantiene un valor por sobre el set point. Sin embargo, este se encuentra fuera del rango de $11 \pm 10\%$ mM. Por su parte, la glutamina mantiene un comportamiento similar a la glucosa, que tiende al aumento.

Del gráfico asociado a las tasas de consumo y alimentación de glucosa se puede ver que presentan un comportamiento similar, donde la tasa de glucosa alimentada es mayor en todo instante de la simulación. A excepción de un leve intervalo de tiempo comprendido entre las 110 y 120 horas aproximadamente.

En cuanto a la densidad de células viables se puede notar que el máximo alcanzado es de 3.263×10^9 a las 115 horas aproximadamente mientras que la densidad de células muertas aumenta hasta alcanzar un valor de 2.578×10^9 células/L. Por otro lado, μ presenta un decrecimiento hasta alcanzar una magnitud cercana a 0 mM aproximadamente a las 150 horas, instante que coincide con el aumento de C_i hasta un valor cercano a 100 mM. Respecto a las concentraciones de lactato y amoníaco se puede ver que mantienen un comportamiento creciente, hasta alcanzar un valor de 156.514 y 6.952 mM respectivamente al finalizar la simulación.

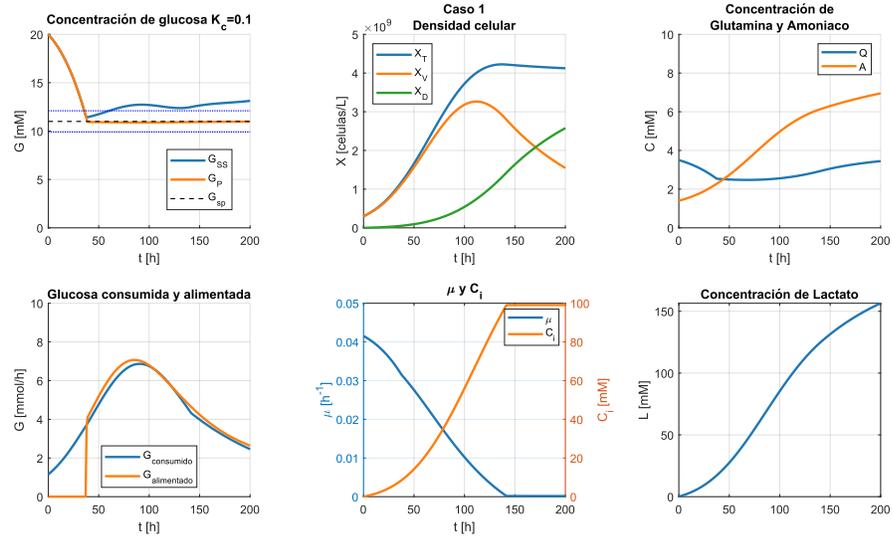


Figura 4.29: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 12 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A , considerando la optimización de hiper parámetros. G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

En el caso 3, mostrado en la Figura 4.30, se puede ver que la estrategia de alimentación sugerida presenta un comportamiento similar a los casos anteriores. Alcanzando un flujo de alimentación máximo de 0.0101 L/h y un volumen total de 11.175 L, para un K_c de 0.1. En el caso de las constantes proporcionales de 0.005 y 0.01 el flujo de alimentación máximo es de 0.0098 y 0.0100 L/h respectivamente, alcanzando un volumen total de 11.144 y 11.160 L respectivamente. Al comparar las 3 curvas de alimentación, se puede ver que utilizar un K_c de mayor magnitud entrega una respuesta de mayor velocidad.

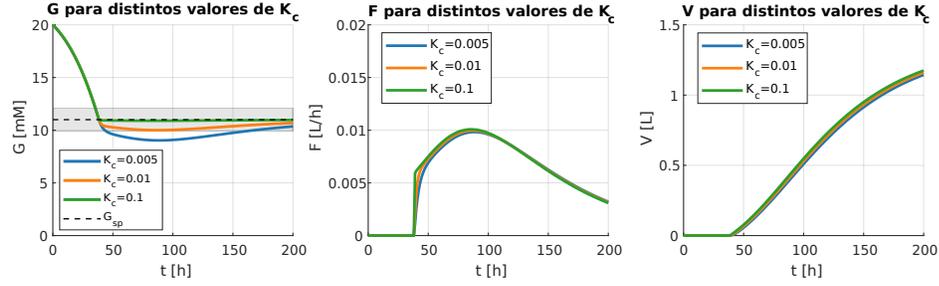


Figura 4.30: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 12 horas según el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

La estrategia de alimentación presentada en la Figura 4.30 para una constante proporcional de 0.1 se implementó en el sistema, obteniendo lo expuesto en la Figura 4.31. En primer lugar, se puede notar que cuando la concentración de glucosa alcanza un valor de aproximadamente 11 mM la acción de control mantiene un valor superior a este hasta aproximadamente las 90 horas, donde G disminuye alejándose del set point y de la zona $G_{sp} \pm 10\%$.

Al analizar las tasas de consumo y alimentación se puede ver que la cantidad de glucosa administrada es mayor a la consumida a inicios de la acción de control, hasta aproximadamente las 70 horas. Luego, la tasa de alimentación es inferior a la de consumo hasta el final de la simulación. A excepción de un intervalo de tiempo comprendido entre las 130 y 155 horas aproximadamente, donde la tasa de alimentación es brevemente superior a la tasa de consumo de glucosa por parte de las células.

En cuanto a la densidad de células viables se puede notar que se alcanza un máximo de 3.228×10^9 células/L a las 115 horas aproximadamente, mientras que la densidad de células muertas aumenta hasta alcanzar un valor de 2.568×10^9 células/L. Por otro lado, la concentración de glutamina presenta una tendencia creciente una vez iniciada la alimentación, alcanzando un valor final de 3.083 mM. Respecto a las concentraciones de lactato y amoníaco, estas presentan un comportamiento creciente hasta alcanzar un valor de 155.881 y 6.911 mM respectivamente.

Por último, μ es decreciente hasta alcanzar un valor cercano a 0 aproximadamente a las 150 horas, instante en el cual la concentración del inhibidor desconocido alcanza una concentración constante cercana a 100 mM luego de tener un comportamiento creciente a lo largo del cultivo.

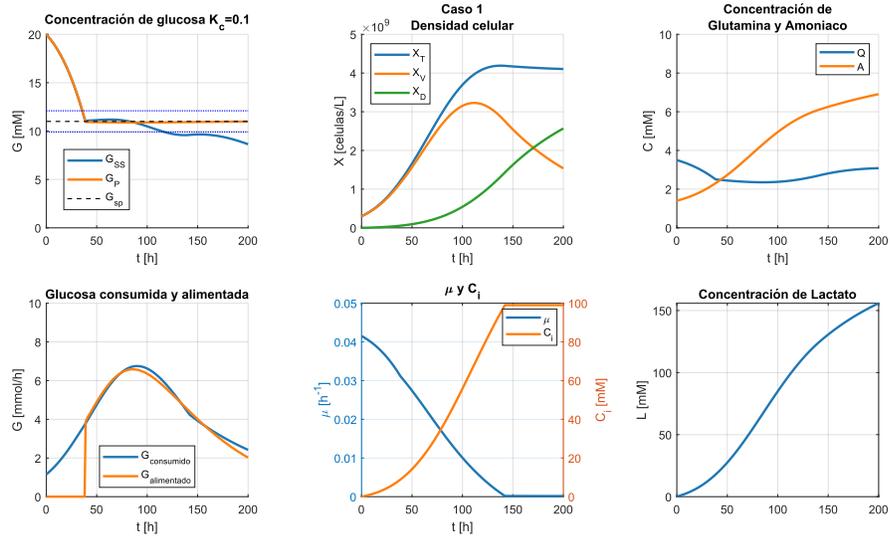
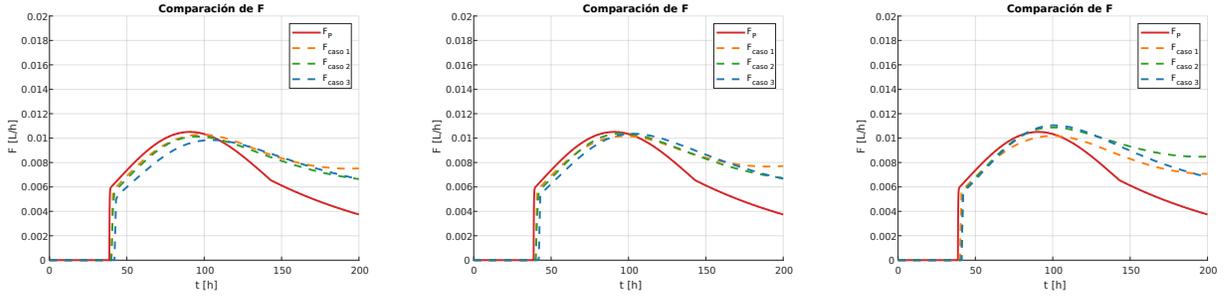


Figura 4.31: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 12 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando la optimización de hiper parámetros. G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

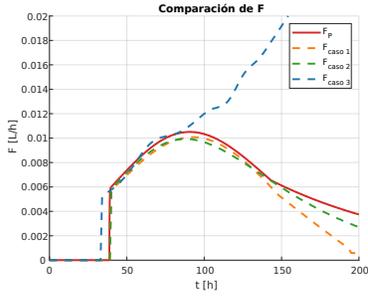
Los resultados asociados a la estrategia de control entregada por el predictor y su posterior implementación para los casos en que se consideran datos experimentales cada 4 y 24 horas se encuentran en el Anexo C. A partir de lo presentado, es posible notar que los comportamientos comentados para la utilización de datos cada 12 horas son aplicables en el caso de 4 y 24 horas al considerar un kernel scale de 2.2. Sin embargo, los valores máximos alcanzados por cada estrategia de alimentación difieren levemente. Presentando valores de mayor magnitud al considerar un menor intervalo de tiempo para los datos considerados, así como un menor tiempo de reacción por parte del sistema. En la Figura 4.32 se puede observar la comparación entre las estrategias de alimentación obtenidas para cada predictor al utilizar datos cada 4 horas (Figura a), 12 horas (Figura b) y 24 horas (Figura c) al considerar un kernel scale de 2.2.



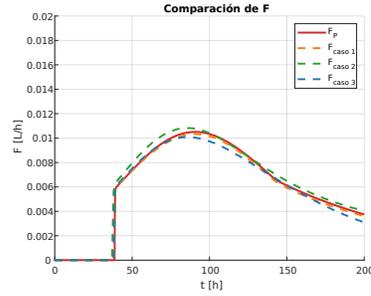
(a) Soft sensor con datos cada 4 horas (b) Soft sensor con datos cada 12 horas (c) Soft sensor con datos cada 24 horas

Figura 4.32: Comparación de las estrategias de alimentación entregadas por el sistema de control proporcional y los distintos soft sensor implementados con un kernel scale de 2.2, para un cultivo con condiciones iniciales de: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. F_P corresponde al flujo de alimentación entregado por el sistema de control proporcional y $F_{caso i}$ corresponde a la estrategia de alimentación entregada por los soft sensor considerando diferentes entradas, donde el caso 1 considera X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2 considera G , Q , L y A y el caso 3 considera G y L . Elaboración propia.

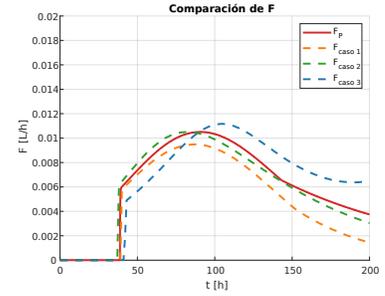
Por otro lado, en la Figura 4.33 se presenta la comparación entre las estrategias de alimentación entregadas para cada predictor al utilizar datos cada 4 horas (Figura a), 12 horas (Figura b) y 24 horas (Figura c) considerando la optimización de hiper parámetros. En el caso de los predictores con optimización de hiper parámetros se debe notar que se presentan resultados que difieren considerablemente del caso cada 12 horas. En el caso 3 cada 4 horas se presenta una estrategia de alimentación que se escapa del comportamiento esperado (F_P), alimentando glucosa por sobre la tasa de consumo de glucosa de forma sostenida. Por otro lado, en el caso 3 cada 24 horas el flujo de alimentación es subestimado inicialmente y luego sobre estimado por sobre los niveles observados en los otros predictores. Al comparar los 3 intervalos de muestreo se puede notar que la utilización de datos cada 4 horas presenta un comportamiento general de mayor similitud entre los diferentes casos.



(a) Soft sensor con datos cada 4 horas



(b) Soft sensor con datos cada 12 horas



(c) Soft sensor con datos cada 24 horas

Figura 4.33: Comparación de las estrategias de alimentación entregadas por el sistema de control proporcional y los distintos soft sensor implementados con un kernel scale de 2.2, para un cultivo con condiciones iniciales de: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. F_P corresponde al flujo de alimentación entregado por el sistema de control proporcional y $F_{caso i}$ corresponde a la estrategia de alimentación entregada por los soft sensor considerando diferentes entradas, donde el caso 1 considera X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2 considera G , Q , L y A y el caso 3 considera G y L . Elaboración propia.

Capítulo 5

Discusiones

5.1. Modelo del cultivo celular

El modelo presentado por Craven para una operación Batch permite representar la evolución del cultivo en el escenario analizado, manteniendo el crecimiento de las células viables hasta aproximadamente las 90 horas cuando la glucosa se agota (ver Figura 4.1). Además, μ presenta un comportamiento decreciente en el tiempo hasta agotar la concentración de glucosa disponible, donde alcanza un valor cercano a 0 mM sostenido en el tiempo.

Al observar la ecuación A.8 se puede ver que el comportamiento de μ es directamente proporcional a G y Q , por lo que al alcanzar valores cercanos a 0 mM se tendrá un efecto inmediato en la magnitud de μ . Por otro lado, los puntos críticos en la expresión de μ , donde podría haber una indeterminación del sistema, corresponden a valores negativos, por lo que alcanzar aquellos valores no tendría sentido físico ya que no existen las concentraciones negativas. Por lo que, no existiría un riesgo de indeterminación.

En el gráfico asociado a la densidad celular de la Figura 4.1 se puede ver que la curva asociada a las células muertas presenta un crecimiento cuasi constante hasta aproximadamente las 90 horas, momento en el cual X_D aumenta drásticamente hasta alcanzar su máximo a las 110 horas aproximadamente. A partir de la ecuación A.3 se puede ver que existe un término asociado a la generación de células, relacionada con k_d y X_V , y un término asociado a la ruptura de estas, relacionado con K_{LYSIS} y X_D . Al analizar el comportamiento de k_d se puede notar que en el instante que X_D aumenta con mayor velocidad coincide con el momento en que k_d aumenta rápidamente de un valor de 2.7×10^{-3} a uno de $10 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$. Mientras que, K_{LYSIS} mantiene un valor constante de 0.004 h^{-1} a lo largo del tiempo de simulación. Debido a que el término de generación está relacionado con las células viables y el de consumo con las células muertas se ve favorecida la producción de X_D inicialmente por la diferencia de magnitud en ambas variables.

Por otro lado, la densidad celular de células totales y viables alcanzan su máximo a las 90 horas aproximadamente. De la ecuación A.1 y A.1 se puede ver que ambas ecuaciones se ven relacionadas con μ , siendo este el motivo por el cuál el máximo de ambas curvas es alcanzado en un tiempo cercano al que μ se acerca a 0. En el caso de X_T el término relacionado con la ruptura celular, el cual depende de X_D y la constante K_{LYSIS} con un valor de 0.004 h^{-1} , es el responsable de representar la disminución de la densidad de células totales. Mientras que,

en el caso de las células viables el término relacionado a la muerte celular, que depende de k_d y X_V , permite explicar el comportamiento decreciente luego del máximo. Se debe notar que en el instante que la curva de X_V alcanza su máximo es cuando las curvas de μ y k_d se intersectan, por lo que existe un cambio de signo para la variación de X_V .

De la Figura 4.1 se puede notar que existe una relación inversa entre las variables (G, L) , (Q, A) y (μ, k_d) . Al analizar las ecuaciones del modelo Batch presentadas en el Anexo A, se puede ver que la expresión para la variación de la concentración del lactato (ecuación A.6) está definida en función del consumo de glucosa, lo cual permite explicar la relación inversa que estas variables presentan. Ocurrendo lo mismo con la expresión de la variación del amoníaco (ecuación A.7) que se encuentra en función del consumo y degradación de glutamina.

Por otro lado, respecto al comportamiento de k_d se tiene una tendencia inversa a la presentada por μ , lo cuál se relaciona con la definición de ambas variables en el modelo. En específico, k_d está definido en función de μ con una relación inversamente proporcional, motivo por el cual la disminución de μ desencadena un aumento de k_d . Este fenómeno representa la muerte celular, donde al no existir un crecimiento por parte de las células viables se ve favorecida la muerte de las mismas. Sin embargo, mientras las células mantienen un crecimiento de su densidad, la tasa de muerte de las mismas no es un factor principal en el desarrollo del cultivo.

Al considerar el modelo Fed-Batch, presentado en la sección 3.1, se debe notar que se incluyen términos relacionados a la adición de volumen en el reactor en cada ecuación diferencial, lo cuál disminuye las concentraciones y densidades siempre que exista una alimentación en el sistema. Además, es introducida una variable asociada a la concentración de un inhibidor desconocido, el cual permitió a los investigadores explicar el efecto inhibitorio que observaron al cambiar el modo de operación. Este factor es incidente en la tasa de crecimiento celular, reduciendo el valor de μ a medida que aumenta la concentración del inhibidor. Sin embargo, este término se ve limitado por la concentración de saturación del mismo, lo cuál genera inconvenientes en el signo de μ una vez que se supera el valor de C_i^* correspondiente a 100 mM. Por otro lado, algunos parámetros del modelo adquieren valores diferentes al presentado en el modelo Batch. Por ejemplo, la tasa de ruptura celular (K_{LYSIS}) cambia de un valor de 0.004 h^{-1} a uno de 0 h^{-1} , lo cual se traduce en la eliminación del término de consumo en las ecuaciones asociadas a las células totales (ecuación 3.5) y muertas (ecuación 3.7).

De la expresión de μ presentada en la ecuación 3.13 se debe tener en consideración ciertos eventos que podrían afectar el modelo. En primer lugar, se debe considerar que ante concentraciones de lactato y amoníaco iguales a -150 y -40 mM el sistema podría indeterminarse. Sin embargo, estos eventos carecen de un sentido físico ya que las concentraciones son de signo positivo. Por otro lado, se tiene el cambio de signo de la concentración de glucosa y glutamina así como el alcance de valores de concentración de -1 y -0.22 respectivamente, los cuales, al igual que para L y A , carecen de sentido físico. Sin embargo, no significaría un problema para la implementación a partir de la condición para no tener concentraciones negativas. Por último, respecto a la concentración del inhibidor desconocido es necesario mencionar que al sobrepasar la concentración de 100 mM se presenta un cambio de signo en el sistema. Este cambio de signo provocaría una aceleración de la muerte celular, así como la producción de glucosa y glutamina en el sistema y el consumo de lactato y amoníaco, por lo que la consideración de una concentración máxima para C_i se considera oportuna para evitar

cambios de signo en μ .

A partir de las ecuaciones del modelo se puede notar que la variable relacionada al volumen debe ser necesariamente distinta a 0 para evitar problemas numéricos. Sin embargo, esto no ha de significar una complicación en el modelo ya que el volumen dentro del sistema debe ser necesariamente distinto al valor problemático. Puesto que, en caso contrario el modelo quedaría indeterminado.

La simulación presentada en la Figura 4.2, correspondiente a la utilización del modelo Fed-Batch sin considerar una alimentación al sistema, se detiene a las 66 horas debido a una indeterminación del sistema. Esto se debe a que el valor alcanzado por μ es de -0.0096 h^{-1} , el cual es cercano al punto de indeterminación de k_d correspondiente a -0.01 h^{-1} . La tendencia de μ a acercarse a -0.01 provoca un aumento abrupto de k_d , lo cual desencadena un aumento y disminución drástico en X_D y X_V respectivamente; lo cual se relaciona con una muerte celular acelerada.

Cabe mencionar que, hasta el instante en que la simulación se detiene, se presenta la misma relación anteriormente descrita entre las variables para el caso Batch, donde G y L presentan un comportamiento inverso, así como ocurre con los pares (Q, A) y (μ, k_d) . Sin embargo, debido al cambio en los parámetros del modelo, la concentración de glucosa alcanza valores negativos que no se encuentran en las proximidades del cero como ocurría en el caso Batch. Siendo esto último la razón por la que μ llega a su punto de indeterminación.

Como se puede ver en la ecuación 3.8, el término asociado a la mantención de glucosa (m_G) provoca que una vez se agote esta especie en el sistema aún se exhiba un consumo de G siempre y cuando la X_V no sea igual a 0 células/L, lo que produce que esta variable adquiera valores negativos. Es importante notar que este comportamiento también se presenta en la ecuación asociada a Q , donde existen 2 términos de consumo relacionados a la mantención y degradación de esta especie. Las consecuencias de considerar este cambio de signo en ambas variables afectan directamente el signo de μ y por ende en la representación del sistema ya que podría ver acelerada la muerte de las células.

La consideración de un criterio de detención de la variación de glucosa ante concentraciones cercanas a cero permite mantener un comportamiento que no se aleje de la realidad, dado que no se puede consumir la glucosa que no se encuentra disponible. Por otro lado, continuar la simulación permite visualizar el comportamiento del resto de las variables y la velocidad con que estas varían una vez se agota la concentración de G .

La utilización de valores negativos para μ repercute en la ecuación de G (ecuación 3.8), Q (ecuación 3.9), L (ecuación 3.10) y A (ecuación 3.11), donde en el caso de G y Q el término asociado al consumo de estas especies debido al crecimiento se convertiría en un término de generación de G y Q . Por otro lado, en el caso de L y A el término asociado a la generación de estas especies debido al desarrollo celular se convertiría en un término de consumo de L y A . Sin embargo, al observar la Figura 4.2 no es posible identificar un cambio en la trayectoria de las curvas anteriormente mencionadas. Esto se debe a que la magnitud alcanzada por el término de consumo (o generación según sea el caso) es de baja magnitud. Por ejemplo, en la ecuación asociada a G adquiere un valor de $-5.687 \times 10^{-11} \text{ mmol cells}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Al analizar el

intervalo del cambio de signo hasta antes de la indeterminación del sistema, con los datos de la simulación, se tiene que el rango que puede adoptar este término es de aproximadamente 0 a $5.882 \times 10^{-11} \text{ mmol cells}^{-1} \text{ h}^{-1}$, por lo que en ningún instante anterior a la indeterminación del modelo es visible este efecto.

Al simular el modelo Fed-Batch, con la modificación para la concentración de glucosa, sin una alimentación (ver Figura 4.3) se puede notar que la variable asociada a la glucosa presenta una gran influencia en la definición de μ por su rápido consumo en comparación a la glutamina, la cual en el momento que se agota la glucosa aún presenta una concentración en el reactor; lo cuál explica la diferencia en sus concentraciones iniciales. Por otro lado, se puede ver que la tasa de aparición del lactato en comparación a la de amoniaco presenta una tendencia similar pero en una escala diferente, la cual se ve relacionada con lo anteriormente mencionado, ya que la aparición de los inhibidores L y A se define en función del consumo de G y Q respectivamente.

Al observar la curva de la concentración de lactato se puede notar que esta es creciente en todo su dominio. Se ha de recordar que esta variable está definida en función del consumo de glucosa por parte de las células, por lo que una vez G tenga un valor cercano a 0 debiese cesar el aumento de L . Sin embargo, debido a que la condición de detención de dG ante valores cercanos a 0 es una solución matemática para esta curva, no se reflejada en la ecuación de dL (ecuación 3.10) que presenta el término de mantención de glucosa anteriormente mencionado. Esto significaría una imposibilidad del modelo para responder ante el agotamiento de variables como G , no pudiendo representar lo que ocurre en este sistema biológico.

Si bien es posible incluir más condiciones en el modelo para que este no pierda sentido físico ni se aleje de la realidad, esto podría provocar múltiples limitaciones en el sistema ya que no todas las variables se consumen en un mismo tiempo. Por ejemplo, en el instante en que G alcanza una concentración nula Q aún presenta una concentración superior a 1 mM. Por lo que, si el enfoque del estudio se centra en el comportamiento de la glucosa únicamente podría ser oportuno detener la simulación una vez que la glucosa se agote.

Del gráfico asociado a las densidades celulares presentado en la Figura 4.3 se debe notar que la cantidad de células totales aumenta sostenidamente en el tiempo con una mayor velocidad en el intervalo de las 0 a 80 horas aproximadamente. Esto se relaciona con la consideración de una tasa de ruptura celular (K_{LYSIS}) de 0 h^{-1} , correspondiente al término de consumo en la ecuación 3.7. Como se mencionó anteriormente, esta consideración se traduce en la eliminación del término de consumo, por lo que al ser μ positivo en todo el dominio no se presenta una disminución de esta variable; al comparar los valores en los últimos 2 instantes de tiempo graficados se obtiene una diferencia de 2.364×10^3 . Se debe recordar que, en esta simulación no considera una alimentación por lo que el término asociado a esta no produce un efecto de disminución en la concentración.

Cabe mencionar que, al igual que ocurre con las células totales, la densidad de células muertas se ve afectada por la consideración de una tasa de muerte celular nula, provocando que X_D aumente en el tiempo sin disminuir su valor. Por otro lado, la densidad de células viables crece hasta alcanzar un máximo de aproximadamente 1.8×10^9 a las 80 horas, instante en el cual las tasas de crecimiento y muerte celular se intersectan, conllevando a una

dominancia de la muerte celular en el sistema.

Al comparar los gráficos presentados en las Figuras 4.1 y 4.3 se puede notar que la densidad de células viables presenta un comportamiento similar en ambos casos, lo cuál es esperable ya que ambas ecuaciones mantienen una estructura similar a pesar de incluir el término de dilución en la ecuación 3.6. Sin embargo, las densidades de células totales y muertas presentan diferencias notorias debido a la consideración de un valor nulo para K_{LYSIS} . En términos de la simulación esto podría conllevar diferencias con un escenario real, sobre estimando la cantidad de células muertas presente.

Otro punto relevante de la comparación del sistema sin alimentación es en la concentración de lactato presente en el sistema. Sin embargo, como se mencionó anteriormente esto está relacionado con el parámetro de consumo de glucosa para mantención celular y el cambio de parámetros del modelo Batch a Fed-Batch.

De la Figura 4.4 se puede ver que las densidades celulares tienen un comportamiento similar al presentado en la Figura 4.3, el cual está relacionado con las características del modelo mencionadas anteriormente, como por ejemplo la utilización de una tasa de ruptura celular igual a 0 h^{-1} . Sin embargo, se puede ver que existe un máximo en las curvas de X_T , X_V y X_D que está relacionado con la alimentación constante, la cual produce un aumento en el volumen inicial del sistema.

Respecto a la concentración del inhibidor desconocido se puede notar que este supera el valor de C_i^* correspondiente a 100 mM aproximadamente a las 120 horas. Además, luego de las 200 horas se puede ver que la concentración de C_i disminuye debido al aumento del volumen contenido en el reactor.

En cuanto al comportamiento de μ , se puede ver que este presenta un cambio de signo debido a valores de C_i mayores a 100 mM. Este cambio de signo es propio de la definición del modelo ya que en la realidad este indicador no puede presentar un valor negativo, dado que representa el crecimiento de la densidad de células viables. Por lo que la condición incluida en el modelo para no superar la concentración máxima en solución del inhibidor desconocido permitiría tener un resultado que no pierda sentido físico. Se ha de recordar que C_i busca representar un efecto inhibitorio adicional percibido en el modelo Fed-Batch, relacionado con el cese del crecimiento celular en el reactor, por lo que limitar el aumento de C_i no necesariamente implicará un efecto negativo en el sistema.

