

SLOVENSKÁ TECHNICKÁ UNIVERZITA V BRATISLAVE
FAKULTA CHEMICKEJ A POTRAVINÁRSKEJ TECHNOLOGIE

Ústav informatizácie, automatizácie a matematiky

Modelovanie, dynamika a odhad parametrov biochemických reaktorov

Semestrálna práca

Matej Kintler

Vedúci práce: doc. Ing. Radoslav Paulen, PhD.

Bratislava
13. január 2020

Obsah

1	Úvod	1
2	Biochemický reaktor	2
2.1	Základné informácie	2
2.2	Typy biochemických reaktorov	2
2.3	Parametre opisujúce biochemický reaktor a ich význam	2
2.4	Matematické modely prietokového biochemického reaktora	3
3	Analýza matematických modelov	5
3.1	Dynamika	5
3.2	Stabilita	6
4	Odhad parametrov	10
4.1	Optimalizačné metódy	10
4.2	Prístupy k odhadu	10
5	Výsledky	12
6	Záver	14

1 Úvod

Biochemické reaktory sa považujú za dôležitú súčasť chemického priemyslu. Široká škála dôležitých zlúčenín ako farmaceutické produkty, rôzne polyméry alebo produkty potravinárskeho priemyslu sa vyrábajú pomocou určitého fermentačného média (rôzne baktérie, kvasinky, vláknité huby alebo enzýmy) za prísne stanovených podmienok v biochemickom reaktore [4]. Aby sme dokázali zabezpečiť optimálny chod biochemického reaktora z hľadiska ekonomiky, bezpečnosti alebo environmentálneho zaťaženia, potrebujeme disponovať správnym matematickým modelom, ktorý by adekvátne opisoval správanie daného procesu. Aj keď existuje množstvo matematických modelov, ktoré môžu správne popisovať fungovanie biochemického reaktora, správne identifikovať ich parametre, je často omnoho zložitejšia problematika a je esenciálna pre zabezpečenie optimálnych podmienok.

V tejto práci sme sa venovali najmä problematike odhadu parametrov modelov biochemického reaktora a problematike s tým súvisiacou ako napríklad prístupy k odhadu parametrov alebo optimalizačné metódy. Vysvetlili sme si základne vlastnosti biochemického reaktora, na základe ktorých sme odvodili matematický model, ktorý sme podrobili analýze stability a dynamiky.

2 Biochemický reaktor

2.1 Základné informácie

Biochemický reaktor sa dá vo všeobecnosti definovať ako nádoba, ktorá využíva aktivitu biologického katalyzátora na dosiahnutie požadovanej chemickej premeny [3]. Biochemický reaktor všeobecne poskytuje biomechanické a biochemické prostredie, ktoré riadi prenos živín a kyslíka do buniek a produkty metabolizmu z buniek. Dal by sa tiež označiť ako zariadenie, určené na optimálny rast a metabolickú aktivitu organizmu, pôsobením biokatalyzátora, enzýmu alebo mikroorganizmov a buniek zvierat alebo rastlín. Surovinou môže byť organická alebo anorganická chemická zlúčenina alebo dokonca komplexný materiál. Produkt konverzie môže zahŕňať pekárské kvasinky, proteín, štartovacie kultúry alebo primárne metabolity (napr. aminokyseliny, organické kyseliny, vitamíny, polysacharidy, etanol atď.) a sekundárne metabolity (napr. antibiotiká). Biochemické reaktory sa môžu použiť na biokonverziu alebo biotransformáciu produktov (steroidná biotransformácia, L-sorbitol), enzýmov (amyláza, lipáza, celulóza), rekombinantných produktov (niektoré vakcíny, hormóny, ako je inzulín a rastové hormóny). Biochemický reaktor musí byť navrhnutý tak, aby vyhovoval konkrétnemu procesu [3].

2.2 Typy biochemických reaktorov

Na základe spôsobu prevádzky môže byť biochemický reaktor klasifikovaný ako vsádzkový, kontinuálny a polovsádzkový. Pri vsádzkovom spôsobe sa sterilné kultivačné médium naočkuje mikroorganizmami. Počas tohto reakčného obdobia sa s časom menia množstvá buniek, substrátu vrátane výživných solí, vitamínov a produktov. Fermentácia prebieha vopred stanovenú dobu a produkt sa zbiera na konci.