Cabe mencionar que, a diferencia de lo que ocurrió en la Figura 4.2 μ no alcanza el valor crítico en la ecuación 3.14, por lo que el modelo puede continuar su simulación. Esto se ve relacionado con la concentración del inhibidor desconocido que disminuye su concentración antes de que μ tenga un valor de -0.01 h^{-1} . Es por ello que, la curva de k_d presenta un máximo en esta simulación.

En cuanto a las concentraciones de glucosa y glutamina es posible notar que estas alcanzan un mínimo a partir del cuál no vuelven a disminuir su concentración en el sistema. La razón de este comportamiento tiene relación con el crecimiento celular, ya que en el momento que μ alcanza un valor nulo la densidad de células viables disminuirá provocando un menor consu-

mo tanto de glucosa como glutamina por parte de las células. Por otro lado, la concentración de amoníaco mantendrá un comportamiento creciente que se verá afectado parcialmente por el aumento de volumen en el sistema.

En la Figura 4.5 se presenta la simulación una vez implementadas las modificaciones para la concentración de glucosa y del inhibidor desconocido. A partir de ello se puede ver que las densidades celulares y concentraciones al interior del reactor presentan comportamientos similares a los que se encuentran en las investigaciones de Craven [22, 56].

En primer lugar, la densidad de células viables presenta un máximo cercano a 3.5×10^9 células/L aproximadamente a las 110 horas la cual coincide con la caída y aumento de μ y k_d respectivamente, explicando la disminución de X_V . Al analizar la expresión para la variación de X_T se puede ver que además del término asociado a μ se tiene un término asociado a K_{LYSIS} . Sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, este presenta un valor nulo por lo que no tiene relevancia en términos numéricos, lo cual explica que la densidad de células muertas tienda a aumentar sin disminuir. Cabe mencionar que al no presentar el cambio de signo en μ la muerte celular no se ve acelerada como ocurrió en la Figura 4.4, donde las células viables disminuyeron con una tendencia al 0.

En cuanto a las concentraciones de glucosa y glutamina se tiene un comportamiento similar al descrito anteriormente en el caso sin restricción para C_i , donde es posible notar que el valor máximo alcanzado para G y Q tiene una menor magnitud al incluir la modificación. Esto se ve relacionado con el término asociado al consumo de glucosa y glutamina, donde un μ de signo negativo se traduciría en la producción de glucosa por parte de las células en lugar del consumo de esta. Por lo que, al limitar la concentración máxima del inhibidor desconocido se evita estas discordancias del modelo y la realidad.

Por otro lado, las concentraciones de lactato y amoníaco aumentan de forma sostenida debido a que ambas variables dependen del consumo de glucosa y glutamina, las cuales al ser constantemente alimentadas serán consumidas hasta que no haya presencia de células viables en el sistema.

Cabe mencionar que, los valores presentados para el lactato tienen la mayor magnitud del sistema en cuanto a concentraciones, lo cuál en la realidad es poco viable debido al comportamiento inhibitorio que genera en los cultivos, donde se ha encontrado que concentraciones superiores a 20 mM ya presentan un efecto inhibitorio [37]. Al analizar el modelo propuesto, se considera una constante de inhibición por lactato de 150 mM, lo cual es considerablemente mayor al reportado en literatura. Sin embargo, en los resultados presentados en la investigación de Craven [56] se puede notar que para los datos experimentales que presentaron, se alcanzaron concentraciones de hasta 150 mM de L en el cultivo. por lo que los resultados obtenidos en las simulaciones realizadas son acordes al modelo utilizado.

El supuesto relacionado a la concentración inicial de C_i se ve respaldado en ser un subproducto del metabolismo celular. Al considerar una concentración inicial distinta a cero es de esperar que el desarrollo del cultivo se vea afectado de forma negativa ya que la presencia del inhibidor disminuirá el crecimiento de las células presentes, y por consiguiente reducirá los valores alcanzados por el resto de las variables de estado.

En la Figura 5.1 se puede ver que al realizar la simulación para el escenario 4 considerando una concentración inicial del inhibidor desconocido de 20 mM en un reactor Fed-Batch, con una alimentación constante de 0.006 L/h, las densidades celulares alcanzan un valor de 2.976×10^9 , 4.313×10^8 y 2.545×10^9 células/L para las células totales, viables y muertas respectivamente. Al comparar estos resultados con los presentados en la Figura 4.3 se puede notar que las densidades celulares alcanzadas son de menor magnitud al considerar una concentración inicial de C_i distinta de 0 mM. Asimismo, al observar las concentraciones presentes de lactato y amoniaco en la Figura 5.1 se puede ver que el valor máximo alcanzado por estas especies corresponde a 132.505 y 6.559 mM respectivamente, el cual es menor al reportado anteriormente. Esto se ve relacionado con la cantidad de células presentes, ya que al haber una menor cantidad se produce una menor cantidad de L y A en consecuencia del metabolismo celular. En cuanto a las concentraciones de glucosa y glutamina se puede ver que presentan un mayor valor que en el caso inicial en toda su trayectoria, lo cual se ve relacionado con la alimentación suministrada ya que al presentar una menor cantidad de células en el reactor el consumo de G y Q será menor comparativamente. Como se presenta en las ecuaciones 3.8 y 3.9, ambas ecuaciones incluyen un término asociado al consumo de ambas especies por parte de las células; con lo cual una menor cantidad de células consumirá una menor cantidad de G y Q lo que resulta en un aumento de la concentración de ambas variables debido a que la alimentación en ambos casos (Figura 4.3 y 5.1) es de una misma magnitud que en el caso inicial.

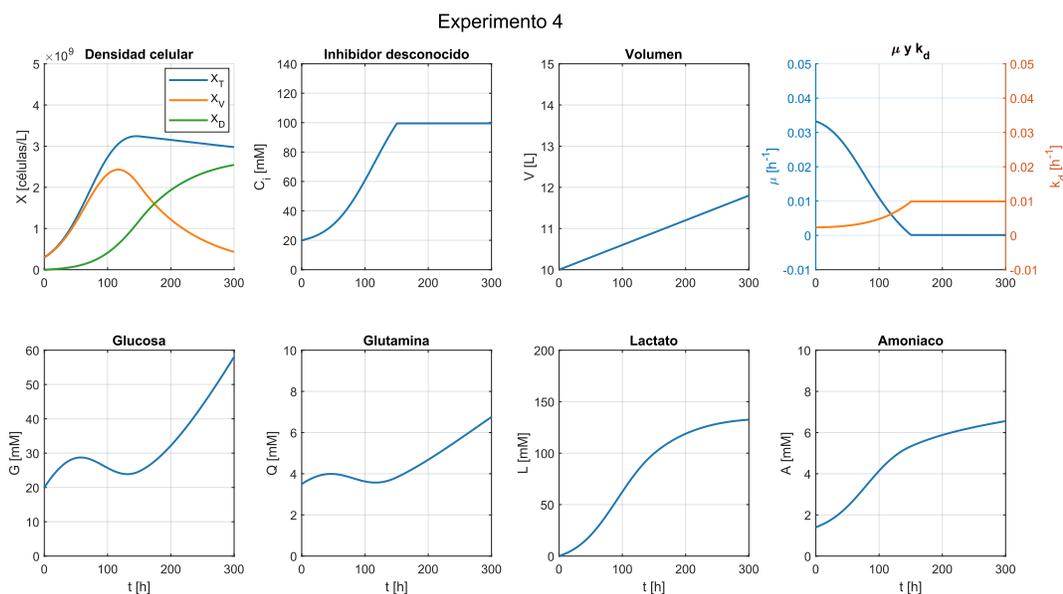


Figura 5.1: Simulación considerando que la concentración inicial del inhibidor desconocido (C_i) es 20 mM utilizando el model Fed-Batch modificado.

Del análisis realizado con *RStudio* se puede notar que el volumen no es utilizado para la correlación dado que, al tratarse de una operación Batch, se mantiene constante a lo largo del tiempo analizado. De los valores de correlación presentados es posible ver que existe una alta correlación positiva y negativa de las variables, siendo varias de estas con una magnitud mayor a 0.8.

Al analizar los pares con una magnitud de correlación mayor a 0.9 se tiene que μ presenta una fuerte correlación con variables como la densidad celular de células totales y las concentraciones de glucosa, glutamina, lactato y amoniaco. Esto guarda relación con la formulación de la expresión de μ , la cual está definida en función de G , Q , L , A y C_i , donde G y Q son directamente proporcionales a μ , mientras que L y A son inversamente proporcionales a μ . Al respecto, y en apoyo con la Figura 4.3 se debe notar que las curvas de G , Q y μ decrecen a medida que μ decrece, presentando un comportamiento similar entre G y μ a medida que la concentración de glucosa se agota, respaldando la alta correlación entre estas variables. Por otro lado, la densidad de células totales presenta un comportamiento inverso al observado en el gráfico de μ , donde una vez que cesa el crecimiento exponencial se alcanza un estado en que las células mantienen un valor con tendencia a 2.126×10^9 células/L. Esto se ve relacionado con la ecuación asociada a X_T (ecuación 3.5), donde, matemáticamente, μ entrega el comportamiento que siguen las células totales. Por lo que, es de esperar que ambas curvas presenten comportamientos inversos en un mismo intervalo de tiempo.

Respecto a las densidades celulares de células muertas se presenta una alta correlación con variables como Q , L , A y C_i . Esto se ve relacionado principalmente con la forma que estas curvas presentan, donde en el caso de la glutamina se tiene una relación inversa. Se ha de recordar que en la ecuación asociada a la densidad de células muertas (ecuación 3.7) el término de interés está asociado a k_d que presenta una relación inversa con μ . Por lo que, es de esperar que las especies inhibidoras del crecimiento celular tengan una correlación positiva con la densidad de células muertas.

Las concentraciones de G , Q , L y A tienen altos niveles de correlación entre si, siendo de signo positivo entre nutrientes e inhibidores por sí solos, y de signo negativo al relacionar un nutriente, como la glutamina, con un inhibidor, como el amoniaco. Estas correlaciones se ven justificadas en la naturaleza de los inhibidores presentes, los cuales se generan como subproductos del metabolismo celular. Por otro lado, la glucosa y glutamina se consumen a medida que evoluciona el cultivo manteniendo comportamientos similares.

Respecto a C_i se presentan fuertes correlaciones positivas con L y A , esto guarda relación con la aparición de estas variables como subproducto del metabolismo celular, manteniendo curvas similares a lo largo del cultivo. Por otro lado, existe una alta correlación negativa con la concentración de glutamina asociada a la similitud y relación inversa de ambas curvas, sin un sustento en las ecuaciones del modelo.

A partir de lo anterior, se considera que la implementación de un modelo a partir de las variables presentes en el sistema es posible, pudiendo obtener valores cercanos a lo esperado. Al observar el modelo 1, donde se utilizan las concentraciones de glucosa, glutamina, lactato y amoniaco, es posible ver que un modelo lineal a partir de estas variables presenta un R^2 de buenas características. Siendo este resultado considerado un buen indicador para la elaboración de un predictor.

Cabe mencionar que, si bien la fórmula original contempla la concentración de C_i , el programa sugirió que esta variable no es significativa y la descartó del modelo. Por ello, al considerar un modelo a partir de la combinación de pares de G , Q , L y A se obtuvieron

los modelos 2 a 7 donde la combinación de glucosa y lactato entrega el mejor coeficiente R^2 correspondiente a 0.9608. Es importante notar que, los otros modelos propuestos presentan valores R^2 buenos, los cuales se encuentran en un rango de 0.93 a 0.96. A partir de ello, la combinación de otras variables podría tener un buen desempeño. Que la combinación de G y L presente un mayor R^2 se puede relacionar con que estas variables presentan una mayor magnitud en el sistema de análisis, en comparación con el Q y A que presentan una variación menor a lo largo del tiempo de análisis.

Respecto a los parámetros presentados por el modelo lineal en R , se tiene que en general las constantes asociadas a nutrientes para el sistema, como G y Q , presentan un signo positivo. Por otro lado, los inhibidores como L y A presentan, principalmente un signo positivo. Esto es de esperar ya que los inhibidores ralentizan el crecimiento mientras que los nutrientes lo favorecen.

Al utilizar una combinación de G y L de forma polinomial se observa que el valor de R^2 aumenta a 0.9894, de lo cuales rescata que a partir de estas 2 variables se podría predecir de forma acertada el valor de μ . Sin embargo, debido a la naturaleza de la expresión propuesta por Craven para μ , que contempla la concentración de glutamina, lactato y un inhibidor desconocido, podrían ignorarse términos relevantes para la predicción, no pudiendo representar lo buscado.

Cabe mencionar que, la finalidad de este análisis es determinar 2 variables que permitan describir μ para el diseño de un predictor, por lo que la utilización del modelo sin una alimentación permite conocer la relación entre las variables propias del sistema sin perturbaciones externas.

5.2. Sets de datos

Como se mencionó anteriormente, la utilización de modelos validados resulta útil y permite tener un acercamiento al comportamiento del sistema analizado. Sin embargo, podría presentar discordancias con la realidad al cambiar las condiciones de operación bajo las cuales se establecieron los parámetros del mismo. En este caso, se utilizaron condiciones iniciales que no son propias del modelo desarrollado para los escenarios presentados a diferencia del escenario 4, con lo cual el comportamiento presentado podría distar de la realidad y repercutir en las etapas posteriores de este trabajo.

Cabe mencionar que, en ninguno de los escenarios (ver Anexo B) se alcanza una concentración de glucosa cercana a cero de forma sostenida en el tiempo, por lo que el problema asociado al término de mantención de glucosa (m_G) en la ecuación 3.10 no produciría lactato sin disponibilidad de G , ocurriendo lo mismo con Q . Dado que la glucosa no es agotada en el sistema, se tiene que el principal causante de la disminución del crecimiento celular es el inhibidor desconocido, lo cuál explica la curva de μ . Una vez se alcanza un valor de 100 mM de C_i en el sistema μ se vuelve constante e igual a 0, desencadenando el valor máximo para k_d .

El comportamiento presentado por las variables del cultivo en cada escenario es acorde a lo presentado anteriormente, donde debido a la alimentación constante de G y Q estas presentan principalmente un comportamiento creciente. Siendo el punto de mayor densidad de

células viables aquel en que el consumo de glucosa y glutamina presentan mayor intensidad, disminuyendo levemente la concentración de estas especies. Para finalmente, una vez que las células alcanzan su máximo disminuir el consumo de nutrientes provocando un aumento en la concentración de glucosa.

Por otro lado, respecto a la relación entre los niveles de glucosa al inicio del cultivo con el valor de μ se debe notar que esto está ligado a las ecuaciones asociadas al modelo, particularmente a la ecuación 3.13. Inicialmente, el valor que tienen los inhibidores presentes en el sistema, cercanos a 0 mM, es bajo comparado con la concentración de glucosa, donde a medida que evoluciona el cultivo los niveles de inhibidores aumentan provocando una disminución en μ . Por lo que, si se considera un valor alto de μ , el valor de k_d presenta un menor valor produciendo que las células tengan un crecimiento prolongado.

Es importante mencionar que el comportamiento de cada escenario difiere de lo que ocurriría en un laboratorio real por motivos como la falta de error en las mediciones o la presencia de ruido en las mismas, lo cual se puede ver en la distribución de los datos. Así como por el cambio de alguna condición de operación que podría hacer que el modelo no presente un comportamiento similar al presentado en los escenarios.

Otro factor importante que diferencia los resultados experimentales de la simulación es lo que ocurre una vez agotada la concentración de glucosa y/o glutamina. Como fue mencionado anteriormente, las ecuaciones para la variación de la concentración de lactato y amoníaco están en función del consumo de G y Q . Por lo que, en virtud de cómo se definió el modelo Fed-Batch modificado, una vez agotadas las concentraciones de glucosa y glutamina, la producción de lactato y amoníaco continuará. Lo cuál verá afectado el valor obtenido para μ , k_d y, por consiguiente, de las densidades celulares junto con el resto de las concentraciones.

Respecto a la utilización de distintos intervalos de tiempo para la obtención de datos experimentales es posible notar que la única diferencia entre los sets presentados en el Anexo B se encuentra en la densidad de datos disponible. Esto dado que, las condiciones iniciales para los escenarios son fijas y al no considerar factores como error o ruido en los datos presentados la variabilidad de los predictores a diseñar se verá en la capacidad de interpolar el comportamiento buscado. La utilización de grandes intervalos de tiempo de muestreo podría significar en algunos casos la pérdida de información, esto debido a que es posible que, dependiendo del contexto, sea imposible o de gran dificultad observar fenómenos que ocurran con una velocidad mayor a la del intervalo. Por ejemplo, en otro contexto, la medición de la temperatura exterior cada 12 horas no podría representar de forma correcta la variación de esta variable en un día.

5.3. Sistema de control PID

Al implementar el lazo de control con un controlador proporcional (Figura 4.7) es posible notar que una vez que la señal cruza el valor del set point, la acción de control es realizada. Esto se ve relacionado con la velocidad o agresividad del sistema de control y el valor de sus constantes, donde a mayor valor de K_c se tiene una respuesta de mayor rapidez y por ende una menor disminución de glucosa en el sistema. Por ejemplo, al comparar la constante de

0.005 con la de 0.1 el set point fue alcanzado de forma inmediata en el último caso, lo cual tiene sentido ya que la acción de control se define en función del error entre el set point y la variable medible, por lo que una constante de mayor magnitud implica un flujo de mayor valor.

En la Figura 4.7.a, relacionada con el sistema de control proporcional, se puede ver que al considerar un valor de K_c de magnitud mayor a 0.01, el sistema permite mantener la concentración de glucosa en un rango de 11 ± 1.1 mM. Mientras que, al considerar una constante proporcional de 0.005 la glucosa disminuye hasta un valor de 9 mM para luego aumentar su valor. Aquel comportamiento se debe a que, a pesar de alimentar glucosa de forma sostenida en el tiempo, la tasa de consumo de glucosa por parte de las células es mayor. Como se puede ver en la Figura 4.8, esto ocurre hasta que la tasa de alimentación supera la tasa de consumo, momento que se ve desplazado según el K_c utilizado. En el caso de $K_c = 0.1$ la curva de glucosa alimentada se encuentra más a la izquierda del eje x que para $K_c = 0.005$, lo cual se relaciona con el mejor control por parte de la constante proporcional de magnitud.

Cabe mencionar que la curva de alimentación de glucosa al sistema se encuentra directamente relacionada con la alimentación F que ingresa al reactor. Por lo que en la Figura 4.7.b se observa con mayor claridad el desplazamiento de la curva de alimentación al aumentar el valor de la constante proporcional.

En términos del objetivo del control se ha de notar que el tiempo en que el set point es alcanzado para $K_c = 0.005$ es considerablemente extenso, ya que se alcanza el valor deseado luego de aproximadamente 260 horas desde que se cruzó el set point. En el caso de la $K_c = 0.01$ este tiempo disminuye a aproximadamente 100 horas, que si bien sigue siendo una amplia ventana de tiempo, el valor de la concentración se mantiene en la vecindad del valor deseado.

Por otro lado, al utilizar un controlador PI (ver Figura 4.9.a) con una constante proporcional de valor 0.1, se puede ver que existe un overshoot de mayor magnitud que en el caso proporcional, no pudiendo mantener G en el rango de 11 ± 1.1 mM. Al comparar el comportamiento utilizando distintos valores de τ_i es posible ver que a medida que esta constante aumenta se recupera el comportamiento del controlador proporcional, presentando una tendencia a acercarse al set point. Esto tiene sentido ya que, τ_i es inversamente proporcional a K_c . Con lo cual, un valor de gran magnitud para la constante τ_i minimiza el efecto de la componente integral tendiendo su valor a 0.

Si bien, para el control PI con un τ_i de 10 el set point es alcanzado en un menor intervalo de tiempo, el overshoot presentado para G se ve relacionado con una acción de control más lenta que repercute en una disminución abrupta de μ . Al observar las estrategias de alimentación se puede ver que a medida que τ_i aumenta, la acción de control ocurre a un tiempo más próximo del cruce del set point y con menor agresividad. Mientras que, a medida que aumenta τ_i la acción de control ocurre de forma moderada y suave ya que no se alcanzan valores críticos para G .

El comportamiento de μ para $\tau_i = 10$ presentado en la Figura 4.10 exhibe una disminución abrupta que se ve relacionada con el agotamiento de la glucosa en el sistema, presentando una recuperación de μ una vez que la alimentación inicia recuperando los niveles

de G . Este comportamiento también se observa en la curva de μ asociada a $\tau_i = 35$, donde la disminución de la tasa de crecimiento desvía su trayectoria levemente. Se ha de recordar que G presenta una relación directamente proporcional con μ , por lo que una disminución abrupta de su concentración desencadena una respuesta similar en μ . Sin embargo, dado que existe no existe agotamiento de G y Q , el motivo por el que el crecimiento alcanza un valor nulo está relacionado con C_i .

Se debe recordar que una de las características del control proporcional integral es su capacidad de responder ante el historial del error. Es por ello que, al implementar este tipo de control en el sistema estudio la acción de control presenta problemas para mantener de forma inmediata la concentración de glucosa en las proximidades del set point, dado que existe un error negativo acumulado en el tiempo por no existir una acción que retire concentración de glucosa del reactor. Se ha de mencionar que la concentración de glucosa inicial corresponde a 20 mM, valor que dista en 9 unidades del set point, por lo que la ralentización de la respuesta de control guarda relación con el tiempo de espera para realizar la acción de control.

En el caso del controlador PID (Figura 4.11) se puede ver que ante cambios en la constante de tiempo derivativo la respuesta del sistema no presenta una mejoría considerable, donde se mantiene un control de G por fuera de la banda de 11 ± 1.1 mM con una tendencia similar al presentado por el control PI con una constante de $\tau_i = 70$. Este comportamiento se ve relacionado con la ecuación de control (ecuación 2.1) donde para valores pequeños de τ_d se pierde el efecto del término derivativo, provocando que el término integral, con un τ_i de 70, abarque gran parte de la acción de control.

Al igual que en el caso PI, la acción de control se ve retrasada por la acumulación del error inicial hasta cruzar el set point. En el caso de la constante $\tau_d = 5$ se puede ver que el momento de la recuperación de G presenta una curva de mayor suavidad, esto se ve relacionado con una mayor agresividad de la acción de control ya que el término derivativo provoca un aumento en el flujo a alimentar.

En las curvas de alimentación presentadas en la Figura 4.11.b se tiene un comportamiento oscilatorio para valores de τ_d superiores a 1. Esto se ve relacionado con lo anteriormente mencionado de la ecuación de control, donde el término derivativo tiene mayor peso a medida que aumenta τ_d provocando alimentaciones más agresivas que en el paso siguiente de integración requieren de una menor alimentación al sistema.

De la Figura 4.12 se puede ver que el consumo de glucosa por parte de las células mantiene una trayectoria centrada respecto a las oscilaciones del flujo alimentado al sistema, lo cual está relacionado con la agresividad de la acción de control y el paso de integración en la simulación. En el instante siguiente al que se añade una cantidad mayor a la requerida por el sistema, se deberá ingresar una menor cantidad de nutrientes, generando este comportamiento oscilatorio al rededor de la curva de consumo.

En general, es posible notar que la curva de μ queda definida por la concentración de glucosa, donde el agotamiento inicial hasta una vez iniciada la acción de control define su estructura. Esto se puede ver en la comparación entre los gráficos del controlador P o PID con el PI, donde todos presentan una misma tendencia a excepción del controlador PI para

un τ_i de 10. En la Figura 4.10 es notorio que el agotamiento de G hasta un valor cercano a 0 mM produce que μ disminuya con la misma intensidad para luego recuperarse, en conjunto con la concentración, y seguir la trayectoria esperada. El motivo por el todas las curvas de crecimiento presentadas tienen la misma tendencia está relacionado con el cambio del efecto dominante de los sustratos (G y Q) o del inhibidor desconocido en la expresión de μ .

Para los 3 tipos de control PID, el volumen adicionado por la acción de control no supera la capacidad máxima del reactor, correspondiente a 15 L. Alcanzando un volumen acumulado que no supera los 1.5 L, lo que es aproximadamente un 10 % del volumen total. A partir de ello, se considera que las características de la alimentación son adecuadas para el sistema analizado ya que no se escapan de los límites físicos.

Al comparar el comportamiento de cada controlador mostrado se puede ver que para la combinación de parámetros utilizados, el controlador PID logra disminuir el overshoot en comparación al caso PI. Sin embargo, su implementación en el caso de análisis conlleva un mayor coste computacional provocando estrategias de alimentación de gran intermitencia. Por otro lado, en ambos casos no es posible reducir el tiempo en que se alcanza el valor deseado sin aumentar el overshoot dadas las características del sistema de control.

A partir de estos resultados es posible ver que el caso proporcional representa una estrategia de control simple, rápida y de bajo coste computacional, sin provocar flujos de alimentación de amplias oscilaciones con las constantes consideradas. Por otro lado, con un valor de 0.1 es posible ver que G se mantiene en un valor cercano al set point en cada instante una vez cruzado este valor.

La principal ventaja que presenta el controlador P por sobre el PI y el PID se centra en el tiempo de espera a que se alcance el set point sin la posibilidad de realizar una acción de control para retirar glucosa del sistema. Esta peculiaridad está ligada a las condiciones de los escenarios y la implementación del sistema de control, donde si se considerase una concentración inicial con mayor cercanía, o de menor valor, al set point se podría ver un mejor desempeño en el sistema.

En cuanto al ajuste de los parámetros de los controladores utilizando los criterios ISE, IAE e ITAE (Figura 4.13), se puede ver que, como fue mencionado anteriormente, a medida que aumenta la constante de proporcionalidad en el controlador P se tiene una respuesta de mayor velocidad y agresividad, lo cual se ve en el ajuste inmediato del valor de la glucosa una vez alcanzados los 11 mM y en el comportamiento de la curva de alimentación, la cual tiene múltiples saltos y es inestable.

En los tres criterios se alcanzaron valores para la constante de diferente magnitud, pudiendo notar que para valores mayores a una constante de $K_c = 18$, se presenta un comportamiento de características similares con mayor amplitud de oscilaciones a mayor K_c . De hecho, la tendencia de la curva es similar al presentado en la Figura 4.7, donde en el caso de los criterios de desempeño el flujo oscila al rededor del caso $K_c = 0.1$.

Es importante mencionar que, el volumen total alcanzado por los 3 criterios es el mismo, lo cual tiene sentido dado que el flujo adicionado oscila al rededor de una misma trayectoria.

Adicionalmente, la utilización de un K_c de la magnitud presentada por el criterio mantiene los valores de máximo volumen presentados anteriormente, por lo que esta estrategia no conlleva un problema de diseño. Sin embargo, debido a la naturaleza de la simulación la implementación de esta estrategia intermitente en pequeños intervalos de tiempo podría significar un alto coste y dificultad.

A partir de la Tabla 4.3 se puede ver que los parámetros obtenidos para el controlador PI presentan signo positivo, a excepción de τ_i al considerar el criterio ITAE. Cabe mencionar el valor entregado por el criterio ITAE para τ_i presenta una gran magnitud, por lo que en términos de control el término integral se vería minimizado y tendería a 0 sin provocar comportamientos extraños.

En la Figura 4.14 se puede ver que para el criterio ISE la curva de flujo alimentado sigue el comportamiento esperado, siendo similar al presentado en la Figura 4.13. Esto es acorde a lo esperado ya que la constante de tiempo integral utilizada es de gran magnitud, recuperando el caso proporcional y manteniendo una respuesta agresiva en el sistema. En el caso del criterio IAE, al presentar una constante proporcional de mayor magnitud la trayectoria del flujo presentada fluctúa en un intervalo de 0 a 0.3 L/h. Este comportamiento revela que en más de una ocasión la glucosa alcanza una concentración superior a los 11 mM establecidos, debiendo suprimir la alimentación, ocurriendo de forma similar para el criterio ITAE.

De la Tabla 4.3 se puede ver que para el controlador PID se obtuvieron constantes cercanas a la adivinanza inicial al utilizar el criterio ISE e IAE, lo cual . Por otro lado, para el criterio ITAE, la constante de tiempo integral presenta un valor negativo y de gran magnitud, que en la práctica produce que la componente integral no aporte a la estrategia de control. Mientras que, la constante derivativa presenta una gran magnitud con lo cual acelera la acción de control.

Al observar el gráfico relacionado al flujo alimentado para el controlador proporcional integral derivativo al utilizar el criterio ITAE (ver Figura 4.15) se tienen valores de gran magnitud, siendo estos no concordantes con el aumento de volumen. Este comportamiento, se puede ver explicado con el modelo del sistema de control en que se requiere que la multiplicación de las tres constantes del controlador PID presenten un valor positivo, condición que la optimización de parámetros no entregó ya que la constante de tiempo integral tiene un valor negativo. Es por ello que, el flujo es calculado como un sistema de control proporcional, permitiendo comprender el comportamiento observado por la curva de concentración de glucosa para el criterio ITAE. Cabe mencionar que, el valor de F incluido en el gráfico fue obtenido de forma externa al sistema de control por lo que este valor no refleja el utilizado de forma interna.

Al observar los valores entregados por el criterio ISE, IAE e ITAE, presentados en la tabla 4.3, se puede ver que el caso IAE es el que presenta una menor magnitud. Esto tiene sentido dado que se calcula la integral del error absoluto, a diferencia del caso ISE que corresponde a la integral del error cuadrático por lo que grandes magnitudes del error, como ocurre hasta que se alcanza el set point, tendrán un mayor castigo. Por otro lado, el criterio ITAE multiplica el error por el tiempo, dando un mayor peso a los errores al final del tiempo de análisis. Se debe notar que, debido a que el tiempo multiplica la señal del error en el

criterio ITAE, es de esperar que el valor acumulado tenga una mayor magnitud que en el criterio IAE. Por último, el caso del control PID con el criterio ITAE presenta una magnitud considerablemente mayor debido al valor obtenido para K_c y τ_d .

Debido al comportamiento decreciente inicial de la glucosa hasta alcanzar el set point, es posible que los criterios utilizados presenten un gran valor siendo 1300, 200 y 2800 las magnitudes mínimas de error posibles para los criterios ISE, IAE e ITAE respectivamente. Esto dado que no es posible retirar flujo para alcanzar el valor deseado, por lo que la penalización en el intervalo de mayor error tiene un rol importante en el valor final. Luego, a pesar de presentar un orden superior a 10^3 en los criterios ISE e ITAE, se considera que estos son razonables dentro del contexto analizado.

Por otro lado, la consideración de un flujo de alimentación máximo podría reducir la amplitud de las oscilaciones presentadas por el controlador al aumentar la constante proporcional. Sin embargo, debido a la naturaleza del problema es posible que las oscilaciones cambien su forma. A partir del modelo es posible notar que no existe un término asociado a la generación de glucosa, donde el aumento de esta variable se da únicamente por la alimentación suministrada. En virtud de esto, obtener un comportamiento que busque mantener de forma sostenida la concentración de glucosa tenderá a aumentar el flujo administrado para luego cesar la alimentación, produciendo curvas oscilatorias.

Es importante notar que, en la mayoría de las estrategias de control presentadas el caso proporcional es recuperado. Por lo que, la implementación de un sistema de control basada en un controlador P es la óptima para el caso de análisis, teniendo que encontrar la constante proporcional de forma manual.

Al analizar el comportamiento de la acción de control antes de alcanzar el tiempo crítico en que comienza a presentar un comportamiento oscilatorio, se puede ver que al utilizar una constante de 0.1, la curva de glucosa y de alimentación muestran leves irregularidades a diferencia de las curvas asociadas a un K_c de 0.02. Mientras que, al aumentar la constante a un valor de 0.5 ya se percibe un comportamiento oscilatorio leve. Esto se ve relacionado con lo mencionado anteriormente, donde el sistema alcanza el valor deseado, debiendo disminuir el flujo a alimentar en el instante siguiente.

Finalmente, si bien la consideración de una constante proporcional de 0.1 presenta irregularidades en el flujo de alimentación, se considera que este valor par K_c permite reducir el offset sin alterar considerablemente la regularidad de la alimentación.

Ante el problema de presentar parámetros de signo negativo se puede realizar una optimización con restricción tal que los parámetros entregados sean iguales o mayores a 0. En virtud de los resultados presentados anteriormente, se optó por utilizar un valor máximo de $K_c = 10$, $\tau_i = 100$ y $\tau_d = 1$, ya que, al menos para el caso proporcional, con un valor de K_c igual a 0.1 se presenta un buen control, en el caso de τ_i si se utiliza un valor de gran magnitud se pierde el efecto del término integral y en el caso de τ_d anteriormente se presentó inestabilidad en la acción de control para valores mayores a 1.

En la Figura 5.2, se presenta la optimización con restricción para el criterio ITAE al utili-

zar un controlador proporcional integral y uno proporcional integral derivativo. En el caso PI, se puede ver que la curva asociada a la concentración de glucosa presenta un comportamiento similar entre el caso optimizado ($G_{ITAE,PI}$) y el de la adivinanza inicial ($G_{orig,PI}$), donde los valores asociados a cada constante luego de implementar el criterio ITAE corresponden a $K_c = 3.437$ y $\tau_i = 6.570$, a partir de una adivinanza inicial de 0.01 y 10 respectivamente. Al comparar ambas curvas se puede notar que en el caso ITAE se alcanza un valor de G cercano a 0 mM, lo cual se relaciona con el error negativo acumulado en el tiempo por no existir una acción que retire concentración de glucosa del reactor en los inicios del cultivo. Es por lo anterior que, el flujo alimentado al iniciar la acción de control adquiere un valor de gran magnitud en comparación al resto de la estrategia de alimentación. Por otro lado, el criterio ITAE presenta un valor del orden de 15000, el cual es lejano al presentado anteriormente.

Para el caso PID se observa que la curva asociada al criterio ITAE ($G_{ITAE,PID}$) presenta un mejor comportamiento que el caso original ($G_{orig,PID}$) con una tendencia al comportamiento proporcional. Esto se ve relacionado con los valores obtenidos para las constantes asociadas al sistema de control, donde $K_c = 0.01$, $\tau_i = 100$ y $\tau_d = 1 \times 10^{-6}$, en comparación al caso inicial que consideraba un $K_c = 0.01$, $\tau_i = 70$ y $\tau_d = 10$. A partir de la constante de tiempo integral, se tiene que su valor aumentó, lo cual produce una mayor tendencia hacia el comportamiento proporcional. Por otro lado, el valor asociado al criterio ITAE presenta una magnitud de 19474.295, el cual es considerablemente mayor al obtenido anteriormente. Esto se ve relacionado con las características del sistema, donde el error acumulado por la separación inicial entre el el set point y G produce dificultades para el sistema de control PID, así como para el PI.

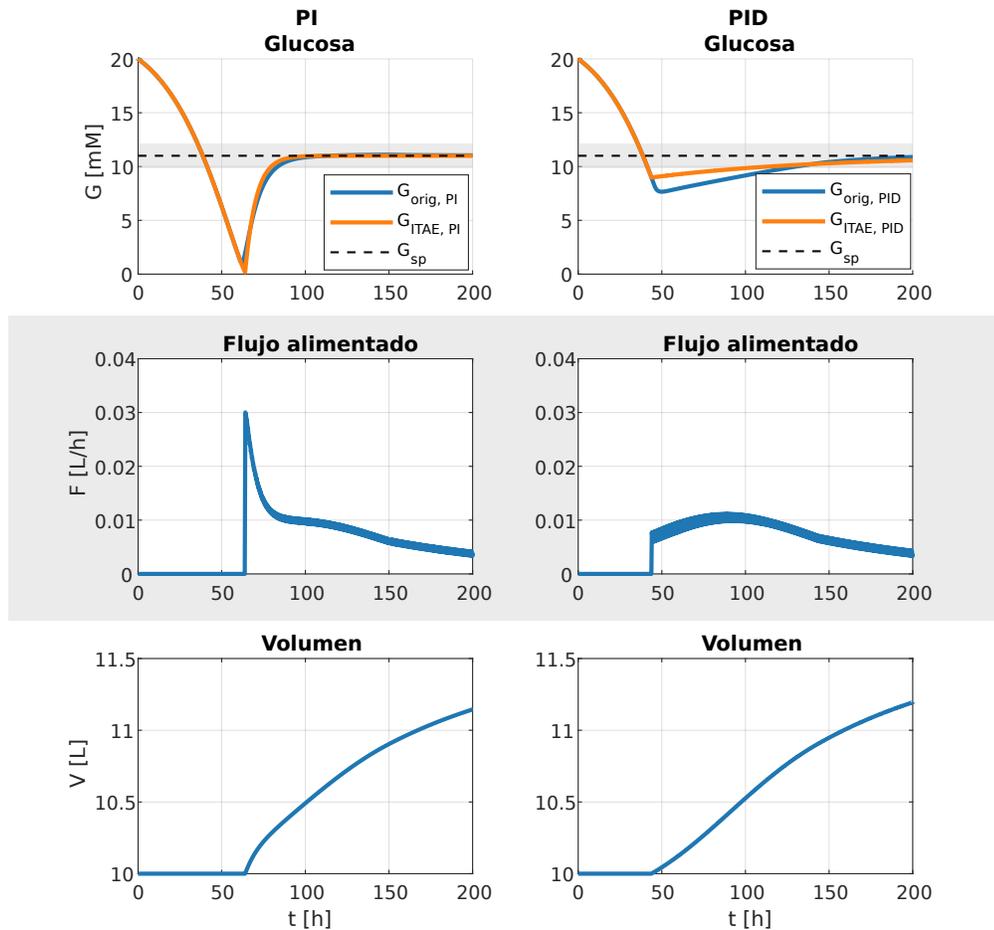


Figura 5.2: Comparación concentración de Glucosa, Flujo alimentado y Volumen según criterio ITAE para controlador PI y PID. $G_{orig,PI}$ representa la concentración de glucosa con la adivinanza inicial para controlador PI, $G_{orig,PID}$ representa la concentración de glucosa con la adivinanza inicial para el controlador PID, $G_{ITAE,PI}$ representa la concentración de glucosa con el criterio ITAE para el controlador PI, $G_{ITAE,PID}$ representa la concentración de glucosa con el criterio ITAE para el controlador PID y la zona gris representa la zona de $G_{sp} \pm 10\%$. Elaboración propia.

De lo anterior se debe notar que, a pesar de incluir una condición para obtener constantes de tiempo integral y derivativo positivas, los sistemas de control PI y PID no permiten mantener un correcto control del sistema analizado. Esto se ve relacionado principalmente con la separación inicial entre el set point y G , pudiendo ser minimizado al considerar una diferencia de menor magnitud.

5.4. Soft Sensor

5.4.1. Predictores

A partir de los predictores presentados en la Figura 4.18 considerando los parámetros encontrados en literatura, se obtiene un comportamiento similar al esperado y un error de baja magnitud, así como una alta correlación entre la predicción y lo esperado. Sin embargo, se ha de notar que μ presenta una magnitud del orden de 10^{-2} por lo que el error cuadrático medio tenderá a ser cercano a 0, lo cual explica los valores obtenidos para MSE y RMSE. Por otro lado, el MAPE presenta un valor de mayor magnitud debido a la separación entre los datos experimentales y la predicción a partir de las 100 horas, donde se puede ver que se presenta la mayor separación. Por último, los valores relacionados con R^2 podrían presentar una buena relación debido a las bajas magnitudes de las variables involucradas.

A pesar de existir la posibilidad de que el error se vea minimizado, en general, debido a las bajas magnitudes de las variables, se debe destacar que las curvas comparadas presentan una gran similitud aunque no predicen de forma correcta el comportamiento en los tiempos iniciales y finales. Las diferencias presentadas una vez alcanzado un valor cercano a 0 para μ podrían ser significativas, ya que al sobre estimar el valor de μ el sistema de control puede esperar que aún exista un consumo considerable de glucosa que produciría una sobre alimentación al sistema. Además, se debe recordar que el set de prueba utilizado contempla una alimentación constante y no variable, por lo que el desempeño presentado en esta situación podría tener diferencias respecto al caso real.

Luego de realizar el ajuste de hiper parámetros se obtuvieron predicciones con una mayor concordancia a los datos experimentales, donde pareciera ser el caso 1 el que presenta un mejor desempeño ya que en el caso 2 se alcanzan valores negativos y en el caso 3 no se logra representar de forma correcta lo que ocurre al inicio del cultivo.

Al comparar el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , sin optimización de hiper parámetros (ver Figura 4.18) con el caso optimizado (ver Figura 4.19) se puede ver que la predicción representa de mejor forma los datos al inicio y final del cultivo en el caso optimizado. Ocurrendo un comportamiento similar para el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A , y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L . Sin embargo, en el caso 2, la presencia de valores de la predicción con signo negativo podría alterar la estrategia de alimentación a entregar, ya que μ está asociado al consumo de glucosa por parte de las células y un cambio de signo en esta variable, matemáticamente, significaría la generación de glucosa en el interior del reactor.

A partir de las métricas del error, presentadas en la Tabla 4.6, se puede notar que tanto el MSE como el RMSE presentan un valor cercano a 0, lo cual al igual que los casos anteriores se ve relacionado con la baja magnitud de la variable μ . Sin embargo, en el caso de MAPE y R^2 se presentan buenos indicadores teniendo valores cercanos a 1 en cada caso.

Luego de observar las predicciones y las métricas presentadas es posible concluir que el caso 1 optimizado presenta un mejor comportamiento que el resto de predictores a partir de datos cada 12 horas, esto debido a que en cada métrica de error presenta el menor valor. Esto es de esperar debido a que la el caso 1 contempla la utilización de todos los datos disponibles, con lo cuál se esperaría que el predictor tenga un comportamiento que tienda al caso

experimental. Se ha de recordar que la expresión de μ depende de G , Q , L , A y C_i , donde el caso 1 es el único que utiliza la concentración del inhibidor desconocido. Sin embargo, debido a la utilización de variables como las densidades celulares y el volumen, es posible que el resultado no sea idéntico al esperado.

Al comparar los resultados presentados para los predictores diseñados con distintos intervalos de muestreo, es posible notar la complejidad de representación de los valores extremos en cada predictor al utilizar un kernel scale de 2.2. Este comportamiento se ve relacionado con el tamaño del kernel, ya que el valor utilizado permitió representar de forma correcta los datos en el estudio del cual fue extraído pero no los datos de este trabajo, por lo que la implementación de la optimización de hiper parámetros fue oportuna para encontrar un valor de kernel scale que se ajuste de mejor forma.

Por otro lado, al comparar las métricas al utilizar datos experimentales cada 4 y 24 horas se puede ver que cada uno de los criterios utilizados presenta valores cercanos entre sí para su respectiva categoría. Se ha de recordar que las predicciones presentan valores similares al considerar un kernel scale de 2.2 y, por su parte, la optimización de hiperparámetros, por lo que la obtención de errores similares es acorde a lo esperado ya que no existen valores de gran variabilidad. Cabe mencionar que la utilización de métricas del error no es necesariamente representativa en su totalidad. Por ejemplo, en los casos que utilizan un kernel scale de 2.2 presentan, en algunos casos, un comportamiento negativo en la predicción o no representan de forma correcta valores cercanos a 0 h^{-1} . Sin embargo, presentan valores de R^2 superiores a 0.98 en su mayoría o valores de MSE y RMSE cercanos a 0, lo cual en este caso particular guarda relación con la magnitud de la variable predecida.

Al considerar el ajuste de hiper parámetros se puede ver que se entregan predicciones de μ que logran representar de mejor forma el comportamiento en los extremos. Sin embargo, en el caso 2 se alcanzan valores negativos para μ por un breve tiempo, mientras que en el caso 3 no se logra representar de la mejor forma el comportamiento inicial de μ .

La presencia de valores negativos en μ al considerar el caso 2 se puede ver relacionada con no incluir C_i como entrada para la predicción. Mostrando que el comportamiento inhibitorio adicional no ha sido posible de representar utilizando SVR sin considerar la concentración de inhibidor desconocido. Por otro lado, la falta de representación a inicios del cultivo en el caso 3 se puede ver relacionada con no considerar Q , que es directamente proporcional a μ en el modelo utilizado. De la expresión de μ (ecuación A.8) se puede ver que los datos experimentales fueron obtenidos desde una expresión que relaciona G , Q , L , A y C_i , por lo que es de esperar que la utilización de estas variables presente mejores resultados, como es en el caso 1.

Considerar distintos intervalos de muestreo para los predictores diseñados permite ver que, en general, a pesar de utilizar valores de diferentes equidistancias temporales se ha presentado un comportamiento similar para cada caso. Esto guarda relación con la forma y comportamiento de μ , ya que no tienen grandes variaciones en su forma ni trayectoria.

Respecto a la utilización de una alimentación constante en los sets de datos para entrenamiento, se debe mencionar que el predictor no identifica la presencia de una alimentación

en el sistema. Sin embargo, en el caso 1 se contempla el volumen al interior del reactor como una variable del problema que podría dar cuenta de las variaciones producto de su aumento, favoreciendo la respuesta del sistema.

Finalmente ha sido posible implementar un predictor de μ utilizando SVR como herramienta, pero es posible que existan otras herramientas que permitan obtener resultados de mejores características. Algunas herramientas de IA y ML que se podría implementar son las basadas en kernel scale neuronales, como las kernel scale neuronales profundas o las LSTM, que permiten aprender de experiencias pasadas. Para ello, se podrían considerar las mismas entradas contempladas para los casos 1, 2 y 3 para obtener una predicción de μ utilizando ANN o implementar una LSTM considerando los flujos anteriormente alimentados. En la Figura 5.3 se presenta un esquema de la estructura básica que podría tener un predictor basado en kernel scale neuronales, donde en la capa de entrada se podría considerar la concentración de glucosa y lactato a modo de ejemplo. En el caso de incluir más variables, se debe añadir una neurona adicional a la estructura de la capa de entrada.

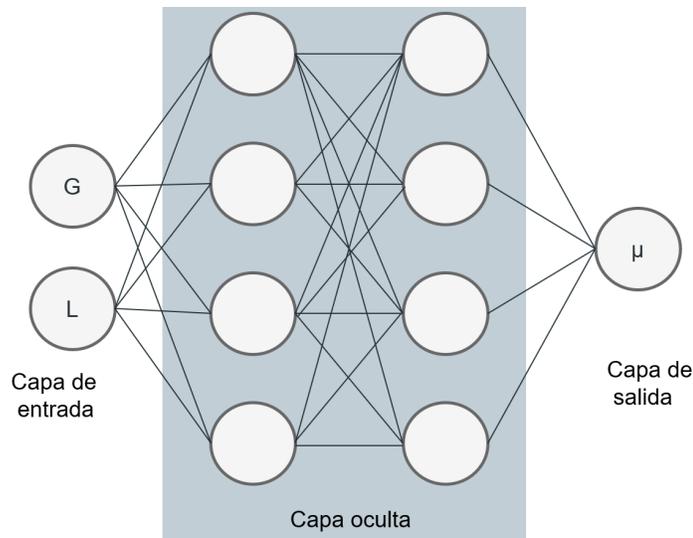


Figura 5.3: Estructura básica para un predictor en base a una red neuronal, donde la capa de entrada corresponde a las variables a considerar siendo una neurona por variable, las capas ocultas se definen en función de los datos y la capa de salida corresponde a lo que se desea predecir, siendo una neurona por variable deseada. En este caso, se incluye como ejemplo la utilización del caso 3 correspondiente a una entrada de G y L para predecir μ .

5.4.2. Sistema de control basado en Soft Sensor

Al implementar los predictores con los parámetros obtenidos de literatura, se pudo observar que en los tres casos se alcanza un flujo de alimentación máximo de aproximadamente 0.0104 L/h, independiente de la constante de proporcionalidad utilizada. Si se compara este valor con el presentado por el control proporcional clásico bajo las mismas condiciones iniciales, cuyo flujo máximo alimentado es de 0.0105 L/h aproximadamente, se puede ver que las magnitudes son similares y no distan considerablemente entre sí. Sin embargo, como se puede ver en la Figura 4.32.b, el instante en que este máximo es alcanzado no coincide entre las curvas presentadas. Esto se encuentra relacionado con los intervalos en que μ es

sobre estimado y subestimado, donde en los intervalos que μ es sub estimado se presenta un menor consumo de glucosa. Mientras que, al sobre estimar μ el consumo de glucosa es mayor al presentado en el caso inicial. De la Figura 4.18 se puede ver que a partir de las 100 horas aproximadamente las predicciones presentan un valor de μ mayor al experimental, lo cual está relacionado con el comportamiento de los flujos $F_{caso\ 1}$, $F_{caso\ 2}$ y $F_{caso\ 3}$. Cuando se alcanza una mayor magnitud al caso de control proporcional (F_P) ya que existe un consumo sostenido por parte de la predicción. Si se considera que se sigue consumiendo G en el sistema es de esperar que se introduzca una mayor cantidad de glucosa para alcanzar el set point.

Para el caso 1, se puede ver que en el escenario real (Figura 4.21) la concentración de glucosa cruza el set point antes de iniciar la acción de control. Esto se ve relacionado con la subestimación de μ , ya que al haber un menor consumo de glucosa el set point no es alcanzado en aquel instante de tiempo, siendo desplazado temporalmente. Como se observa en el gráfico asociado al consumo y alimentación de glucosa, lo anteriormente mencionado resulta en una menor tasa de alimentación al sistema en comparación a la tasa de consumo real por parte de las células, permitiendo explicar la demora en el cambio de trayectoria de la concentración de glucosa. Por otro lado, se tiene que el consumo de glucosa disminuye cerca de las 90 horas. Sin embargo, la alimentación de glucosa no presenta una disminución conjunta a los requerimientos celulares, provocando que los niveles de glucosa en el biorreactor aumenten como se presenta en el gráfico asociado a la concentración de glucosa.

En el caso 2 (Figura 4.22) y 3 (Figura 4.24), se presenta un comportamiento similar al caso 1 en cuanto a las estrategias de alimentación sugeridas, siendo esto asociado a las sub estimaciones y sobre estimaciones de μ a lo largo del tiempo analizado. Al observar la dinámica del sistema una vez implementada la estrategia de alimentación para el caso 2 (Figura 4.23) se observa que la tasa de alimentación supera la tasa de consumo aproximadamente a las 90 horas, lo cual se relaciona con la convexidad de la curva asociada a la concentración de glucosa, ocurriendo de igual forma en el caso 3 (Figura 4.25).

Al comparar los gráficos de consumo y alimentación de glucosa en el sistema para los 3 casos (Figuras 4.21, 4.23 y 4.25) se tiene que en el caso 2 y 3 la distancia inicial entre las curvas de consumo y alimentación es de mayor magnitud, con lo cual se relaciona el aumento del overshoot al considerar el caso 2 y 3. Esto significaría una desventaja respecto al caso 1, debido a que las células no disponen de la cantidad de glucosa establecida por un tiempo prolongado.

En general, los resultados asociados a los predictores utilizando un kernel scale de 2.2 presentan una acción de control que permite mantener los niveles de glucosa por sobre un valor de 7 mM, lo cual se aleja del rango 11 ± 1.1 mM, sin agotar la concentración de glucosa en el tiempo de análisis. Además, la utilización de una mayor cantidad de variables de entrada al soft sensor entrega una respuesta de mayor velocidad por parte del sistema. Sin embargo, la predicción de μ no representa de forma correcta valores cercanos a cero, presentando una sobre estimación de su valor; lo cual desencadena una sobre alimentación de glucosa en el sistema como respuesta a un crecimiento celular que en la realidad no se presenta.

Al implementar los predictores con la optimización de hiper parámetros para datos cada 12 horas, se observa que el flujo de alimentación máximo alcanzado no supera los 0.104 L/h en

ningún caso. En el lazo de control proporcional clásico, bajo las mismas condiciones iniciales, se alcanzó un flujo máximo de 0.105 L/h, por lo que las magnitudes son similares y se acerca más que en el caso no optimizado. En la Figura 4.33.b, se muestra que las estrategias de alimentación sugeridas mantienen un comportamiento y cercanía al caso proporcional, siendo F_{caso1} el que más se asemeja. Por otro lado, se puede notar que en general la estrategia de alimentación ocurre en un instante anterior al presentado por el control proporcional. Esto guarda relación con los intervalos en que μ es sobre estimado, provocando que el consumo por parte de las células sea mayor al realmente esperado. Por otro lado, el flujo alimentado adquiere un comportamiento similar al caso ideal, una vez que cesa el crecimiento celular, siendo esto relacionado con la buena predicción para valores cercanos a 0 h^{-1} .

Para el caso 1 (Figura 4.26), se observa que la estrategia de alimentación presenta un mejor comportamiento al considerar una constante de proporcionalidad más alta, esto tiene sentido ya que la utilización de una constante de mayor magnitud la respuesta del sistema de control tendrá mayor velocidad. Por otro lado, de la Figura 4.29 se tiene que la concentración de glucosa no disminuye más allá del set point inicialmente; presentando un decrecimiento lento a medida que avanza la simulación. Este comportamiento guarda relación con la estrategia de alimentación, donde se puede ver que al iniciar la acción de control la tasa de glucosa alimentada es mayor a la tasa de consumo de glucosa por parte de las células.

Por otro lado, se ha de mencionar que la implementación de esta estrategia de alimentación sobre el caso proporcional permite tener un número mayor de células viables. Característica que se ve relacionada con la mantención inicial de la glucosa por sobre el nivel del set point, cuando resulta importante no agotar los recursos disponibles.

En la Figura 4.29 se observa que la concentración de glucosa a partir de la estrategia de alimentación propuesta por el caso 2, presenta una tendencia creciente desde que inicia la acción de control hasta finales del cultivo logrando mantener los niveles de glucosa por sobre el set point, provocando un aumento en la densidad de células viables en comparación al caso 1 sin optimización de parámetros. Sin embargo, la concentración de glucosa se encuentra considerablemente por sobre el set point (aproximadamente en $G_{sp} + 1.1 \text{ mM}$), y se observa una leve oscilación de G . Esto se relaciona con la tasa de alimentación suministrada, que supera en casi todo instante la tasa de consumo de glucosa por parte de las células, produciendo la tendencia al aumento de la concentración de G . Por otro lado, la oscilación presentada guarda relación con la estrategia de alimentación y el predictor, donde la sub y sobre estimación de μ tiene un rol importante en la suministración de glucosa ya que una sub estimación produce aumentos en G y la sobre estimación produce disminución en la concentración de glucosa.

En el caso 3 (Figura 4.31), se puede ver que la estrategia propuesta presenta una tendencia acorde a la esperada, con la cual la tasa de alimentación de glucosa al reactor presenta una gran similitud a la de consumo. Motivo por el cual, la acción de control permite mantener inicialmente G en el rango deseado ($G_s \pm 10\%$) hasta que la tasa de consumo supera la tasa alimentada y comienza a disminuir la concentración de glucosa en el sistema. Debido a que la glucosa se mantiene en un nivel inicial por sobre el set point, se alcanzan densidades celulares de mayor magnitud que en el caso 3 sin optimización (Figura 4.25).

Cabe mencionar que, los datos utilizados para el entrenamiento de los predictores no pre-

sentan ruido y por ende permiten que con los parámetros óptimos para el SVR entreguen una curva similar a la esperada. Esto resulta relevante dado que en la obtención de datos experimentales la presencia de error en los datos no es nula y podría perjudicar la predicción obtenida. Por otro lado, es importante notar que la curva que se busca predecir tiene una forma o distribución similar a algunos de los casos presentados en el entrenamiento, lo cual permite explicar los resultados presentes en las Figuras 4.26, 4.28 y 4.30 con una mayor certeza.

La utilización de distintos intervalos de tiempo ha permitido ver que aún cuando se consideran datos con una menor frecuencia ha sido posible establecer una relación entre las variables de interés obteniendo resultados que permiten mantener G por sobre el valor del set point una estrategia de alimentación que mantiene la glucosa hasta alcanzar las 120 horas aproximadamente, al considerar la optimización de hiper parámetros. Lo cuál se considera apropiado en virtud de que es en este instante de tiempo en el que se puede ver la máxima concentración de células viables. Sin embargo, estas estrategias no son óptimas, a pesar de que mantengan las concentraciones por sobre el set point.

El considerar un set point inferior y alejado del valor inicial de concentración del cultivo ve limitado el valor de μ máximo a alcanzar. Una vez que G alcanza el valor deseado el crecimiento sigue limitado dado que no existe una concentración excedente de glucosa. Debido a la naturaleza de la operación, es razonable considerar valores de G superiores al valor del set point, dado que la operación ocurrirá con alimentaciones intermitentes cada 12 o 24 horas con el fin de mantener la concentración de células viables. La posibilidad de alimentar en cualquier instante de tiempo a partir del modelo produce una notoria diferencia con la realidad. Se debe recordar que, los intervalos de integración son inferiores a 1 hora para la acción de control. Sin embargo, permite obtener una representación de la estrategia óptima.

Capítulo 6

Conclusiones

La transición de las diferentes industrias a una operación basada en la interconectividad y principios de la industria 4.0 se ve limitada por los recursos tanto económicos como la información disponible en cada rubro. El enfoque de la industria global actual se centra en la elaboración de escenarios virtuales que beneficien los procesos en áreas como la sustentabilidad, peligros, reducción de costos, aprovechamiento de materias primas y materiales.

En el contexto de la industria de bioprocesos, el enfoque de QbD y PAT busca mejorar los procesos en un ámbito económico, enfocándose en los atributos del producto y parámetros del proceso fundamentales, siendo el control de procesos uno de sus enfoques para lograr la calidad deseada.

La información disponible en el área de bioprocesos se ve asociada a diversos experimentos y sus mediciones asociadas; los cuales pueden ser almacenados por los distintos laboratorios existentes manteniendo confidencialidad. Motivo por el cual el presente trabajo se vio dificultado en la adquisición de datos para el entrenamiento del SVR. Sin embargo, bajo el supuesto de que una empresa particular desee optar por este tipo de tecnologías, podría existir un almacenamiento constante de datos relacionados a experimentos que faciliten el desarrollo de tecnologías asociadas a la industria 4.0.

El modelo presentado por Craven permitió simular diferentes escenarios para el cultivo celular sin la necesidad de llevar a cabo un experimento real, de forma similar a los planteamientos de la industria 4.0 de establecer espacios ciber-físicos sin la utilización de materias primas, minimizando el gasto de las mismas. Si bien el modelo presenta limitaciones como valores negativos en concentraciones y tasa de crecimiento, estos comportamientos sin sentido físico fueron condicionados para evitar irregularidades. Sin embargo, estas condiciones también generan inconvenientes en el modelo ya que alcanzar la concentración límite podría significar un estancamiento de la variable.

La expresión asociada a μ presenta una fuerte relación con las variables de estado del modelo, provocando dificultades en la selección de 2 variables que representen de forma correcta la tasa de crecimiento. Siendo finalmente escogidas la concentración de glucosa y lactato a partir distintos modelos lineales donde se presentó un R^2 de 0.9608.

Los sistemas de control PID, ampliamente utilizados en la industria, son posibles de im-

plementar en el contexto de bioprocesos mostrando resultados acertados para el control de la concentración de glucosa en un largo plazo. En el presente estudio se obtuvo que el controlador proporcional mantiene un control veloz sin presentar un comportamiento irregular. Mientras que, la implementación de un control PI o PID requiere de un mayor costo computacional y presenta características no alentadoras como overshoot mayor a 2 mM o comportamientos que regresan al caso proporcional, siendo esto relacionado a un set point alejado de la condición inicial para G sin poder ejercer una acción de control inicialmente.

Al momento de optimizar los parámetros obtenidos para los controladores de la familia PID mediante criterios de desempeño como ISE, IAE e ITAE se obtuvieron resultados convergentes pero que producen comportamientos oscilatorios debido a la utilización de valores de K_c de gran magnitud. Sin embargo, en el criterio ITAE para el caso PI y PID se obtuvieron valores negativos para la constante de tiempo integral, los cuales carecen de sentido físico. Con ello, se concluye que el controlador proporcional presenta un control óptimo para el sistema estudiado, el cual con un valor de 0.1 para K_c se mantiene un buen control de G .

La utilización de técnicas basadas en *machine learning* como SVM en el contexto de cultivos celulares pudo ser implementada para predecir el valor de μ en el escenario presentado, obteniendo valores similares a los esperados al considerar intervalos de muestreo de 4, 12 y 24 horas.

Al implementar el predictor en el sistema de control se obtuvieron estrategias de control que, en general, permiten mantener la concentración de glucosa en valores cercanos al set point durante las primeras 120 horas del cultivo o hasta que se alcanza la mayor densidad celular posible.

Se ha de mencionar que, si bien la utilización de herramientas computacionales incluidas basadas en machine learning pueden entregar una mayor continuidad de información que una toma de medición clásica en el contexto de bioprocesos, los datos utilizados para entrenar la herramienta deben ser fiables y representativos del sistema de estudio y deben ser acordes a la implementación que podrían tener en un contexto real.

Finalmente, se concluye que la implementación de tecnologías basadas en la industria 4.0 en bioprocesos es posible pero requiere de bases de datos asociadas al contexto de estudio. La predicción de estrategias de alimentación para sistemas de control presenta un buen alcance.

Como posibles mejoras o recomendaciones se podría considerar incluir ruido en los sets de datos para acercar el estudio a la realidad, pudiendo ver la capacidad de extraer la información relevante de los datos propia de las herramientas de ML. Por otro lado, la implementación de un predictor basado en otras herramientas de ML, como redes neuronales, podría ser interesante para comparar el desempeño de estas. Por último, se podría considerar escenarios que no se encuentren tan alejados del set point o que se encuentren debajo de este, para evitar la acumulación del error en el sistema de control.

Bibliografía

- [1] Narayanan, H., Luna, M. F., von Stosch, M., Cruz Bournazou, M. N., Polotti, G., Morbidelli, M., Butté, A., y Sokolov, M., “Bioprocessing in the Digital Age: The Role of Process Models,” *Biotechnology Journal*, vol. 15, 2020, [doi:10.1002/biot.201900172](https://doi.org/10.1002/biot.201900172).
- [2] Bai, C., Dallasega, P., Orzes, G., y Sarkis, J., “Industry 4.0 technologies assessment: A sustainability perspective,” *International Journal of Production Economics*, vol. 229, 2020, [doi:10.1016/j.ijpe.2020.107776](https://doi.org/10.1016/j.ijpe.2020.107776).
- [3] Garcés, G. y Peña, C., “Ajustar la Educación en Ingeniería a la Industria 4.0: Una visión desde el desarrollo curricular y el laboratorio,” *Revista de Estudios y Experiencias en Educación*, vol. 19, pp. 129–148, 2020, [doi:10.21703/rexe.20201940garces7](https://doi.org/10.21703/rexe.20201940garces7).
- [4] Javaid, M., Haleem, A., Singh, R. P., Suman, R., y Gonzalez, E. S., “Understanding the adoption of Industry 4.0 technologies in improving environmental sustainability,” *Sustainable Operations and Computers*, vol. 3, pp. 203–217, 2022, [doi:10.1016/j.susoc.2022.01.008](https://doi.org/10.1016/j.susoc.2022.01.008).
- [5] Nieponice, G., Rivera, R., Tfelti, A., y Drewanz, J., “Acelerando el desarrollo de Industria 4.0 en Argentina,” *rep. tec.*, 2018.
- [6] Stiglitz, J. E., Dosi, G., Mazzucato, M., Pianta, M., Lütkenhorst, W., Alvarado, J., Calderón, A., Correa, F., Gligo, N., Martínez, J. M., Martins, A., Padilla, R., y Rovira, S., “Políticas industriales y tecnológicas en América Latina,” *rep. tec.*, CEPAL, 2017.
- [7] Contreras, G. P., Flores Schneider, M., y Sanchez, A. D., “Medición del Nivel de Digitalización de las Empresas del Clúster Minero de Chile,” *ISLA 2020 Proceedings*, 2020, <https://aisel.aisnet.org/isla2020>.
- [8] “Minería Inteligente: El impacto del big data en las operaciones,” *Revista Minera Chilena*, 2022.
- [9] Moreno, J., *Clustering de recetas culinarias generadas por Giuseppe*. PhD thesis, Universidad de Chile, Santiago de Chile, 2020.
- [10] Duong-Trung, N., Born, S., Kim, J. W., Schermeyer, M. T., Paulick, K., Borisyak, M., Cruz-Bournazou, M. N., Werner, T., Scholz, R., Schmidt-Thieme, L., Neubauer, P., y Martinez, E., “When bioprocess engineering meets machine learning: A survey from the perspective of automated bioprocess development,” *Biochemical Engineering Journal*, vol. 190, 2023, [doi:10.1016/j.bej.2022.108764](https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108764).
- [11] Mowbray, M., Savage, T., Wu, C., Song, Z., Cho, B. A., Del Rio-Chanona, E. A., y Zhang, D., “Machine learning for biochemical engineering: A review,” *Biochemical Engineering Journal*, vol. 172, 2021, [doi:10.1016/j.bej.2021.108054](https://doi.org/10.1016/j.bej.2021.108054).
- [12] del Rio-Chanona, E. A., Wagner, J. L., Ali, H., Fiorelli, F., Zhang, D., y Hellgardt,

- K., “Deep learning-based surrogate modeling and optimization for microalgal biofuel production and photobioreactor design,” *AIChE Journal*, vol. 65, pp. 915–923, 2019, [doi:10.1002/aic.16473](https://doi.org/10.1002/aic.16473).
- [13] Narayanan, H., Sokolov, M., Morbidelli, M., y Butté, A., “A new generation of predictive models: The added value of hybrid models for manufacturing processes of therapeutic proteins,” *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 116, pp. 2540–2549, 2019, [doi:10.1002/bit.27097](https://doi.org/10.1002/bit.27097).
- [14] Petsagkourakis, P., Sandoval, I. O., Bradford, E., Zhang, D., y del Rio-Chanona, E. A., “Reinforcement learning for batch bioprocess optimization,” *Computers and Chemical Engineering*, vol. 133, 2020, [doi:10.1016/j.compchemeng.2019.106649](https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2019.106649).
- [15] Helleckes, L. M., Hemmerich, J., Wiechert, W., von Lieres, E., y Grünberger, A., “Machine learning in bioprocess development: from promise to practice,” *Trends in Biotechnology*, vol. 41, pp. 817–835, 2023, [doi:10.1016/j.tibtech.2022.10.010](https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2022.10.010).
- [16] Yang, C. T., Kristiani, E., Leong, Y. K., y Chang, J. S., “Big data and machine learning driven bioprocessing – Recent trends and critical analysis,” *Bioresource Technology*, vol. 372, 2023, [doi:10.1016/j.biortech.2023.128625](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128625).
- [17] Rathore, A. S., Nikita, S., Thakur, G., y Mishra, S., “Artificial intelligence and machine learning applications in biopharmaceutical manufacturing,” *Trends in Biotechnology*, vol. 41, pp. 497–510, 2023, [doi:10.1016/j.tibtech.2022.08.007](https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2022.08.007).
- [18] Rathore, A. S., Mishra, S., Nikita, S., y Priyanka, P., “Bioprocess control: Current progress and future perspectives,” *Life*, vol. 11, 2021, [doi:10.3390/life11060557](https://doi.org/10.3390/life11060557).
- [19] Rathore, A. S., Bhambure, R., y Ghare, V., “Process analytical technology (PAT) for biopharmaceutical products,” vol. 398, pp. 137–154, 2010, [doi:10.1007/s00216-010-3781-x](https://doi.org/10.1007/s00216-010-3781-x).
- [20] Agharafeie, R., Ramos, J. R. C., Mendes, J. M., y Oliveira, R., “From Shallow to Deep Bioprocess Hybrid Modeling: Advances and Future Perspectives,” vol. 9, 2023, [doi:10.3390/fermentation9100922](https://doi.org/10.3390/fermentation9100922).
- [21] Iglesias, C. F., Ristovski, M., Bolic, M., y Cuperlovic-Culf, M., “rAAV Manufacturing: The Challenges of Soft Sensing during Upstream Processing,” *Bioengineering*, vol. 10, 2023, [doi:10.3390/bioengineering10020229](https://doi.org/10.3390/bioengineering10020229).
- [22] Craven, S., Whelan, J., y Glennon, B., “Glucose concentration control of a fed-batch mammalian cell bioprocess using a nonlinear model predictive controller,” *Journal of Process Control*, vol. 24, pp. 344–357, 2014, [doi:10.1016/j.jprocont.2014.02.007](https://doi.org/10.1016/j.jprocont.2014.02.007).
- [23] O’Brien, C. M., Zhang, Q., Daoutidis, P., y Hu, W. S., “A hybrid mechanistic-empirical model for in silico mammalian cell bioprocess simulation,” *Metabolic Engineering*, vol. 66, pp. 31–40, 2021, [doi:10.1016/j.ymben.2021.03.016](https://doi.org/10.1016/j.ymben.2021.03.016).
- [24] Tihanyi, B. y Nyitray, L., “Recent advances in CHO cell line development for recombinant protein production,” *Drug Discovery Today: Technologies*, vol. 38, pp. 25–34, 2020, [doi:10.1016/j.ddtec.2021.02.003](https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2021.02.003).
- [25] Hashizume, T. y Ying, B. W., “Challenges in developing cell culture media using machine learning,” *Biotechnology Advances*, vol. 70, 2024, [doi:10.1016/j.biotechadv.2023.108293](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108293).
- [26] “Cell Culture Market Forecast 2024-2033,” 2023, <https://www.precedenceresearch.com>

/cell-culture-market.

- [27] “Mammalian Cell Culture Market Forecast 2022-2030,” 2022, <https://www.emergencesearch.com/industryreport/mammalian>.
- [28] O’Flaherty, R., Bergin, A., Flampouri, E., Mota, L. M., Obaidi, I., Quigley, A., Xie, Y., y Butler, M., “Mammalian cell culture for production of recombinant proteins: A review of the critical steps in their biomanufacturing,” *Biotechnology Advances*, vol. 43, 2020, [doi:10.1016/j.biotechadv.2020.107552](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107552).
- [29] Pereira, S., Kildegaard, H. F., y Andersen, M. R., “Impact of CHO Metabolism on Cell Growth and Protein Production: An Overview of Toxic and Inhibiting Metabolites and Nutrients,” *Biotechnology Journal*, vol. 13, 2018, [doi:10.1002/biot.201700499](https://doi.org/10.1002/biot.201700499).
- [30] Calmels, C., McCann, A., Malphettes, L., y Andersen, M. R., “Application of a curated genome-scale metabolic model of CHO DG44 to an industrial fed-batch process,” *Metabolic Engineering*, vol. 51, pp. 9–19, 2019, [doi:10.1016/j.ymben.2018.09.009](https://doi.org/10.1016/j.ymben.2018.09.009).
- [31] Nolan, R. P. y Lee, K., “Dynamic model of CHO cell metabolism,” *Metabolic Engineering*, vol. 13, pp. 108–124, 2011, [doi:10.1016/j.ymben.2010.09.003](https://doi.org/10.1016/j.ymben.2010.09.003).
- [32] Ma, Y., Noreña-Caro, D. A., Adams, A. J., Brentzel, T. B., Romagnoli, J. A., y Benton, M. G., “Machine-learning-based simulation and fed-batch control of cyanobacterial-phycoerythrin production in *Plectonema* by artificial neural network and deep reinforcement learning,” *Computers and Chemical Engineering*, vol. 142, 2020, [doi:10.1016/j.compchemeng.2020.107016](https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2020.107016).
- [33] dos Santos Junior, J. M., Ícaro Augusto Maccari Zelioli, y Mariano, A. P., “Hybrid modeling of machine learning and phenomenological model for predicting the biomass gasification process in supercritical water for hydrogen production,” *Eng*, vol. 4, pp. 1495–1515, 2023, [doi:10.3390/eng4020086](https://doi.org/10.3390/eng4020086).
- [34] Mowbray, M. R., Wu, C., Rogers, A. W., Rio-Chanona, E. A., y Zhang, D., “A reinforcement learning-based hybrid modeling framework for bioprocess kinetics identification,” *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 120, pp. 154–168, 2023, [doi:10.1002/bit.28262](https://doi.org/10.1002/bit.28262).
- [35] Al-Majmaie, R., Kuystermans, D., y Al-Rubeai, M., “Biopharmaceuticals Produced from Cultivated Mammalian Cells,” en *Cell Engineering*, vol. 10, pp. 3–52, 2021, [doi:10.1007/978-3-030-79871-0{_}1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-79871-0{_}1).
- [36] Latorre, Y., Torres, M., Vergara, M., Berrios, J., Sampayo, M. M., Gödecke, N., Wirth, D., Hauser, H., Dickson, A. J., y Altamirano, C., “Engineering of Chinese hamster ovary cells for co-overexpressing MYC and XBP1s increased cell proliferation and recombinant EPO production,” *Scientific Reports*, vol. 13, 2023, [doi:10.1038/s41598-023-28622-z](https://doi.org/10.1038/s41598-023-28622-z).
- [37] Patel, S. D., Papoutsakis, E. T., Winter, J. N., y Miller, W. M., “The lactate issue revisited: Novel feeding protocols to examine inhibition of cell proliferation and glucose metabolism in hematopoietic cell cultures,” *Biotechnology Progress*, vol. 16, pp. 885–892, 2000, [doi:10.1021/bp000080a](https://doi.org/10.1021/bp000080a).
- [38] Schneider, M., Marison, I. W., y Von Stockar, U., “The importance of ammonia in mammalian cell culture,” vol. 46, pp. 161–185, 1996.
- [39] Marique, T., Cherlet, M., Hendrick, V., Godia, F., Kretzmer, G., y Wérenne, . J., “A general artificial neural network for the modelization of culture kinetics of different CHO strains,” *Cytotechnology*, vol. 36, pp. 55–60, 2001, [doi:10.1023/A:1014084802708](https://doi.org/10.1023/A:1014084802708).

- [40] Mulukutla, B. C., Yongky, A., Grimm, S., Daoutidis, P., y Hu, W. S., “Multiplicity of steady states in glycolysis and shift of metabolic state in cultured mammalian cells,” *PLoS ONE*, vol. 10, 2015, [doi:10.1371/journal.pone.0121561](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121561).
- [41] Sidoli, F. R., Mantalaris, A., y Asprey, S. P., “Modelling of mammalian cells and cell culture processes,” rep. tec., 2004.
- [42] Chevallier, V., Andersen, M. R., y Malphettes, L., “Oxidative stress-alleviating strategies to improve recombinant protein production in CHO cells,” *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 117, pp. 1172–1186, 2020, [doi:10.1002/bit.27247](https://doi.org/10.1002/bit.27247).
- [43] Pappenreiter, M., Döbele, S., Striedner, G., Jungbauer, A., y Sissolak, B., “Model predictive control for steady-state performance in integrated continuous bioprocesses,” *Bio-process and Biosystems Engineering*, vol. 45, pp. 1499–1513, 2022, [doi:10.1007/s00449-022-02759-z](https://doi.org/10.1007/s00449-022-02759-z).
- [44] Cui, T., Bertalan, T. S., Ndaheiro, N., Khare, P., Betenbaugh, M., Maranas, C., y Kevrekidis, I. G., “Data-driven and Physics Informed Modelling of Chinese Hamster Ovary Cell Bioreactors,” 2023, [arXiv:2305.03257](https://arxiv.org/abs/2305.03257).
- [45] Hu, W.-S., *Cell Culture Bioprocess Engineering*. 2012.
- [46] Habanjar, O., Diab-Assaf, M., Caldefie-Chezet, F., y Delort, L., “3D cell culture systems: Tumor application, advantages, and disadvantages,” 2021, [doi:10.3390/ijms222212200](https://doi.org/10.3390/ijms222212200).
- [47] Le, T. S., McCann, M., Azarin, S. M., y Hu, W.-S., “An introduction to mammalian cell culture,” *Chemical Engineering Progress*, 2016.
- [48] *CELL CULTURE BASICS HANDBOOK*. Thermo Fischer Scientific Inc., 2020.
- [49] Zhang, J., *Mammalian Cell Culture for Biopharmaceutical Production*, pp. 157–178. ASM Press, 2014, [doi:10.1128/9781555816827.ch12](https://doi.org/10.1128/9781555816827.ch12).
- [50] Delgadillo Álvarez, D. M. d. C., “Cultivos celulares: reducción histórica en el uso de animales de laboratorio,” *Review Revista Fesahancccal*, vol. 7, pp. 17–24, 2021.
- [51] Allman, T., “Bioprocess basics: Organisms, Growth & Productivity,” 2019, <https://www.infors-ht.com/en/blog/bioprocess-basics-organisms-growth-productivity/>.
- [52] Luo, Y., Kurian, V., y Ogunnaike, B. A., “Bioprocess systems analysis, modeling, estimation, and control,” *Current Opinion in Chemical Engineering*, vol. 33, 2021, [doi:10.1016/j.coche.2021.100705](https://doi.org/10.1016/j.coche.2021.100705).
- [53] Ortega Quintana, F. A., Álvarez, H., y Botero Castro, H. A., “Enfrentando el modelado de bioprocesos: una revisión de las metodologías de modelado,” *Revista ION*, vol. 30, pp. 73–90, 2017, [doi:10.18273/revion.v30n1-2017006](https://doi.org/10.18273/revion.v30n1-2017006).
- [54] Reyes, S. J., Durocher, Y., Pham, P. L., y Henry, O., “Modern Sensor Tools and Techniques for Monitoring, Controlling, and Improving Cell Culture Processes,” 2022, [doi:10.3390/pr10020189](https://doi.org/10.3390/pr10020189).
- [55] Xu, P., “Analytical solution for a hybrid Logistic-Monod cell growth model in batch and continuous stirred tank reactor culture,” *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 117, pp. 873–878, 2020, [doi:10.1002/bit.27230](https://doi.org/10.1002/bit.27230).
- [56] Craven, S., Shirsat, N., Whelan, J., y Glennon, B., “Process model comparison and transferability across bioreactor scales and modes of operation for a mammalian cell bioprocess,” *Biotechnology Progress*, vol. 29, pp. 186–196, 2013, [doi:10.1002/btpr.1664](https://doi.org/10.1002/btpr.1664).

- [57] López-Meza, J., Araíz-Hernández, D., Carrillo-Cocom, L. M., López-Pacheco, F., Rocha-Pizaña, M. d. R., y Alvarez, M. M., “Using simple models to describe the kinetics of growth, glucose consumption, and monoclonal antibody formation in naive and infliximab producer CHO cells,” *Cytotechnology*, vol. 68, pp. 1287–1300, 2016, [doi:10.1007/s10616-015-9889-2](https://doi.org/10.1007/s10616-015-9889-2).
- [58] Richelle, A., Corbett, B., Agarwal, P., Vernersson, A., Trygg, J., y McCready, C., “Model-based intensification of CHO cell cultures: One-step strategy from fed-batch to perfusion,” *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol. 10, 2022, [doi:10.3389/fbioe.2022.948905](https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.948905).
- [59] Mulukutla, B. C., Yongky, A., Daoutidis, P., y Hu, W. S., “Bistability in glycolysis pathway as a physiological switch in energy metabolism,” *PLoS ONE*, vol. 9, 2014, [doi:10.1371/journal.pone.0098756](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098756).
- [60] Alhuthali, S., Fadda, S., Goey, C. H., y Kontoravdi, C., “Multi-stage population balance model to understand the dynamics of fed-batch CHO cell culture,” *Computer Aided Chemical Engineering*, vol. 40, pp. 2821–2826, 2017, [doi:10.1016/B978-0-444-63965-3.50472-4](https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63965-3.50472-4).
- [61] Oh, T. H., Park, H. M., Kim, J. W., y Lee, J. M., “Integration of reinforcement learning and model predictive control to optimize semi-batch bioreactor,” *AIChE Journal*, vol. 68, 2022, [doi:10.1002/aic.17658](https://doi.org/10.1002/aic.17658).
- [62] Zhang, D., Del Rio-Chanona, E. A., Petsagkourakis, P., y Wagner, J., “Hybrid physics-based and data-driven modeling for bioprocess online simulation and optimization,” *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 116, pp. 2919–2930, 2019, [doi:10.1002/bit.27120](https://doi.org/10.1002/bit.27120).
- [63] del Rio-Chanona, E. A., Manirafasha, E., Zhang, D., Yue, Q., y Jing, K., “Dynamic modeling and optimization of cyanobacterial C-phycoyanin production process by artificial neural network,” *Algal Research*, vol. 13, pp. 7–15, 2016, [doi:10.1016/j.algal.2015.11.004](https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.11.004).
- [64] Beiroti, A., Aghasadeghi, M. R., Hosseini, S. N., y Norouzi, D., “Application of recurrent neural network for online prediction of cell density of recombinant *Pichia pastoris* producing HBsAg,” *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, vol. 49, pp. 352–359, 2019, [doi:10.1080/10826068.2019.1566153](https://doi.org/10.1080/10826068.2019.1566153).
- [65] Antonakoudis, A., Strain, B., Barbosa, R., Jimenez del Val, I., y Kontoravdi, C., “Synergising stoichiometric modelling with artificial neural networks to predict antibody glycosylation patterns in Chinese hamster ovary cells,” *Computers and Chemical Engineering*, vol. 154, 2021, [doi:10.1016/j.compchemeng.2021.107471](https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2021.107471).
- [66] Kuko, M. y Pourhomayoun, M., “Single and Clustered Cervical Cell Classification with Ensemble and Deep Learning Methods,” *Information Systems Frontiers*, vol. 22, pp. 1039–1051, 2020, [doi:10.1007/s10796-020-10028-1](https://doi.org/10.1007/s10796-020-10028-1).
- [67] Ebrahimpour, M., Yu, W., y Young, B., “Artificial neural network modelling for cream cheese fermentation pH prediction at lab and industrial scales,” *Food and Bioprocess Processing*, vol. 126, pp. 81–89, 2021, [doi:10.1016/j.fbp.2020.12.006](https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.12.006).
- [68] Murugan, C. y Natarajan, P., “Estimation of fungal biomass using multiphase artificial neural network based dynamic soft sensor,” *Journal of Microbiological Methods*, vol. 159, pp. 5–11, 2019, [doi:10.1016/j.mimet.2019.02.002](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.02.002).
- [69] Yu, Y., Si, X., Hu, C., y Zhang, J., “A review of recurrent neural networks: Lstm cells

- and network architectures,” *Neural Computation*, vol. 31, pp. 1235–1270, 2019, doi:[10.1162/neco.2019.01199](https://doi.org/10.1162/neco.2019.01199).
- [70] Wong, W. C., Chee, E., Li, J., y Wang, X., “Recurrent neural network-based model predictive control for continuous pharmaceutical manufacturing,” *Mathematics*, vol. 6, 2018, doi:[10.3390/math6110242](https://doi.org/10.3390/math6110242).
- [71] Jueyendah, S., Lezgy-Nazargah, M., Eskandari-Naddaf, H., y Emamian, S. A., “Predicting the mechanical properties of cement mortar using the support vector machine approach,” *Construction and Building Materials*, vol. 291, 2021, doi:[10.1016/j.conbuildmat.2021.123396](https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.123396).
- [72] Yeh, Y. C., Syed, T., Brintzer, G., Frick, K., Schmid-Staiger, U., Haasdonk, B., Tovar, G. E., Krujatz, F., Mädler, J., y Urbas, L., “Improving microalgae growth modeling of outdoor cultivation with light history data using machine learning models: A comparative study,” *Bioresource Technology*, vol. 390, 2023, doi:[10.1016/j.biortech.2023.129882](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129882).
- [73] Webster, T. A., Hadley, B. C., Dickson, M., Busa, J. K., Jaques, C., y Mason, C., “Feedback control of two supplemental feeds during fed-batch culture on a platform process using inline Raman models for glucose and phenylalanine concentration,” *Bioprocess and Biosystems Engineering*, vol. 44, pp. 127–140, 2021, doi:[10.1007/s00449-020-02429-y](https://doi.org/10.1007/s00449-020-02429-y).
- [74] Agustriyanto, R., Setyoprato, P., y Fatmawati, A., “Simulation of a Proportional-Integral-Derivative Control for Continuous Bioreactor,” pp. 119–123, Scitepress, 2020, doi:[10.5220/0009423201190123](https://doi.org/10.5220/0009423201190123).
- [75] Butkus, M., Levišauskas, D., y Galvanauskas, V., “Simple gain-scheduled control system for dissolved oxygen control in bioreactors,” *Processes*, vol. 9, 2021, doi:[10.3390/pr9091493](https://doi.org/10.3390/pr9091493).
- [76] Wang, Z., Chen, C., Chen, X., Li, D., y Zeng, F., “Adaptive PID control for time-varying fermentation processes,” en *Proceedings of 2021 IEEE 10th Data Driven Control and Learning Systems Conference, DDCLS 2021*, pp. 643–648, Institute of Electrical and Electronics Engineers Inc., 2021, doi:[10.1109/DDCLS52934.2021.9455651](https://doi.org/10.1109/DDCLS52934.2021.9455651).
- [77] Wang, L., “Basics of PID Control,” 2020, www.wiley.com/go/Wang/PIDcontrolsistemas.
- [78] Bolmanis, E., Dubencovs, K., Suleiko, A., y Vanags, J., “Model Predictive Control—A Stand Out among Competitors for Fed-Batch Fermentation Improvement,” *Fermentation*, vol. 9, 2023, doi:[10.3390/fermentation9030206](https://doi.org/10.3390/fermentation9030206).
- [79] Singh, V. y Kodamana, H., “Reinforcement learning based control of batch polymerisation processes,” *IFAC*, vol. 53, no. 1, pp. 667–672, 2020, doi:[10.1016/j.ifacol.2020.06.111](https://doi.org/10.1016/j.ifacol.2020.06.111).
- [80] Curreri, F., Patanè, L., y Xibilia, M. G., “Soft sensor transferability: A survey,” *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 11, 2021, doi:[10.3390/app11167710](https://doi.org/10.3390/app11167710).
- [81] Zhao, B., Li, X., Sun, W., Qian, J., Liu, J., Gao, M., Guan, X., Ma, Z., y Li, J., “BioDT: An Integrated Digital-Twin-Based Framework for Intelligent Biomanufacturing,” *Processes*, vol. 11, 2023, doi:[10.3390/pr11041213](https://doi.org/10.3390/pr11041213).
- [82] Kroll, P., Stelzer, I. V., y Herwig, C., “Soft sensor for monitoring biomass subpopulations in mammalian cell culture processes,” *Biotechnology Letters*, vol. 39, pp. 1667–1673, 2017, doi:[10.1007/s10529-017-2408-0](https://doi.org/10.1007/s10529-017-2408-0).
- [83] Martínez-Monge, I., Martínez, C., Decker, M., Udugama, I. A., Marín de Mas, I., Ger-

- naey, K. V., y Nielsen, L. K., “Soft-sensors application for automated feeding control in high-throughput mammalian cell cultures,” *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 119, pp. 1077–1090, 2022, [doi:10.1002/bit.28032](https://doi.org/10.1002/bit.28032).
- [84] Harcum, S. W., Elliott, K. S., Skelton, B. A., Klaubert, S. R., Dahodwala, H., y Lee, K. H., “PID controls: the forgotten bioprocess parameters,” *Discover Chemical Engineering*, vol. 2, 2022, [doi:10.1007/s43938-022-00008-z](https://doi.org/10.1007/s43938-022-00008-z).
- [85] Rashedi, M., Rafiei, M., Demers, M., Khodabandehlou, H., Wang, T., Tulsyan, A., Undey, C., y Garvin, C., “Machine learning-based model predictive controller design for cell culture processes,” *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 120, pp. 2144–2159, 2023, [doi:10.1002/bit.28486](https://doi.org/10.1002/bit.28486).
- [86] Luo, Y., Kurian, V., Song, L., Wells, E. A., Robinson, A. S., y Ogunnaike, B. A., “Model-based control of titer and glycosylation in fed-batch mAb production: Modeling and control system development,” *AIChE Journal*, vol. 69, 2023, [doi:10.1002/aic.18075](https://doi.org/10.1002/aic.18075).
- [87] Domján, J., Pantea, E., Gyürkés, M., Madarász, L., Kozák, D., Farkas, A., Horváth, B., Benkó, Z., Nagy, Z. K., Marosi, G. J., y Hirsch, E., “Real-time amino acid and glucose monitoring system for the automatic control of nutrient feeding in CHO cell culture using Raman spectroscopy,” *Biotechnology Journal*, vol. 17, 2022, [doi:10.1002/biot.202100395](https://doi.org/10.1002/biot.202100395).
- [88] Masuda, K., Watanabe, K., Ueno, T., Nakazawa, Y., Tanabe, Y., Ushiki-Kaku, Y., Ogawa-Goto, K., Ehara, Y., Saeki, H., Okumura, T., Nonaka, K., y Kamihira, M., “Novel cell line development strategy for monoclonal antibody manufacturing using translational enhancing technology,” *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 133, pp. 273–280, 2022, [doi:10.1016/j.jbiosc.2021.11.010](https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2021.11.010).
- [89] Domján, J., Fricška, A., Madarász, L., Gyürkés, M., Köte, A., Farkas, A., Vass, P., Fehér, C., Horváth, B., Könczöl, K., Pataki, H., Nagy, Z. K., Marosi, G. J., y Hirsch, E., “Raman-based dynamic feeding strategies using real-time glucose concentration monitoring system during adalimumab producing CHO cell cultivation,” *Biotechnology Progress*, vol. 36, 2020, [doi:10.1002/btpr.3052](https://doi.org/10.1002/btpr.3052).
- [90] Alhuthali, S. y Kontoravdi, C., “Population balance modelling captures host cell protein dynamics in CHO cell cultures,” *PLoS ONE*, vol. 17, 2022, [doi:10.1371/journal.pone.0265886](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265886).
- [91] Ohadi, K., Aghamohseni, H., Legge, R. L., y Budman, H. M., “Fluorescence-Based Soft Sensor for at Situ Monitoring of Chinese Hamster Ovary Cell Cultures,” *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 111, pp. 1577–1586, 2014, [doi:10.1002/bit.25222/abstract](https://doi.org/10.1002/bit.25222/abstract).
- [92] Caldwell, J., Wang, W., y Zandstra, P. W., “Proportional-Integral-Derivative (PID) control of secreted factors for blood stem cell culture,” *PLoS ONE*, vol. 10, 2015, [doi:10.1371/journal.pone.0137392](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137392).
- [93] Agarwal, A., Liu, Y. A., y McDowell, C., “110th Anniversary: Ensemble-Based Machine Learning for Industrial Fermenter Classification and Foaming Control,” *Industrial and Engineering Chemistry Research*, vol. 58, pp. 16719–16729, 2019, [doi:10.1021/acs.iecr.9b02424](https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b02424).
- [94] Lavecchia, A., “Machine-learning approaches in drug discovery: Methods and applications,” 2015, [doi:10.1016/j.drudis.2014.10.012](https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.10.012).
- [95] Laref, R., Losson, E., Sava, A., y Siadat, M., “On the optimization of the support

- vector machine regression hyperparameters setting for gas sensors array applications,” *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, vol. 184, pp. 22–27, 2019, doi:[10.1016/j.chemolab.2018.11.011](https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2018.11.011).
- [96] Jeng, J. T., “Hybrid approach of selecting hyperparameters of support vector machine for regression,” *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics, Part B: Cybernetics*, vol. 36, pp. 699–709, 2006, doi:[10.1109/TSMCB.2005.861067](https://doi.org/10.1109/TSMCB.2005.861067).
- [97] Shokry, A., Vicente, P., Escudero, G., Pérez-Moya, M., Graells, M., y Espuña, A., “Data-driven soft-sensors for online monitoring of batch processes with different initial conditions,” *Computers and Chemical Engineering*, vol. 118, pp. 159–179, 2018, doi:[10.1016/j.compchemeng.2018.07.014](https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2018.07.014).

Anexos

Anexo A. Modelo de células CHO elaborado por Craven en operación Batch

En una investigación realizada por S. Craven, anterior a la presentada en las ecuaciones 3.5-3.14 [22], publicó un modelo matemático mecanístico basado en un balance de masa, que describe la evolución de un cultivo de células CHO en operación Batch en función de variables de estado como la concentración celular, glucosa, glutamina, lactato y amoniaco [56]. Las ecuaciones asociadas al modelo se presentan en las ecuaciones A.1-A.7.

$$\frac{dX_T}{dt} = \mu \cdot X_V - K_{LYSIS} \cdot X_D \quad (\text{A.1})$$

$$\frac{dX_V}{dt} = (\mu - k_d) \cdot X_V \quad (\text{A.2})$$

$$\frac{dX_D}{dt} = k_d \cdot X_D - K_{LYSIS} \cdot X_D \quad (\text{A.3})$$

$$\frac{dG}{dt} = - \left(m_G + \frac{\mu}{Y_{X/G}} \right) \cdot X_V \quad (\text{A.4})$$

$$\frac{dQ}{dt} = - \left(m_Q + \frac{\mu}{Y_{X/Q}} \right) \cdot X_V - k_{d,Q} \cdot Q \quad (\text{A.5})$$

$$\frac{dL}{dt} = Y_{L/G} \cdot \left(m_G + \frac{\mu}{Y_{X/G}} \right) \quad (\text{A.6})$$

$$\frac{dA}{dt} = Y_{A/Q} \cdot \left(m_Q + \frac{\mu}{Y_{X/Q}} \right) + k_{d,Q} \cdot Q \quad (\text{A.7})$$

Adicionalmente, se presentan expresiones asociadas a la tasa de crecimiento (μ) y tasa de muerte (k_d), estas se encuentran presentadas en las ecuaciones A.8 y A.9, donde μ_{\max} representa la tasa de crecimiento máxima, K_G la constante de saturación de la glucosa, K_Q la constante de saturación de la glutamina, K_L la constante de saturación del lactato y K_A la constante de saturación del amoniaco, $k_{d,\max}$ la tasa máxima de muerte celular y k_μ la tasa de muerte intrínseca. La tasa de crecimiento específica ha sido establecida a partir de la relación de dependencia con el sustrato, siendo representada por una expresión del tipo Monod. Se ha de notar que para el caso de análisis el sustrato corresponde a glucosa y glutamina, los cuales generan lactato y amoniaco a partir de su consumo; los cuales presentan un efecto inhibidor [56].

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \cdot G \cdot Q}{(K_G + G) \cdot (K_Q + Q) \cdot \left(\frac{L}{K_L} + 1\right) \cdot \left(\frac{A}{K_A} + 1\right)} \quad (\text{A.8})$$

$$k_d = k_{d,\max} \cdot \left(\frac{k_\mu}{\mu + k_\mu}\right) \quad (\text{A.9})$$

Cada uno de los parámetros mencionados anteriormente fueron ajustados en [56] considerando un reactor de 3 L de capacidad. Estos valores y sus respectivas unidades se presentan en la Tabla 3.1.

Tabla A.1: Parámetros del modelo batch presentado por Craven [56].

Parámetro	Unidad	Valor
$k_{d,Q}$	h^{-1}	0.001
m_G	mmol cell^{-1}	8×10^{-13}
$Y_{A/Q}$	-	0.68
$Y_{L/G}$	-	1.6
$Y_{X/G}$	cells mmol^{-1}	9.23×10^7
$Y_{X/Q}$	cells mmol^{-1}	8.8×10^8
K_L	mM	150
K_A	mM	40
$k_{d,\max}$	h^{-1}	0.01
μ_{\max}	h^{-1}	0.035
K_G	mM	1.0
K_Q	mM	0.22
m_Q	$\text{mmol cell}^{-1} \text{h}^{-1}$	3.0×10^{-12}
k_μ	h^{-1}	0.01
K_{LYSIS}	h^{-1}	4×10^{-2}

Anexo B. Set de Datos

A continuación, se presentan los gráficos asociados a los sets de datos experimentales con intervalos de medición de 4, 12 y 24 horas.

En la Sección 4.2 se presentan los comporta presentados al considerar intervalos de tiempo cada 4, 12 y 24 horas presentan las mismas características. A continuación, se incluyen los gráficos asociados a cada escenario con intervalos de tiempo diferentes.

B.1. Cada 4 horas

Escenario 1:

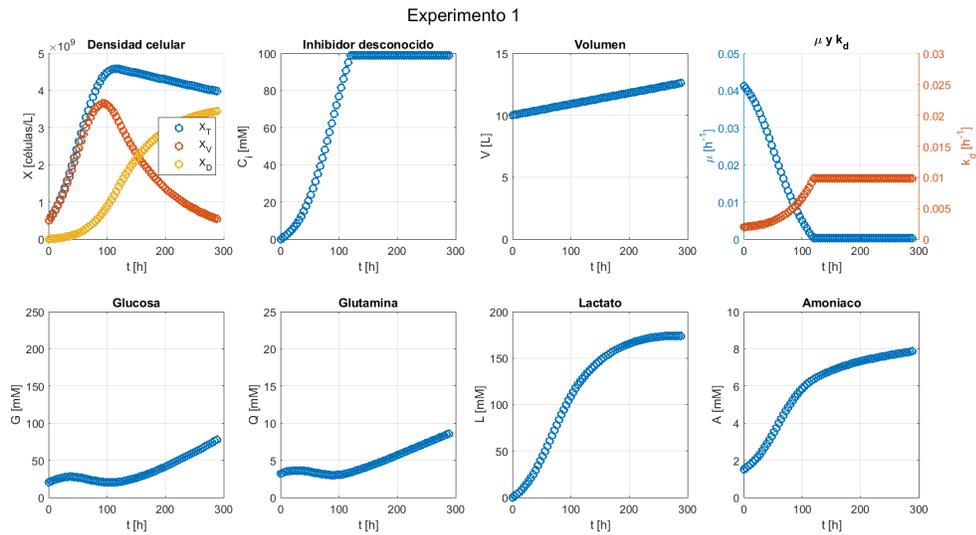


Figura B.1: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 1 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.5 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.5 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.2$ mM, $L = 0$ mM, $A = 1.5$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 2:

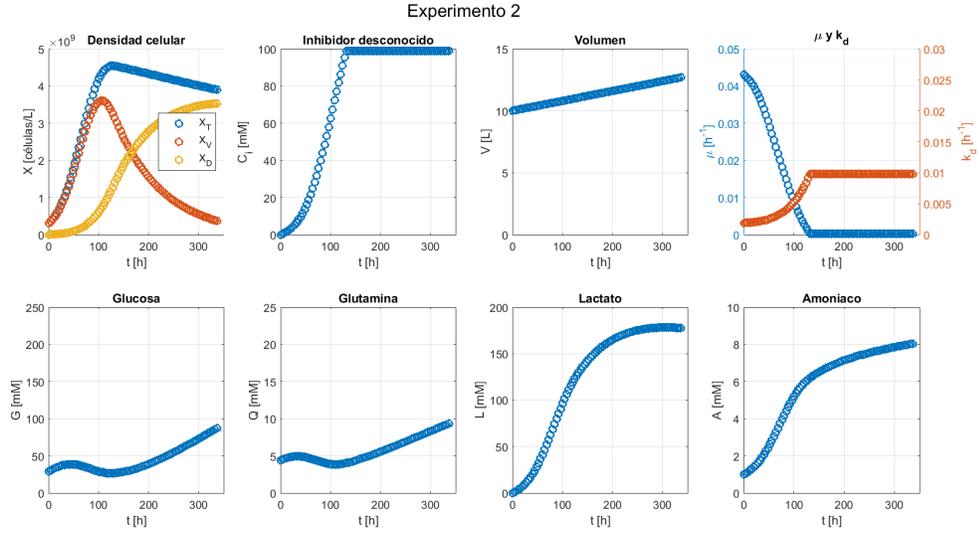


Figura B.2: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 2 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 29$ mM, $Q = 4.8$ mM, $L = 0$ mM, $A = 1.0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 3:

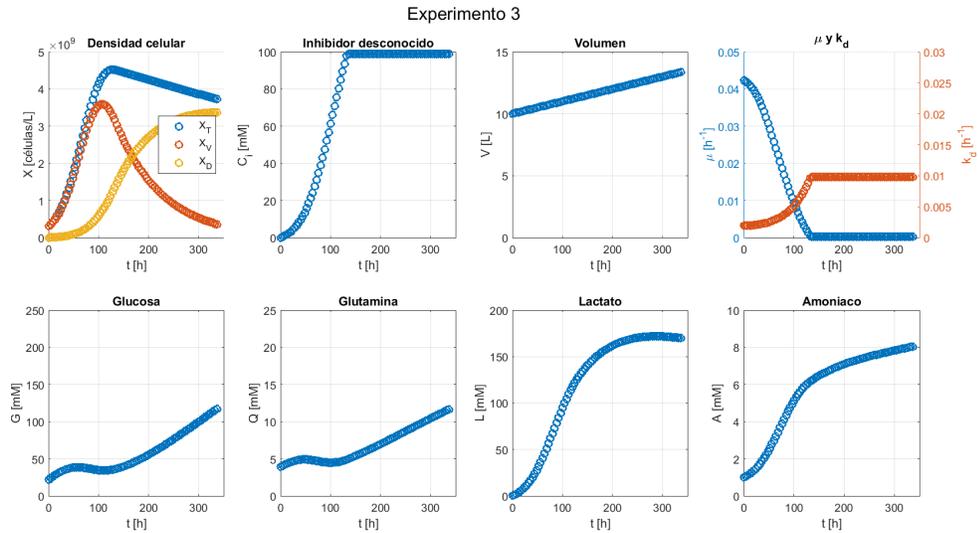


Figura B.3: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 3 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 29$ mM, $Q = 3.9$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 4:

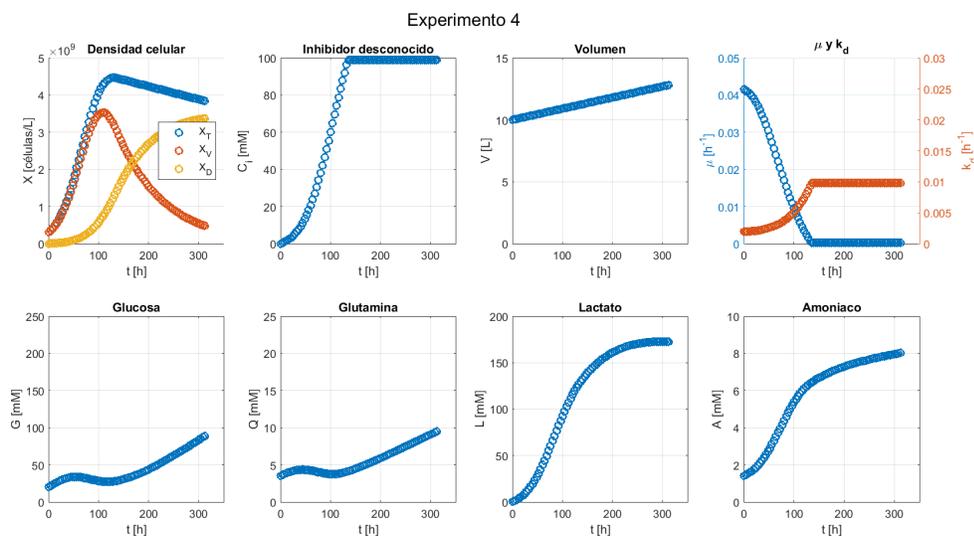


Figura B.4: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 4 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 5:

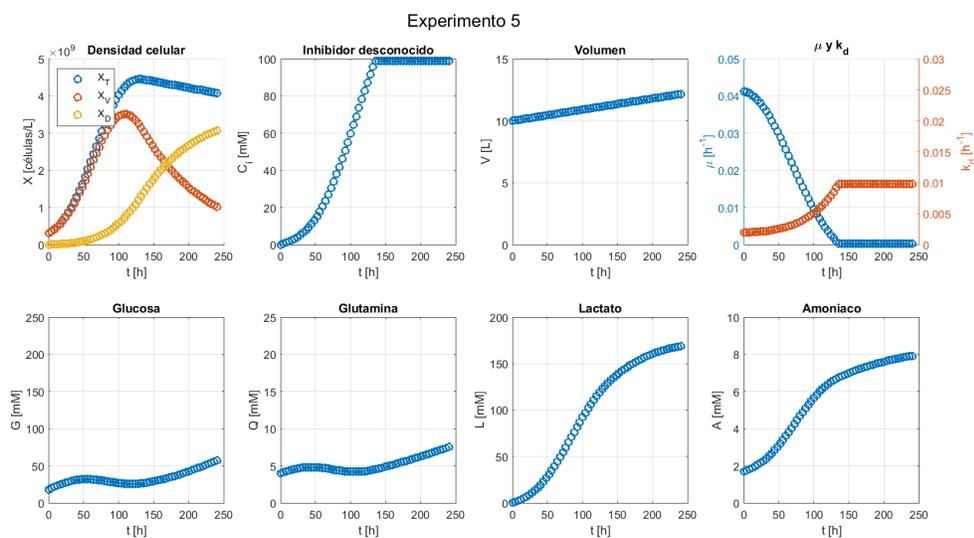


Figura B.5: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 5 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 18$ mM, $Q = 4.0$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.7$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 6:

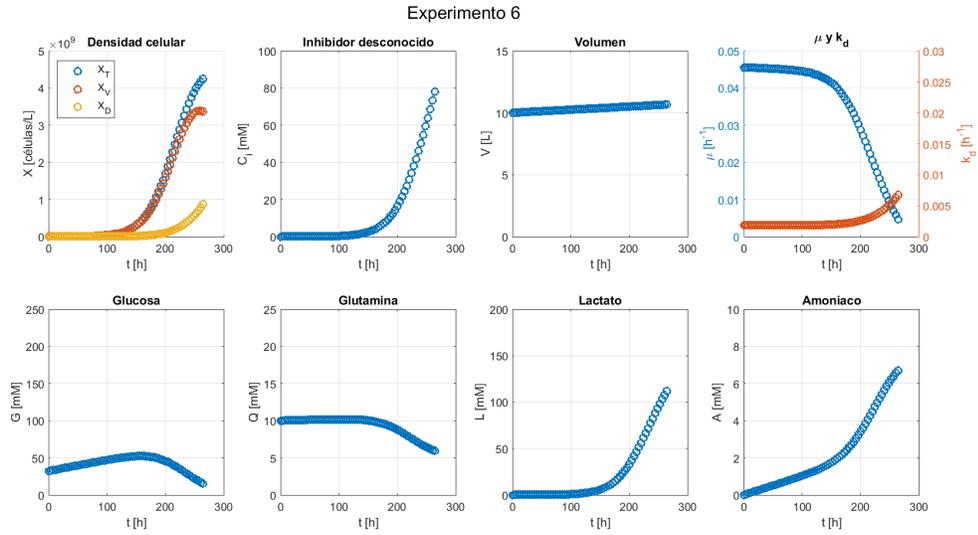


Figura B.6: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 6 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.5 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.5 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 32$ mM, $Q = 10$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 7:

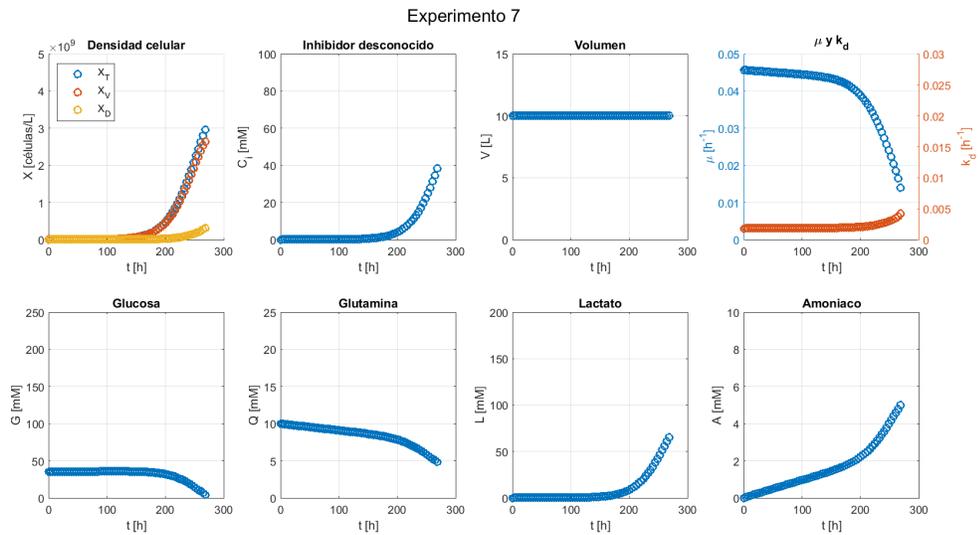


Figura B.7: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 7 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 35$ mM, $Q = 10$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 8:

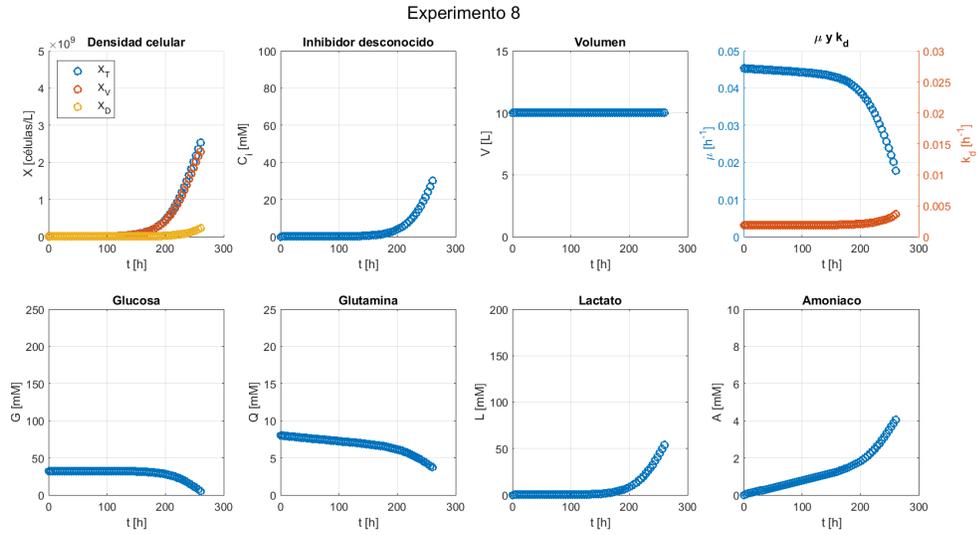


Figura B.8: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 8 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 32$ mM, $Q = 8$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 9:

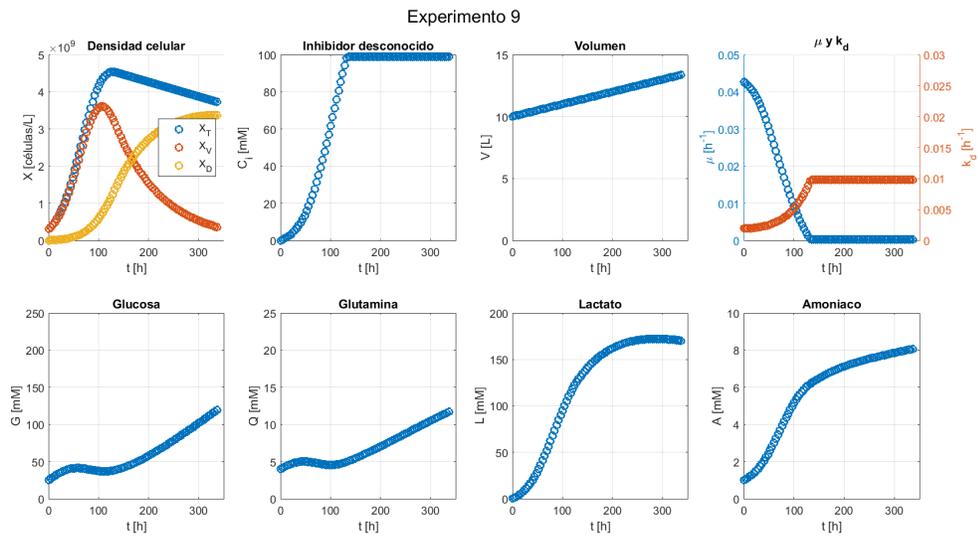


Figura B.9: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 9 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 3 \times 10^8$ células/L, $X_V = 3 \times 10^8$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 15$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.1$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 10:

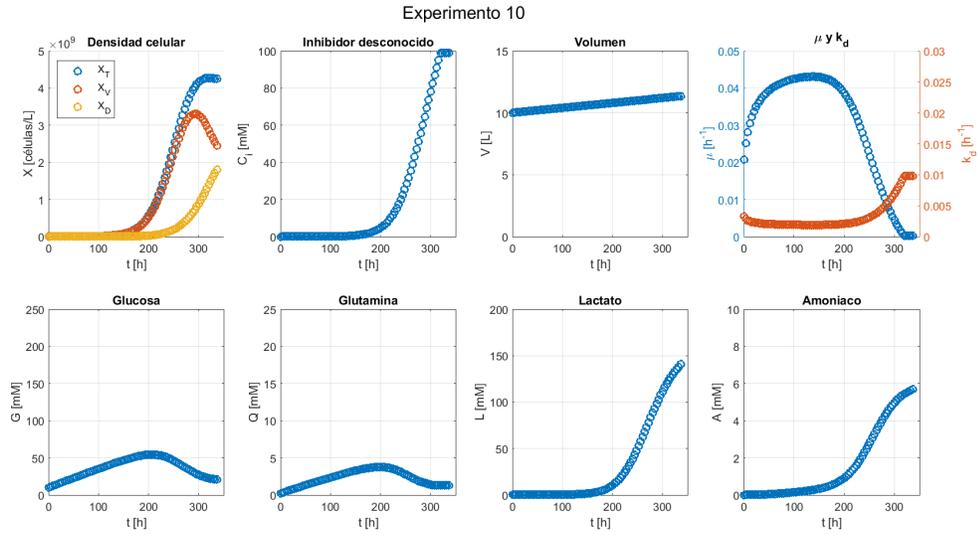


Figura B.10: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 10 considerando datos cada 4 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^6$ células/L, $X_V = 3 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 10$ mM, $Q = 0.2$ mM, $L = 0.05$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

B.2. Cada 12 horas

Escenario 1:

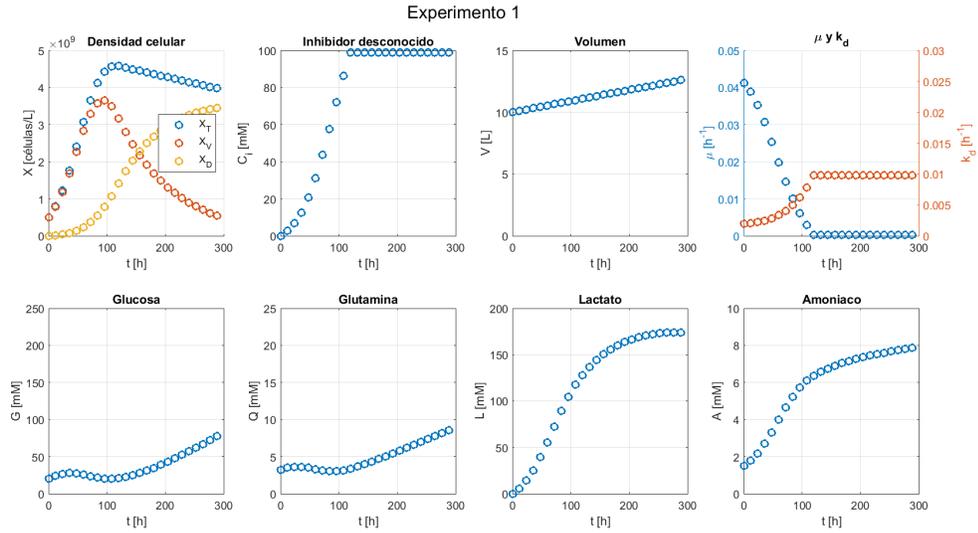


Figura B.11: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 1 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.5 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.5 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.2$ mM, $L = 0$ mM, $A = 1.5$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 2:

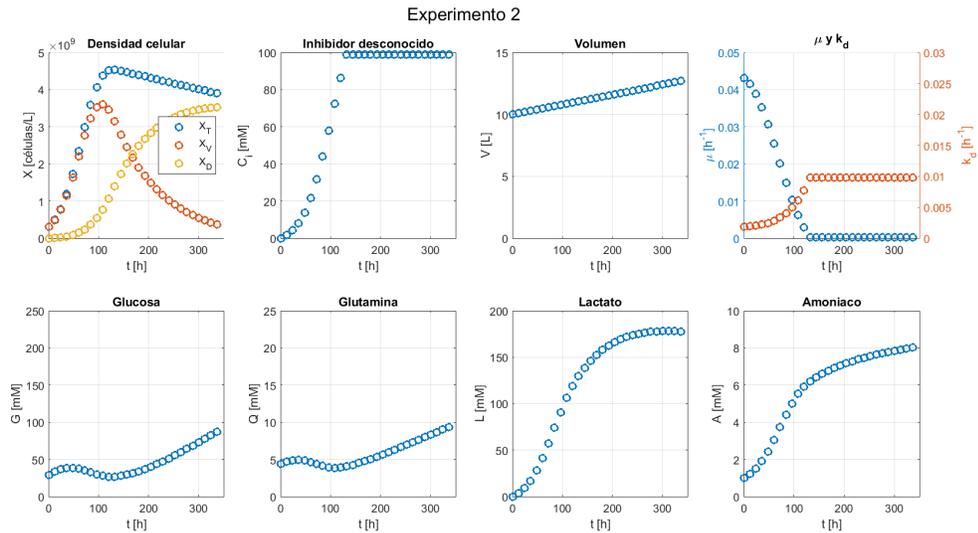


Figura B.12: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 2 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 29$ mM, $Q = 4.8$ mM, $L = 0$ mM, $A = 1.0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 3:

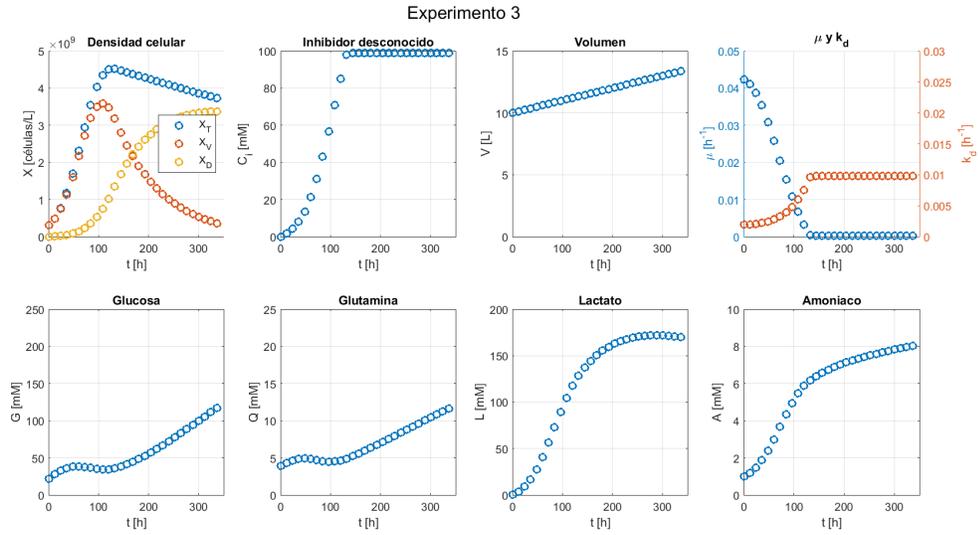


Figura B.13: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 3 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 29$ mM, $Q = 3.9$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 4:

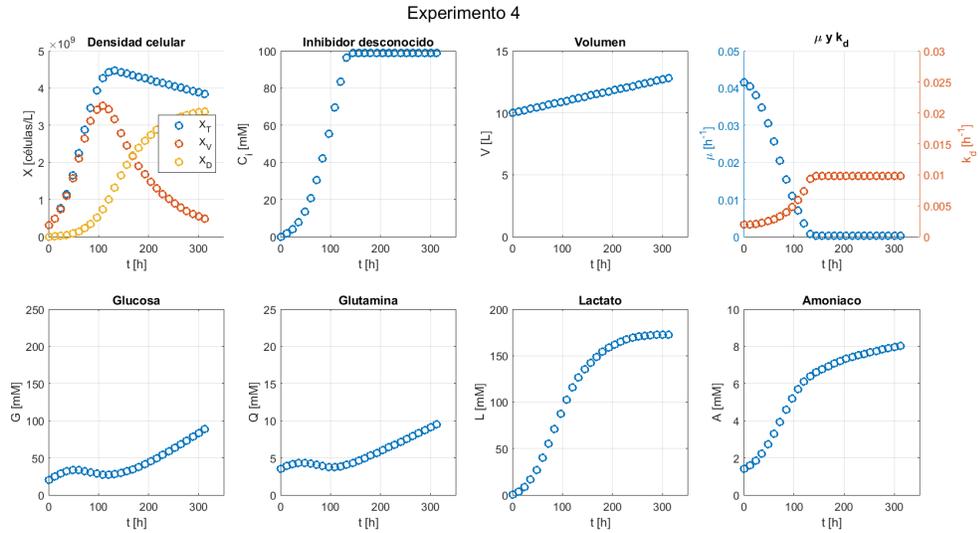


Figura B.14: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 4 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 5:

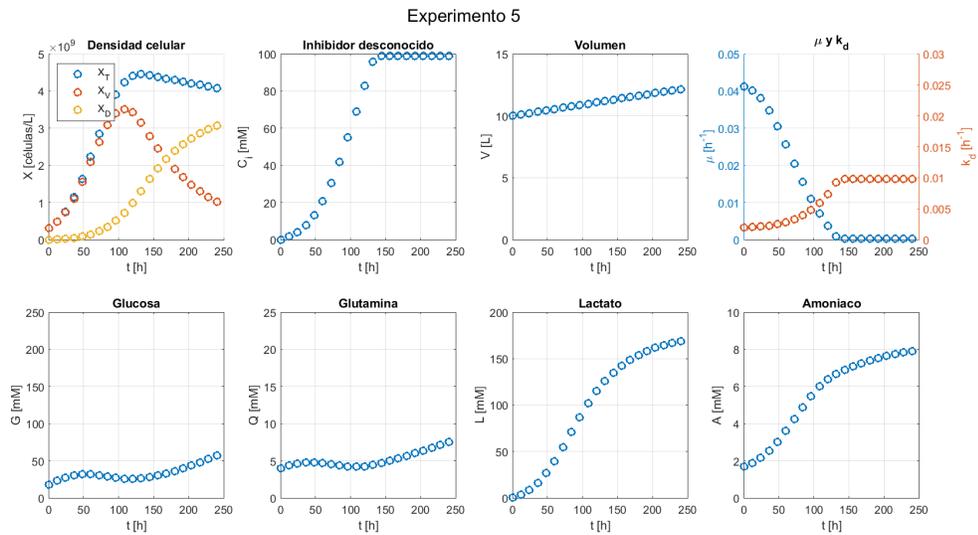


Figura B.15: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 5 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 18$ mM, $Q = 4.0$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.7$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 6:

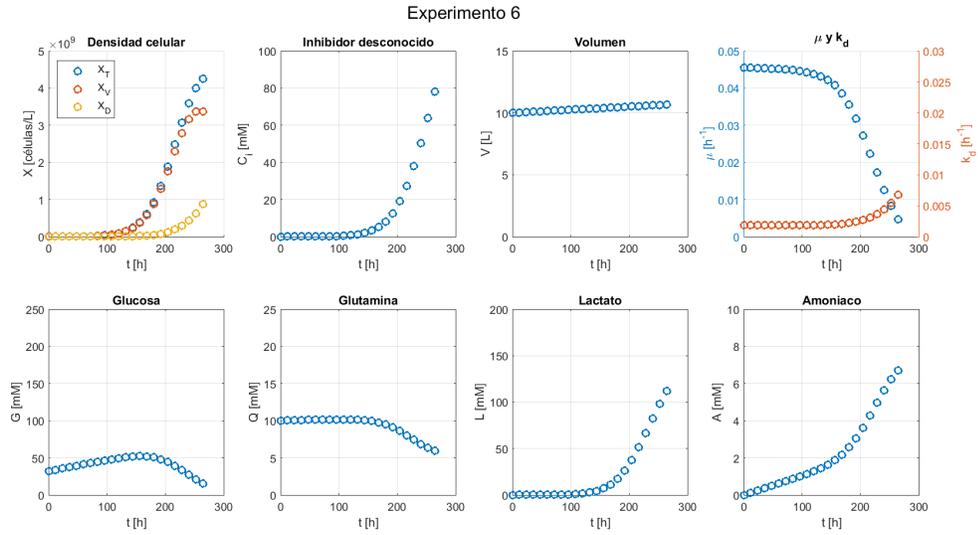


Figura B.16: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 6 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.5 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.5 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 32$ mM, $Q = 10$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 7:

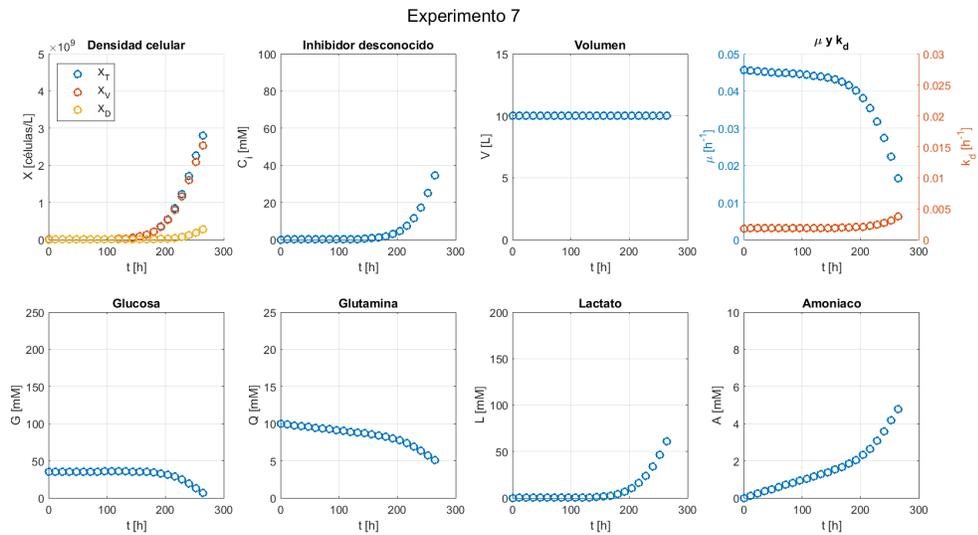


Figura B.17: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 7 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 35$ mM, $Q = 10$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 8:

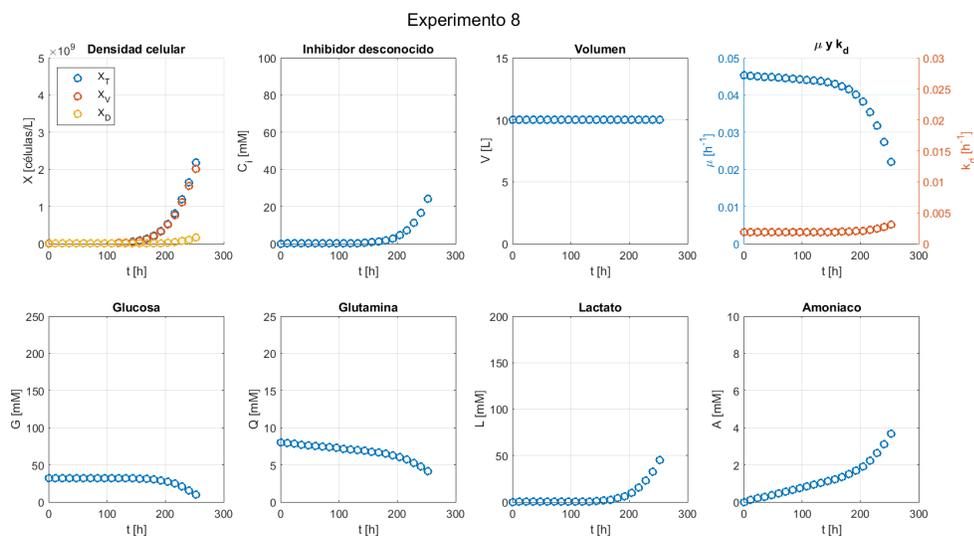


Figura B.18: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 8 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 32$ mM, $Q = 8$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 9:

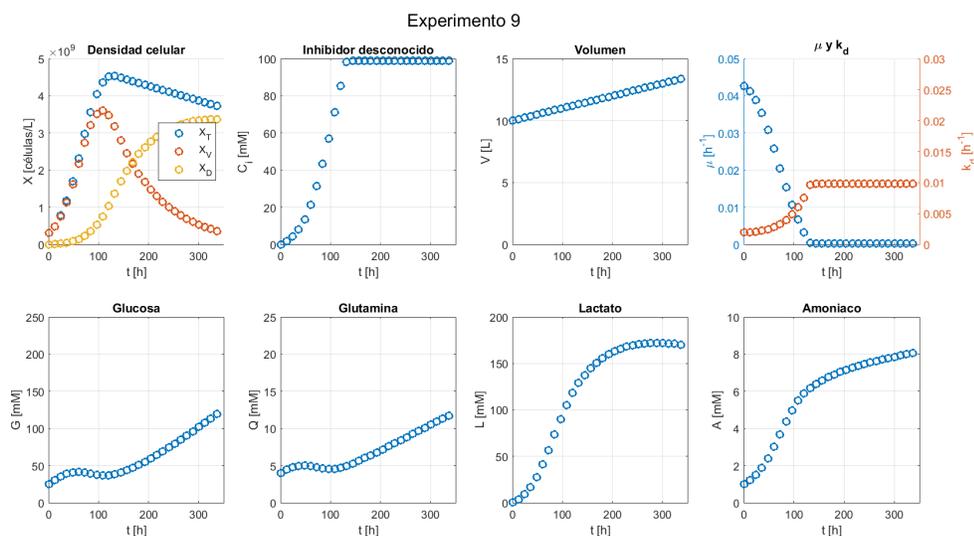


Figura B.19: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 9 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 3 \times 10^8$ células/L, $X_V = 3 \times 10^8$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 15$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.1$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 10:

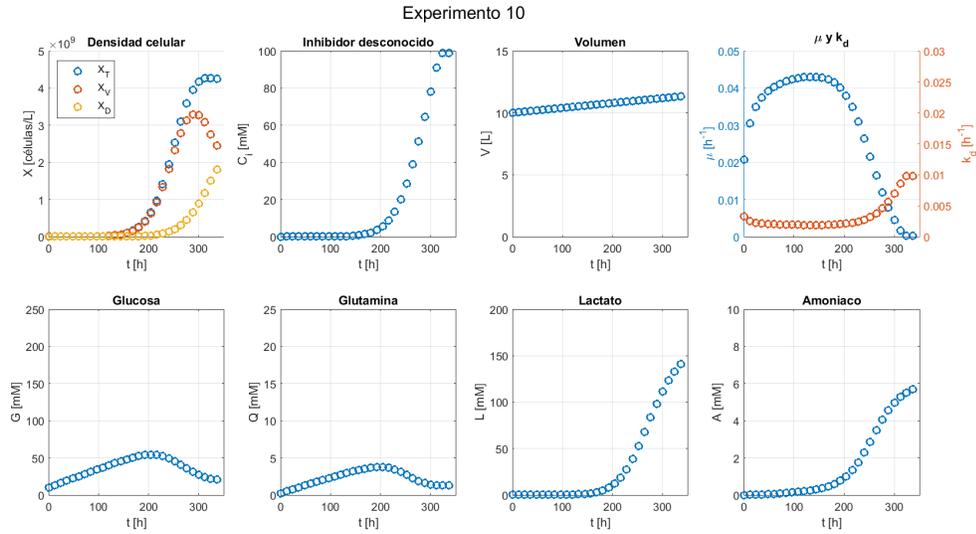


Figura B.20: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 10 considerando datos cada 12 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^6$ células/L, $X_V = 3 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 10$ mM, $Q = 0.2$ mM, $L = 0.05$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

B.3. Cada 24 horas

Escenario 1:

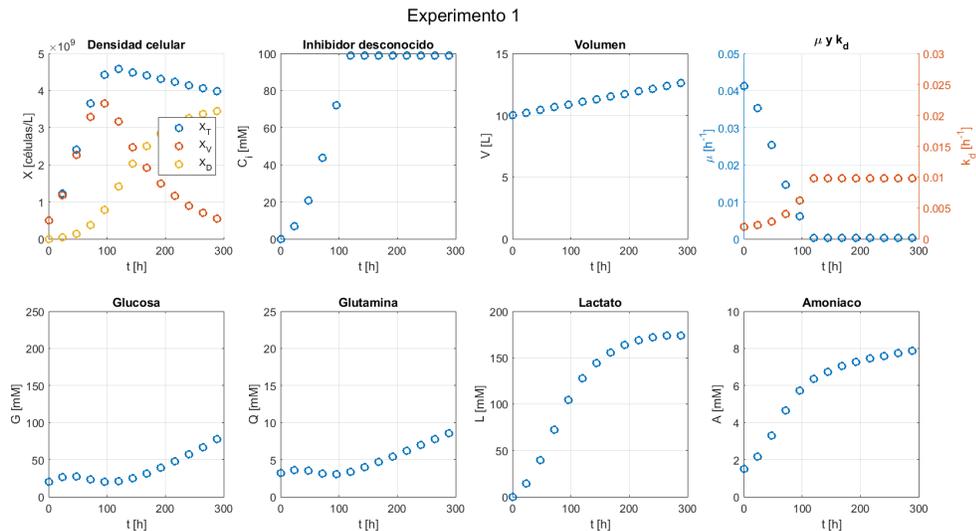


Figura B.21: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 1 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.5 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.5 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.2$ mM, $L = 0$ mM, $A = 1.5$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 2:

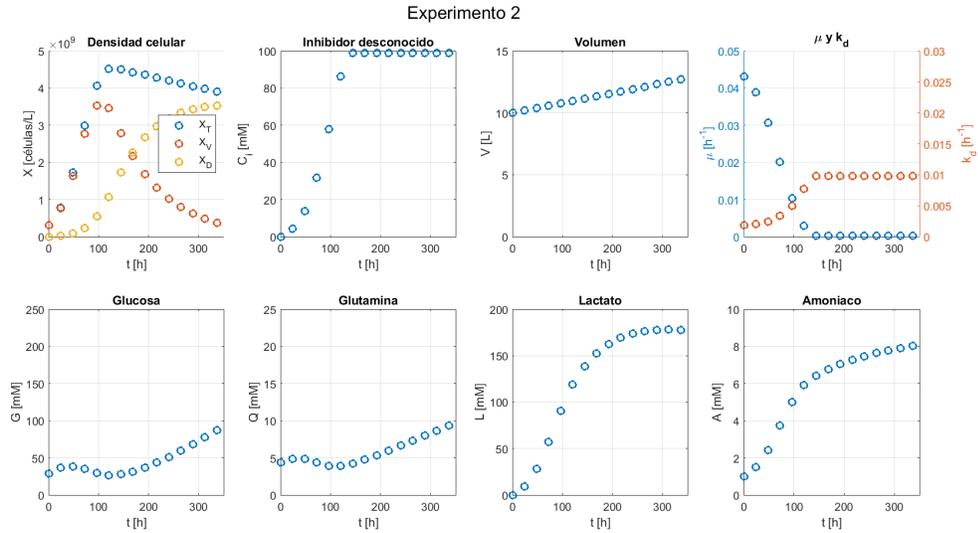


Figura B.22: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 2 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 29$ mM, $Q = 4.8$ mM, $L = 0$ mM, $A = 1.0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 3:

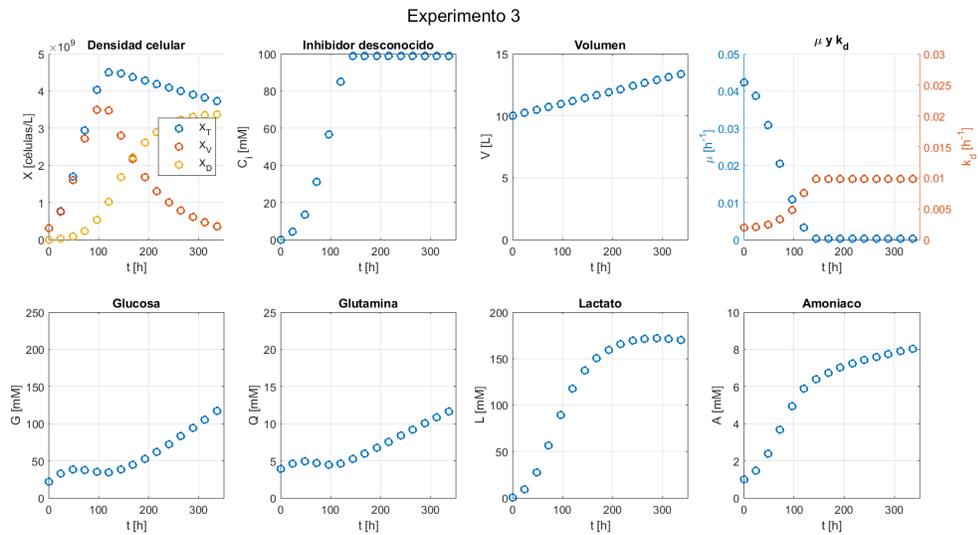


Figura B.23: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 3 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 29$ mM, $Q = 3.9$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 4:

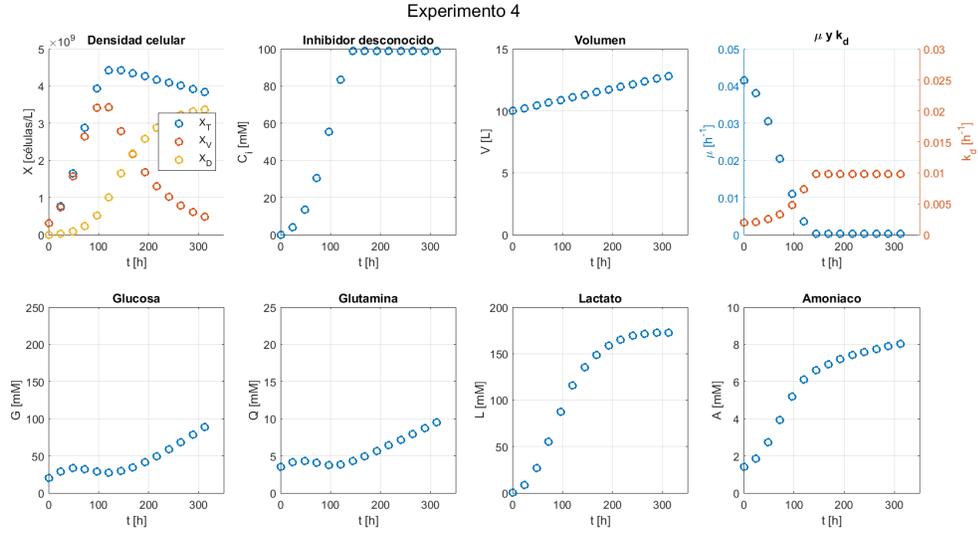


Figura B.24: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 4 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 5:

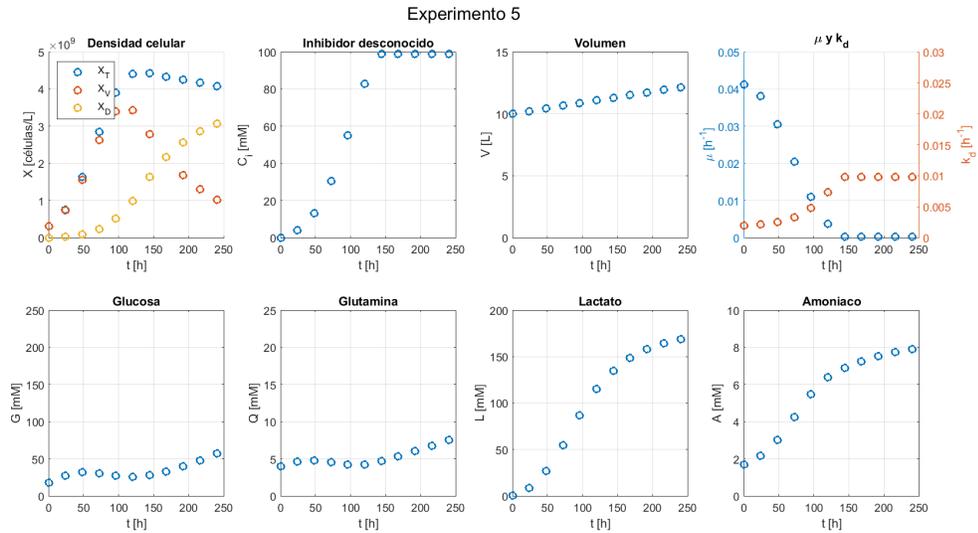


Figura B.25: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 5 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 18$ mM, $Q = 4.0$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.7$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 6:

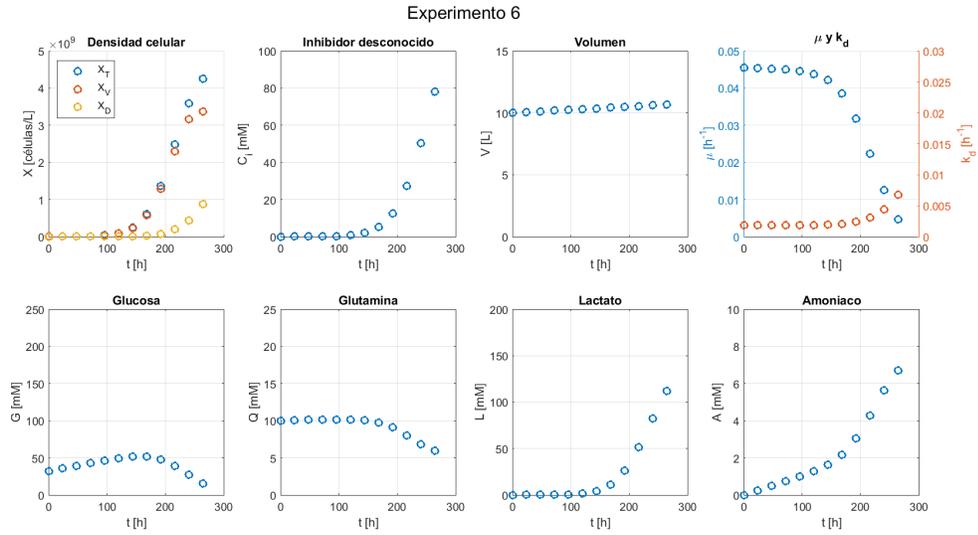


Figura B.26: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 6 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.5 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.5 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 32$ mM, $Q = 10$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 7:

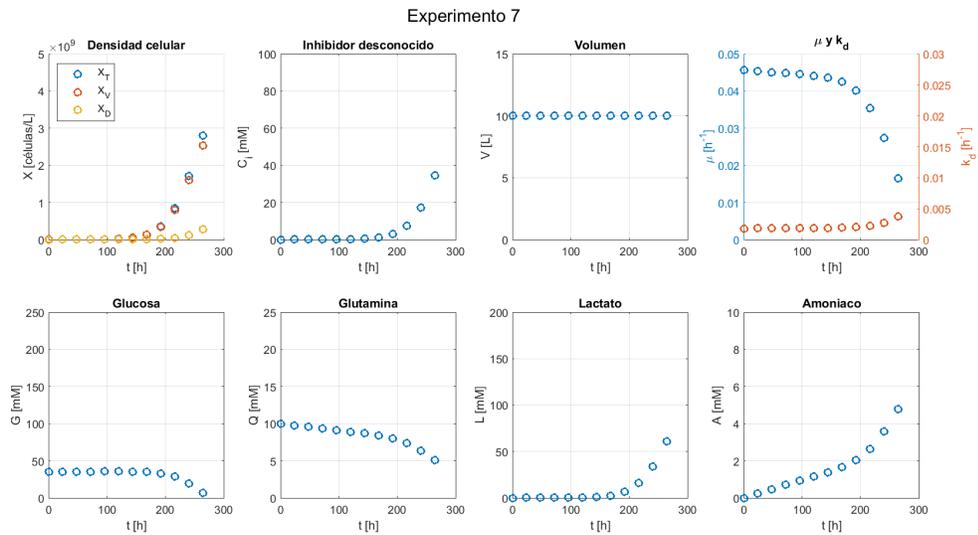


Figura B.27: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 7 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 35$ mM, $Q = 10$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 8:

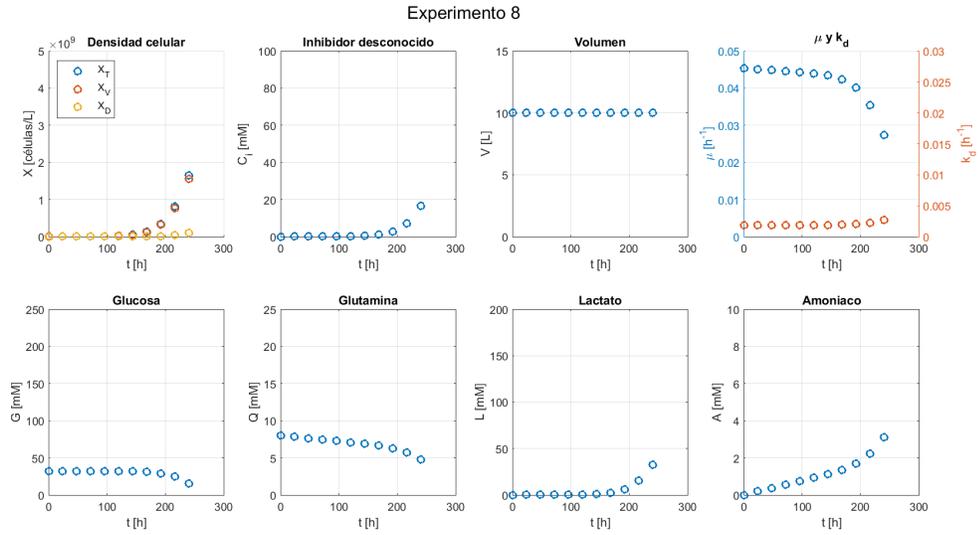


Figura B.28: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 8 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_V = 0.1 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 32$ mM, $Q = 8$ mM, $L = 0$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 9:

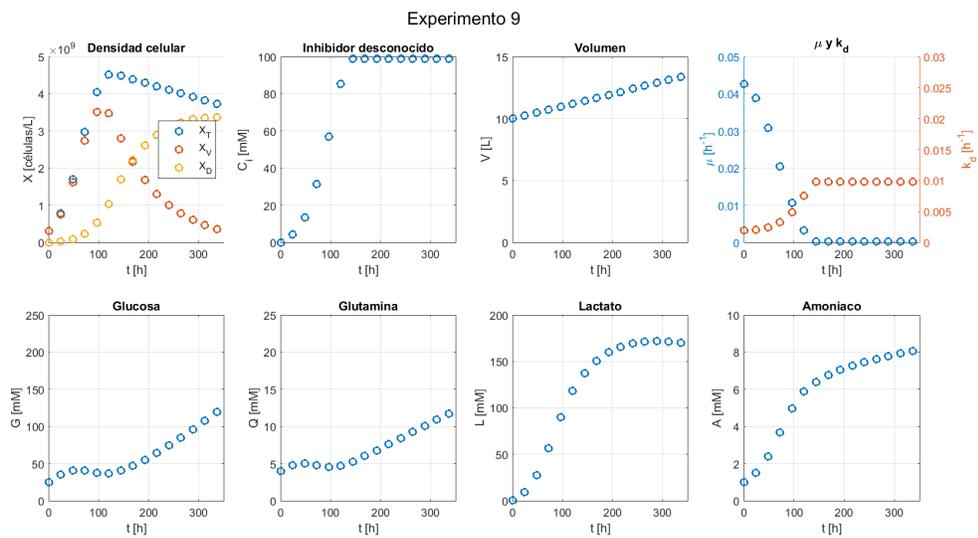


Figura B.29: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 9 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 3 \times 10^8$ células/L, $X_V = 3 \times 10^8$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 15$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.1$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Escenario 10:

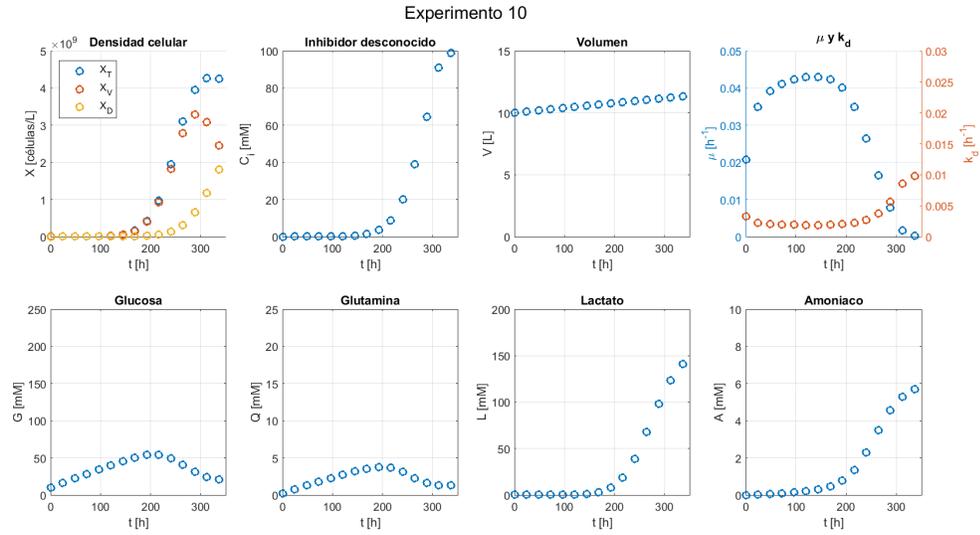


Figura B.30: Dinámica de las variables de estado asociadas al escenario 10 considerando datos cada 24 horas. Las condiciones iniciales consideradas corresponden a: $X_T = 0.3 \times 10^6$ células/L, $X_V = 3 \times 10^6$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 10$ mM, $Q = 0.2$ mM, $L = 0.05$ mM, $A = 0$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

Anexo C. Elaboración Soft Sensor

Como fue presentado en los resultados, se diseñó un *Soft Sensor* basado en *SVM* que sea capaz de predecir la tasa de crecimiento de un cultivo celular CHO. A continuación se presentan los resultados obtenidos para la consideración de intervalos de 4 y 24 horas.

C.1. Cada 4 horas:

De la Figura C.1 se puede notar que la predicción obtenida presenta un comportamiento similar al esperado. En el caso 1, se puede ver que el valor de μ se encuentra subestimado en un intervalo de 0 a 20 horas y de 50 a 110 horas aproximadamente; mientras que se encuentra sobre estimado entre las 20 y 50 horas y entre 110 a 300, presentando un gran error en el último intervalo mencionado. En el caso 2 y 3 se observa una tendencia similar, donde inicialmente y a mediados del descenso de μ la predicción subestima su valor; mientras que, principalmente a finales del tiempo se presenta una sobre estimación del valor esperado.

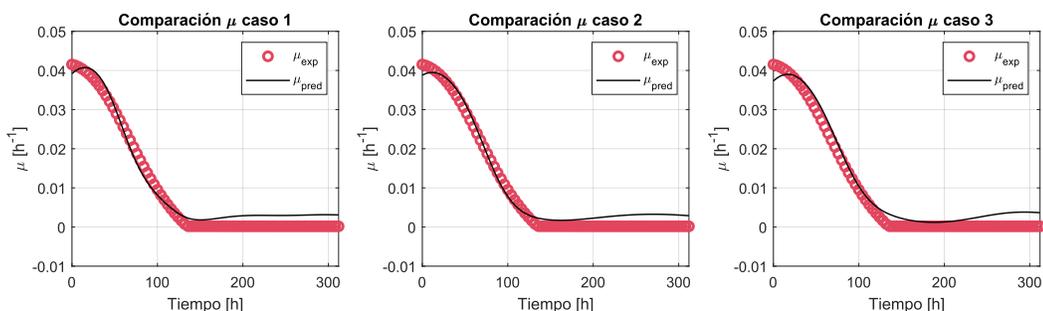


Figura C.1: Comparación de los predictores de μ según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando datos cada 4 horas y un kernel scale de 2.2. Elaboración propia.

De la Tabla C.1 se puede ver que en general las métricas del error presentan buenos valores, siendo el predictor con mejores características el caso 2.

Tabla C.1: Valores obtenidos para las métricas del error (MSE, RMSE, MAPE y R^2) para el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , al considerar un kernel scale de 2.2 y datos cada 4 horas.

Caso	MSE	RMSE	MAPE	R^2
1	0.000005	0.002245	8.022575	0.987008
2	0.000004	0.002062	7.565539	0.990859
3	0.000006	0.002345	7.240287	0.991303

Con el fin de obtener una mejor predicción para los casos presentados, se implementó la optimización de hiperparámetros utilizando una función propia de matlab, con la cual se

obtuvieron los resultados presentados en la Figura C.2.

En estos casos es posible notar que el caso 1 no obtiene una correcta predicción de μ , manteniendo su valor constante en el tiempo. En el caso 2 y 3 la predicción presenta un menor error visual, pudiendo notar que en ambos casos se alcanzan valores de predicción negativos. Cabe destacar que, de los gráficos se puede notar que la subestimación inicial del caso 2 no es tan notoria como se vio en gráficos anteriores.

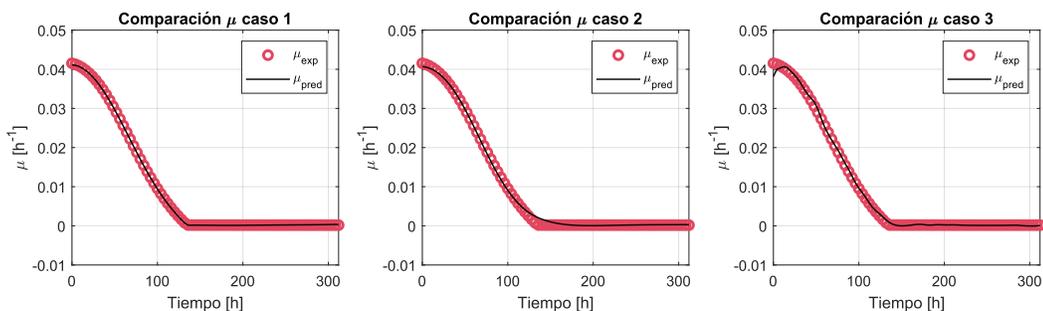


Figura C.2: Comparación de los predictores de μ según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando datos cada 4 horas y la optimización de hiper parámetros. Elaboración propia.

De las métricas del error se puede ver que en general los resultados son buenos, a excepción del caso 1. Al comparar las métricas del caso 2 y 3 se puede ver que el caso 2 presenta un mejor desempeño que el caso 3.

Tabla C.2: para el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , al considerar la optimización de hiper parámetros y datos cada 4 horas.

Caso	MSE	RMSE	MAPE	R^2
1	0.000000	0.000101	0.204462	0.999972
2	0.000000	0.000493	0.742355	0.999032
3	0.000000	0.000512	0.338012	0.998725

C.2. Cada 24 horas:

En la Figura C.3 se puede notar que la tendencia de sub estimación inicial y sobre estimación final se mantiene al considerar una menor cantidad de datos.

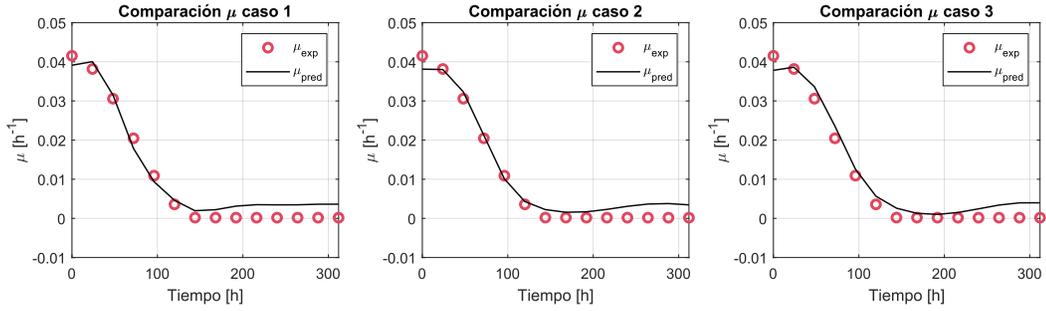


Figura C.3: Comparación de los predictores de μ según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando datos cada 24 horas y un kernel scale de 2.2. Elaboración propia.

De las métricas del error se puede ver que en general los resultados son buenos, siendo mejores para el caso 2.

Tabla C.3: Valores obtenidos para las métricas del error (MSE, RMSE, MAPE y R^2) para el caso 1, 2 y 3 al considerar un kernel scale de 2.2 y datos cada 24 horas.

Caso	MSE	RMSE	MAPE	R^2
1	0.000007	0.002569	9.227865	0.986100
2	0.000005	0.002288	7.958266	0.991619
3	0.000007	0.002586	7.397894	0.988091

Con el fin de obtener una mejor predicción para los casos presentados, se implementó la optimización de hiperparámetros utilizando una función propia de Matlab, con la cual se obtuvieron los resultados presentados en la Figura C.4.

De estos casos es posible notar que el caso 1 no logra predecir de forma correcta μ , entregando un valor constante en todo instante de tiempo. Por otro lado, el caso 2 y 3 presentan un comportamiento similar al experimental. De estos se destaca que el caso 2 no presenta valores negativos para la predicción.

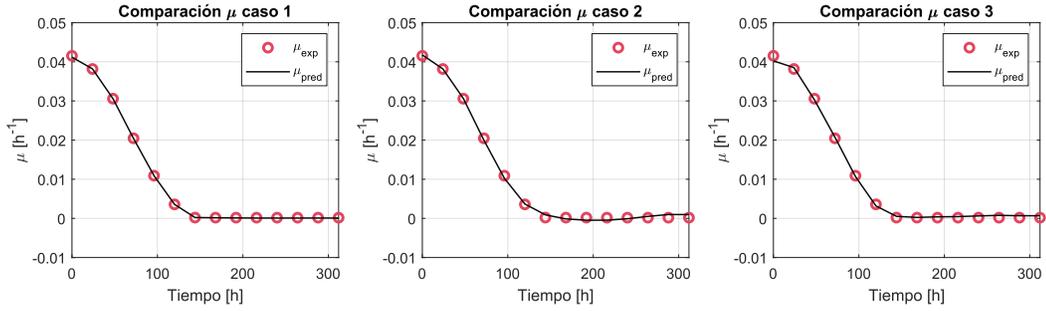


Figura C.4: Comparación de los predictores de μ según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando datos cada 24 horas y la optimización de hiper parámetros. Elaboración propia.

De las métricas de error es posible notar que se obtuvieron buenos resultados, a excepción del caso 1. Siendo el caso 2 el que presenta un mejor resultado.

Tabla C.4: Valores obtenidos para las métricas del error (MSE, RMSE, MAPE y R^2) para el para el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A y el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , al considerar la optimización de hiper parámetros y datos cada 24 horas.

Caso	MSE	RMSE	MAPE	R^2
1	0.000000	0.000114	0.246847	0.999964
2	0.000005	0.002288	1.771076	0.991619
3	0.000000	0.000494	1.139377	0.999291

C.3. Elaboración sistema de control basado en *Soft Sensor*

Los predictores anteriormente presentados fueron implementados en el lazo de control proporcional para obtener la estrategia de alimentación. En las Figuras C.5-C.13 y C.17-C.25 se muestran los resultados asociados a la utilización de datos cada 4 y 24 horas respectivamente.

C.3.1. Cada 4 horas

Al implementar el predictor con las especificaciones presentadas en [72] para el caso 1, 2 y 3 se obtuvieron los resultados presentados a continuación. En general, es posible notar comportamientos similares a los descritos para el caso cada 12 horas.

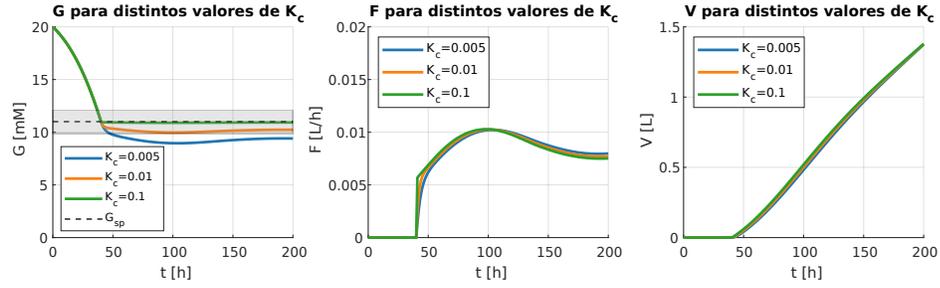


Figura C.5: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel scale de 2.2 y datos cada 4 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V . Las condiciones iniciales para el sistema son: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

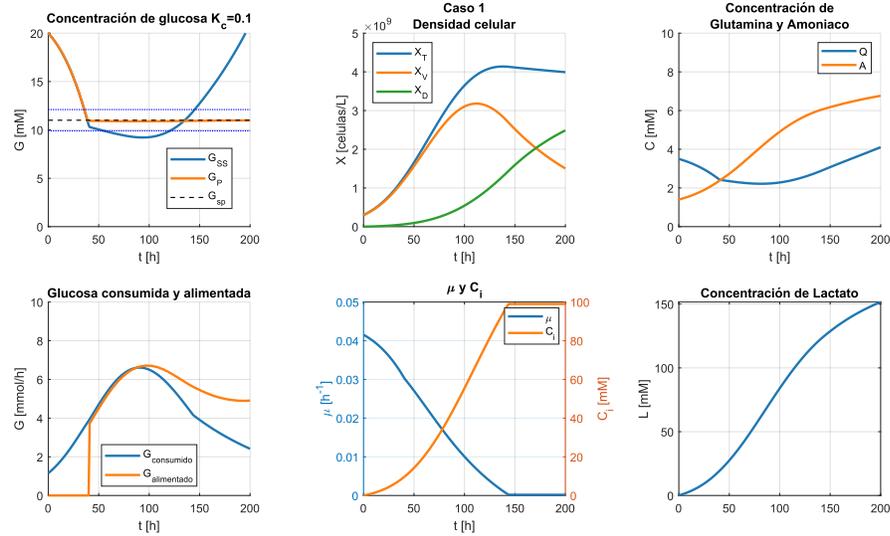


Figura C.6: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 4 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando un kernel scale 2.2. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

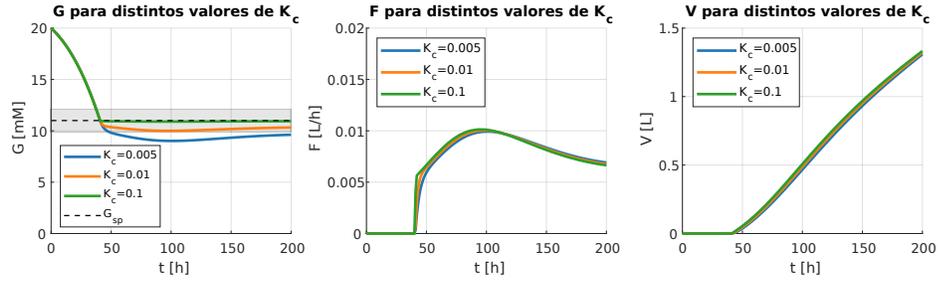


Figura C.7: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel scale de 2.2 y datos cada 4 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A . Las condiciones iniciales para el sistema son: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

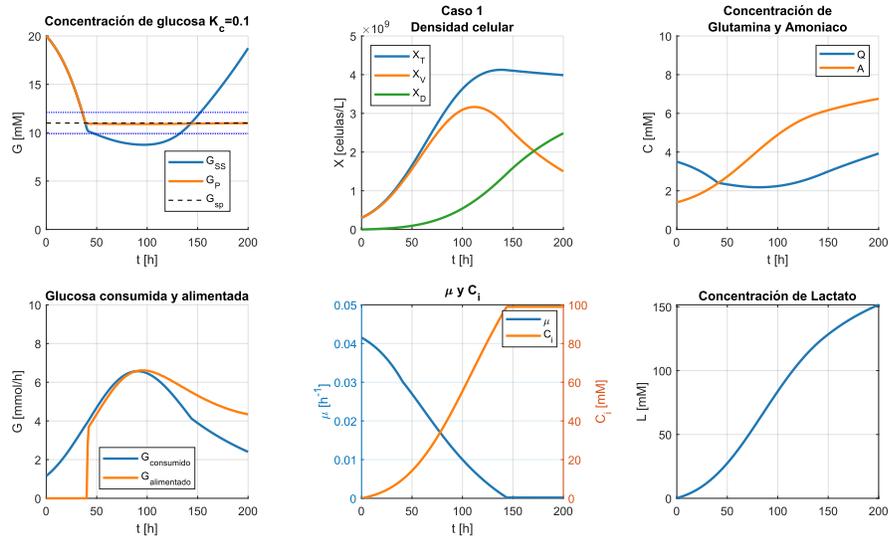


Figura C.8: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 4 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando un kernel scale 2.2. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

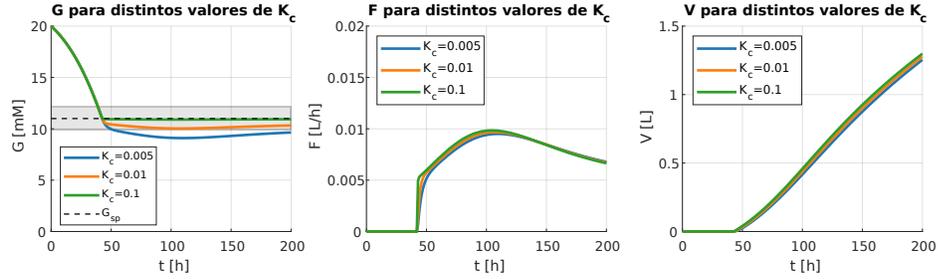


Figura C.9: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel scale de 2.2 y datos cada 4 horas según el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L . Las condiciones iniciales para el sistema son: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

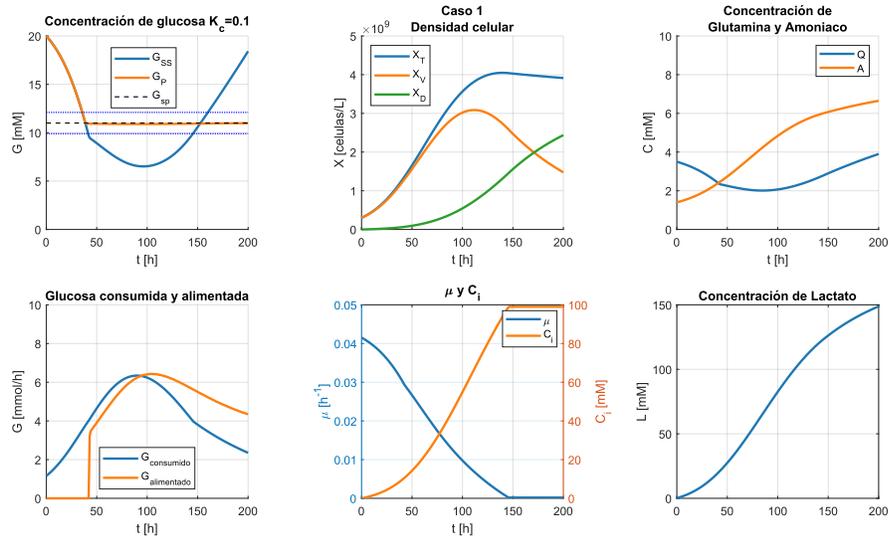


Figura C.10: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 4 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando un kernel scale 2.2. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

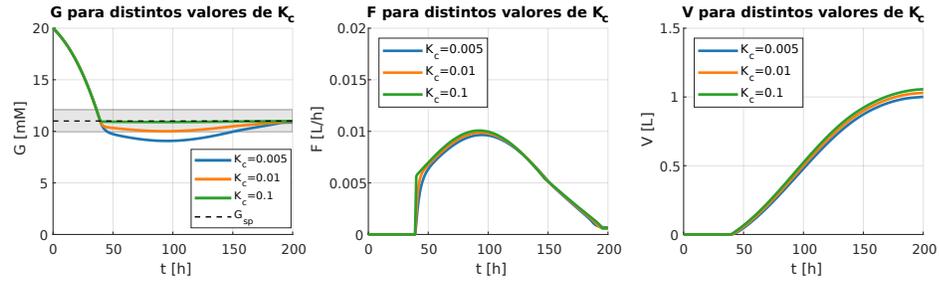


Figura C.11: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 4 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

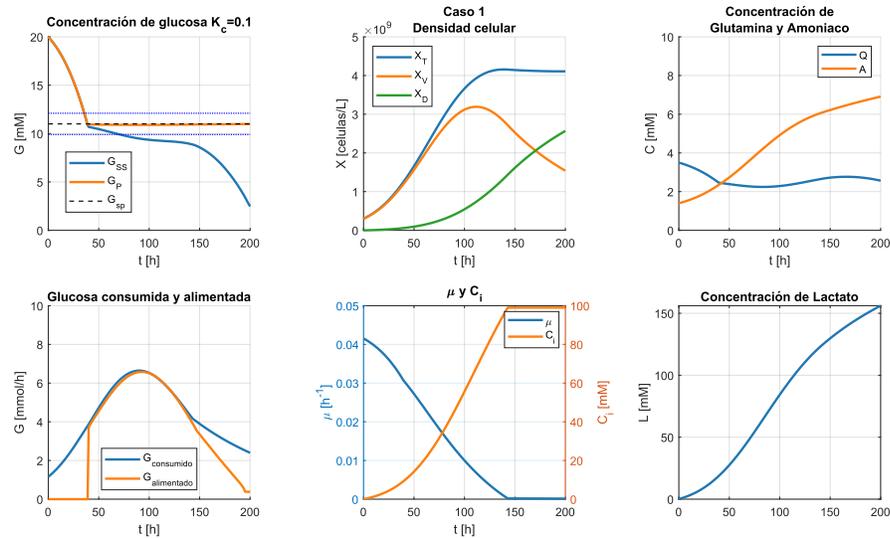


Figura C.12: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 4 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando la optimización de hiper parámetros. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

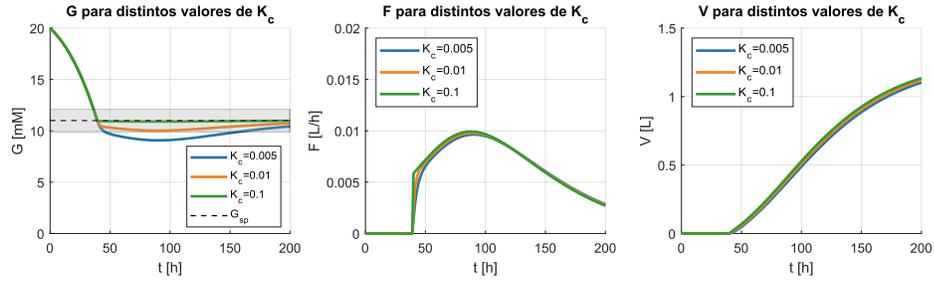


Figura C.13: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 4 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

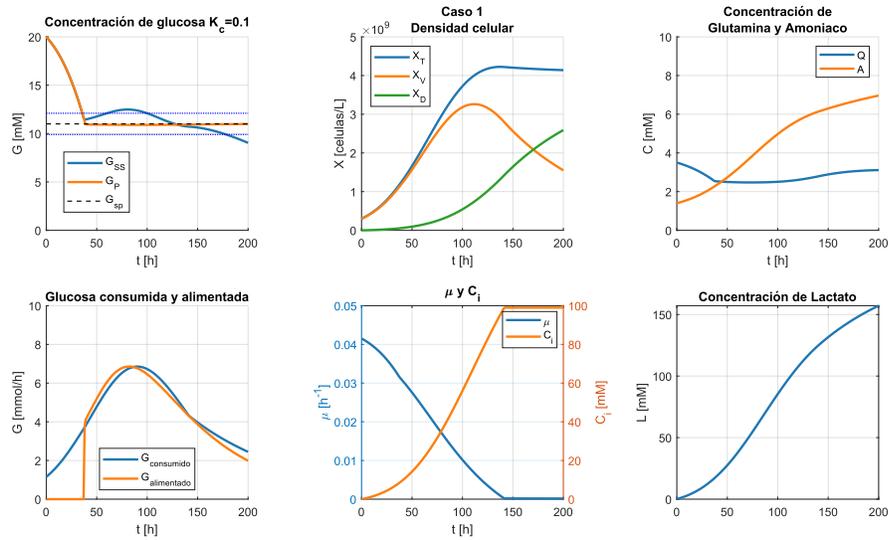


Figura C.14: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 4 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando la optimización de hiper parámetros. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

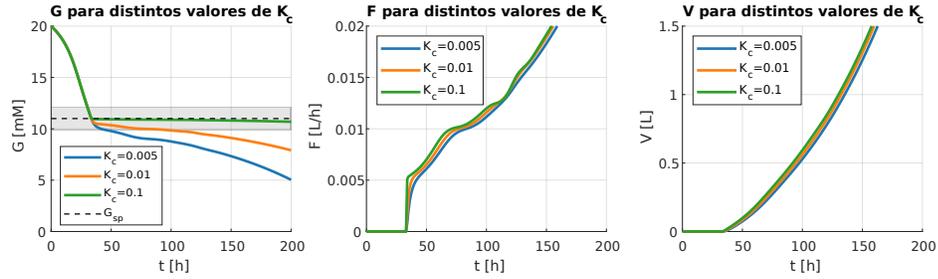


Figura C.15: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 4 horas según el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

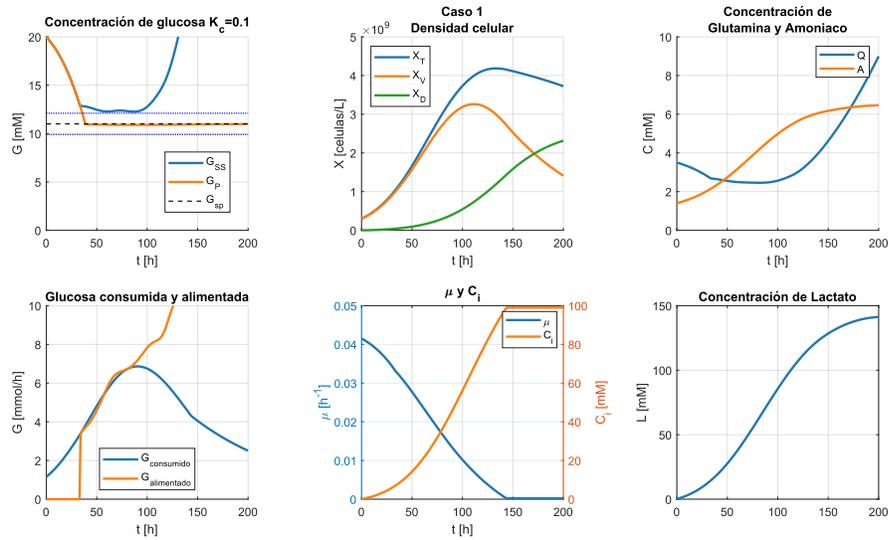


Figura C.16: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 4 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando la optimización de hiper parámetros. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

C.3.2. Cada 24 horas

Al implementar el predictor con las especificaciones presentadas en el trabajo de Yeh [72] para el caso 1, 2 y 3 se obtuvieron los resultados presentados a continuación. En general, es posible notar comportamientos similares a los descritos para el caso cada 12 horas.

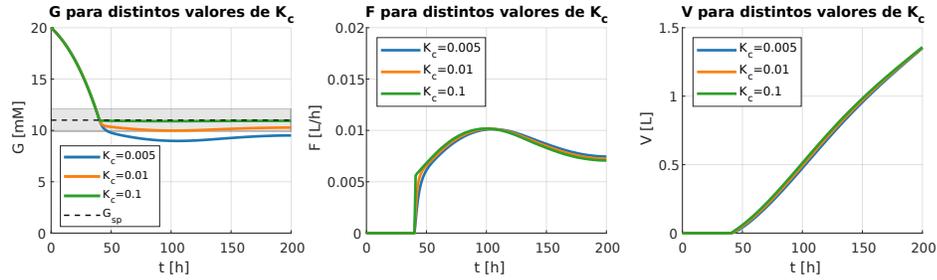


Figura C.17: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\%$ G_{sp} . Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel scale de 2.2 y datos cada 24 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V . Las condiciones iniciales para el sistema son: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

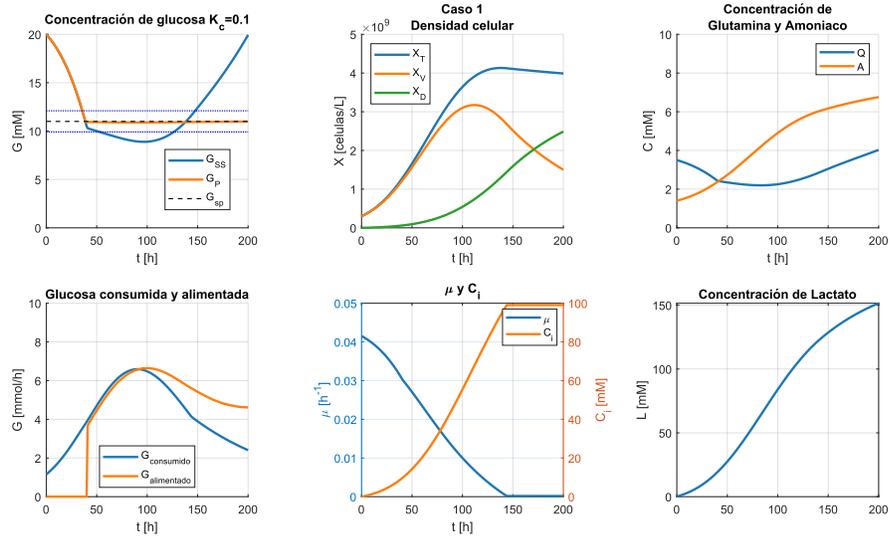


Figura C.18: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 24 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando la optimización de hiper parámetros. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

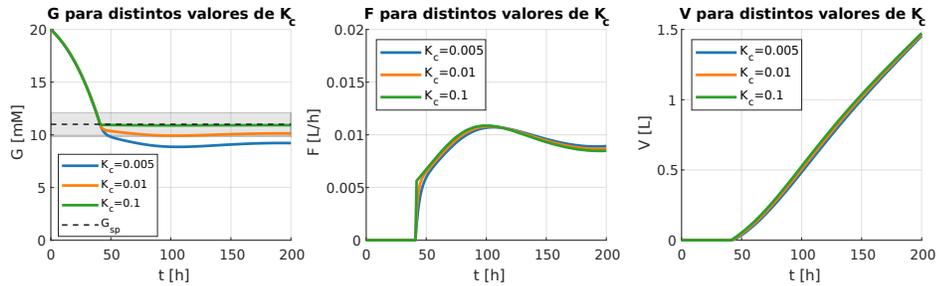


Figura C.19: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel scale de 2.2 y datos cada 24 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A . Las condiciones iniciales para el sistema son: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

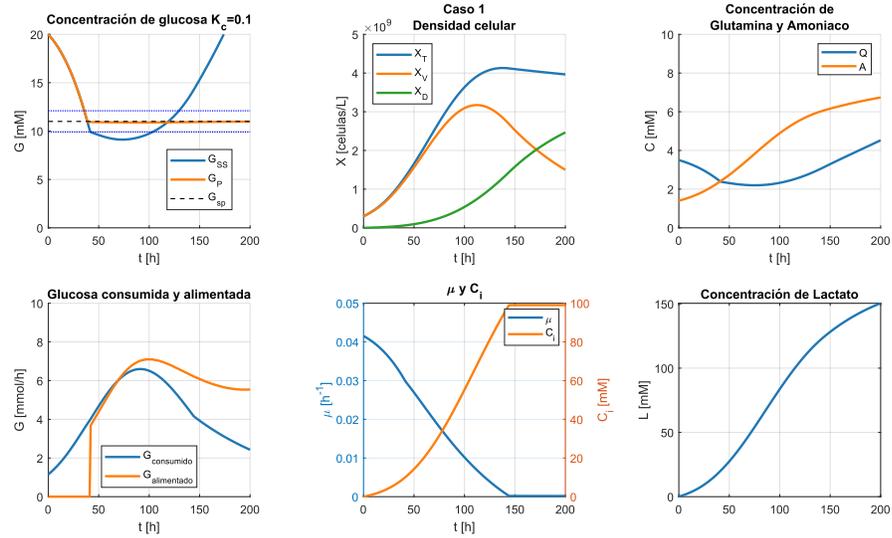


Figura C.20: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 24 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A , un kernel scale de 2.2. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

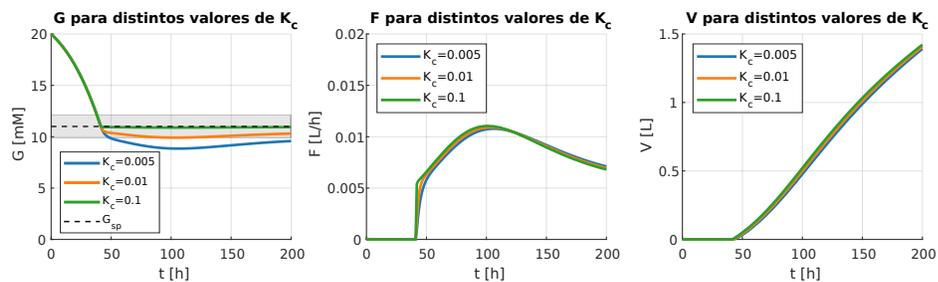


Figura C.21: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con un kernel scale de 2.2 y datos cada 24 horas según el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y Q . Las condiciones iniciales para el sistema son: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

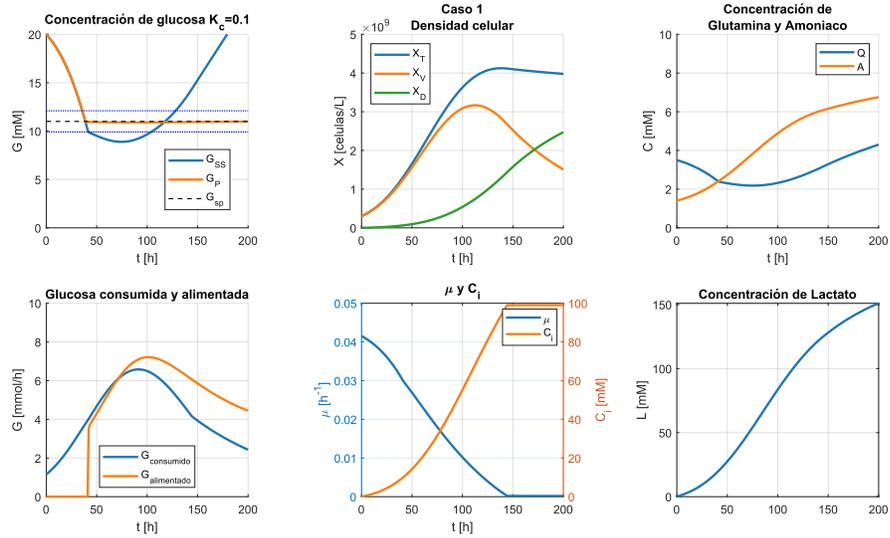


Figura C.22: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 24 horas según el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando un kernel scale de 2.2. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

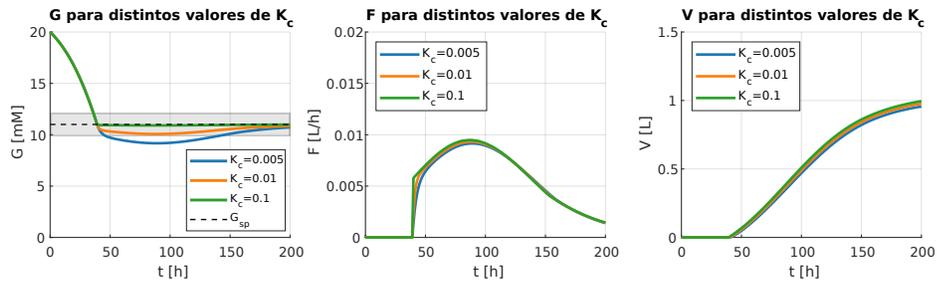


Figura C.23: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 24 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

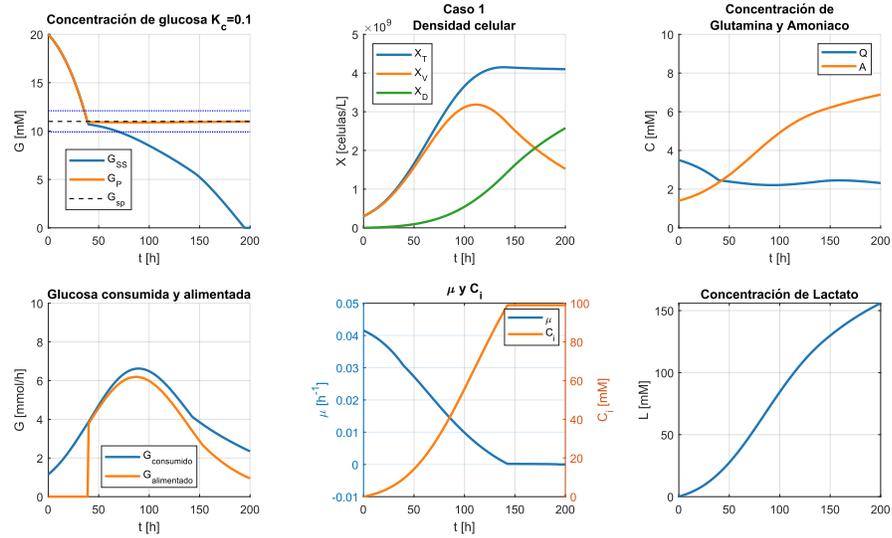


Figura C.24: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 24 horas según el caso 1, correspondiente a una entrada que contempla X_V , X_D , G , Q , L , A , C_i y V , considerando la optimización de hiper parámetros. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

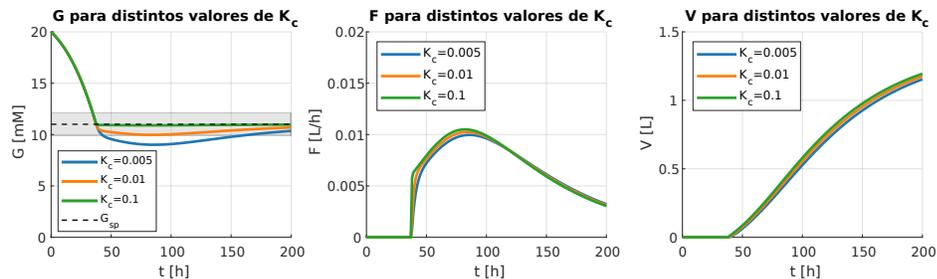


Figura C.25: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 24 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

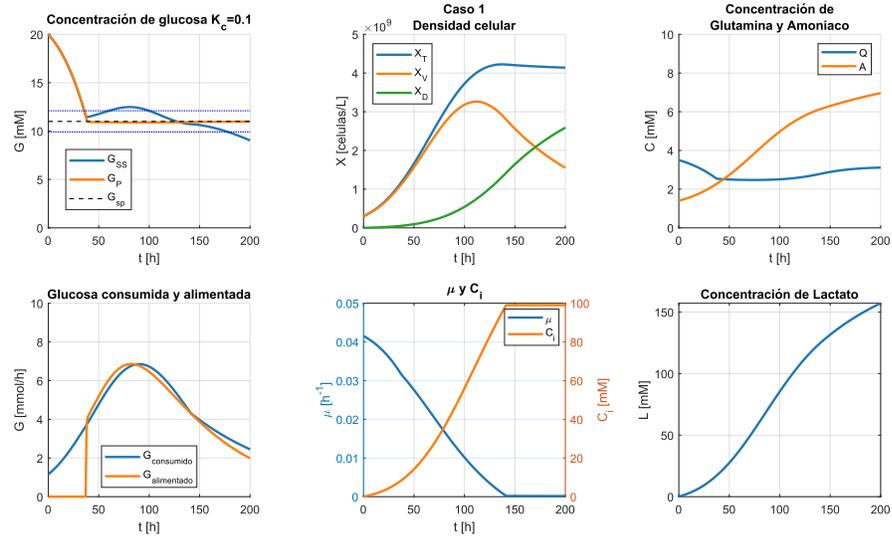


Figura C.26: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 24 horas según el caso 2, correspondiente a una entrada que contempla G , Q , L y A , considerando la optimización de hiper parámetro. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

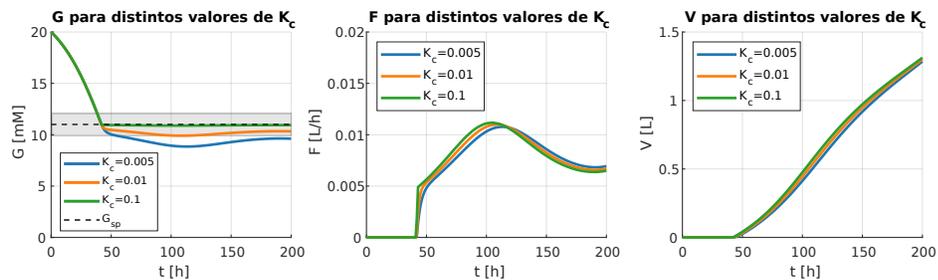


Figura C.27: Comportamiento de la concentración de glucosa, alimentación y volumen acumulado por alimentación al implementar un sistema de control proporcional con el predictor de μ . Las constantes de proporcionalidad (K_c) consideradas son de 0.005, 0.01 y 0.1 y el set point (G_{sp}) fue establecido en 11 mM, la zona gris representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. Además, se utiliza el predictor de μ con optimización de hiper parámetros y datos cada 24 horas según el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L . A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.

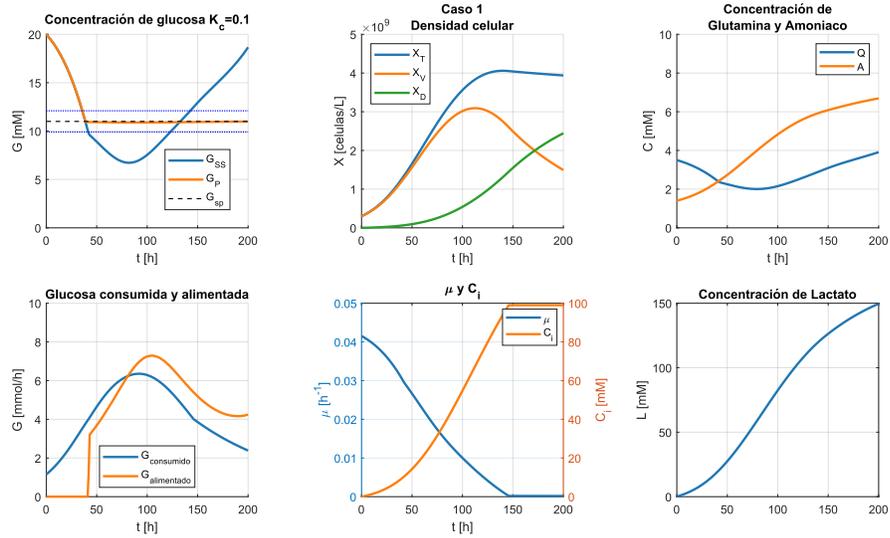


Figura C.28: Implementación de la estrategia de alimentación entregada por el soft sensor, con datos cada 24 horas según el caso 3, correspondiente a una entrada que contempla G y L , considerando la optimización de hiper parámetros. En el gráfico asociado a la concentración de glucosa G_{SS} corresponde a la concentración de glucosa con la alimentación propuesta por el soft sensor implementada, G_P el comportamiento de la concentración de glucosa en un sistema de control proporcional de constante $K_c = 0.1$ y G_{sp} corresponde al set point de glucosa establecido en 11 mM, la zona entre líneas azules punteadas representa un rango de $\pm 10\% G_{sp}$. A continuación, se indican las condiciones iniciales consideradas: $X_T = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_V = 0.3 \times 10^9$ células/L, $X_D = 0$ células/L, $G = 20$ mM, $Q = 3.5$ mM, $L = 0.1$ mM, $A = 1.4$ mM y $C_i = 0$ mM. Elaboración propia.