V polovsádzkovom režime sa do reaktora postupne pridávajú živiny, ako prebiehajú biochemické reakcie, aby sa získali lepšie výťažky a vyššia selektivita spolu s reguláciou reakčnej teploty. Produkty sa zbierajú na konci výrobného cyklu ako pri vsádzkovom biochemickom reaktore. Charakteristickou črtou kontinuálneho biochemického reaktora je proces neustáleho dodávania substrátu. Prúd kvapaliny alebo suspenzie sa kontinuálne privádza a odstraňuje z reaktora. Na dosiahnutie rovnomerného zloženia a teploty je potrebné mechanické alebo hydraulické miešanie. Kultivačné médium, ktoré je buď sterilné alebo obsahuje mikroorganizmy, sa nepretržite dodáva do biochemického reaktora, aby sa udržal stabilný stav. Reakčné premenné a kontrolné parametre zostávajú konzistentné a vytvárajú v reaktore časovo konštantný stav. Výsledkom je nepretržitá produktivita.

Tradičné vsádzkové miešacie tankové reaktory (STR) a kontinuálne miešané tankové reaktory (CSTR) existujú už po stáročia a sú stále široko prijímané v chemickom a biologickom priemysle kvôli ich jednoduchosti. Ostatné biochemické reaktory, ktoré majú špeciálne konštrukčné a prevádzkové vlastnosti sú foto-bioreaktory, rotačné bubnové reaktory, hmlový, membránový biochemický reaktor, reaktory s náplňou a fluidnou vrstvou atď. Tieto boli navrhnuté tak, aby vyhovovali špecifickým procesom [3].

2.3 Parametre opisujúce biochemický reaktor a ich význam

Hlavné premenné, ktoré opisujú mikrobiálne procesy v prírode sú uvedené v Tabuľke 1.

Množstvo mikroorganizmov môže byť vyjadrené ako biomasa x alebo počet buniek N pri jednobunkových organizmoch (baktérie, kvasinky, spóry) na jednotku pôdy, množstva vody, objemu alebo obsahu plochy. Vlákňité organizmy (huby, aktinomycéty) sú charakterizované dĺžkou mycélia L a počtom hýf n . Treba zdôrazniť, že n nie je totožné s N , pretože vetvenie hýf skôr pripomína delenie buniek pri jednobunkových organizmoch. Vzťah medzi x , N a L nie je jednoznačný pretože hmota jednotlivých buniek a šírka hýf sa líši v závislosti od organizmu a podmienok rastu. Všeobecne možno povedať, že pri nadbytku výživných zlúčenín sa formujú veľké bunky resp. široké hýfy, zatiaľ čo pri hladovaní sa tvoria skôr menšie bunky alebo užšie hýfy. Výber biomasy x alebo počet buniek N alebo dĺžku mycélia L závisí na danom prípade. Biomasa x má očividnú výhodu pri skúmaní cyklu uhlíka a živín, zatiaľ čo počet buniek N sa preferuje pri skúmaní populácie napr. výskyt mutácií alebo prenos plazmidov [2].

Tabuľka 1: Prehľad hlavných dynamických parametrov opisujúcich biochemický reaktor [2].

Parameter	Symbol	Rozmer
Hustota/koncentrácia biomasy	x	μg bunkovej hmoty na g pôdy; g bunkovej hmoty $1/\text{m}^2$; μg bunkovej hmoty na mL vody
Počet buniek	N	10^6 buniek na g pôdy; 10^6 buniek na mL vody
Dĺžka mycélia	L	m na g pôdy; m na mL vody
Počet hýf	n	10^6 na g pôdy; 10^6 na mL vody
Koncentrácia limitujúceho substrátu	s	mg na g pôdy; g/m^2 ; g/L vody
Koncentrácia produktu	p	mg na g pôdy; g/m^2 ; g/L vody

Koncentrácia limitujúceho substrátu vo vode alebo v pôde, (s), predstavuje množstvo esenciálnej živiny využívané mikroorganizmami na rast a rozmnožovanie. Bežne nevieme posúdiť všetky potenciálne dostupné živiny a zamerať sa iba na jednu alebo zopár individuálnych zlúčenín alebo triedu molekúl, ktorá reprezentuje limitujúcu zlúčeninu, pretože chemoorganotrofné mikroorganizmy čerpajú energiu z organických zlúčenín, zatiaľ čo fotosyntetizujúce mikroorganizmy vyžadujú prísun svetla a zdroj fosforu, dusíka a železa [2].

Množstvo produktov (p). Sem patria všetky medziprodukty a konečné produkty metabolizmu mikroorganizmov, ktoré vznikajú počas rastu. Typickými medziproduktmi sú organické kyseliny vznikajúce počas glykolýzy. Jediný konečný produkt aeróbnej mikrobiálnej dekompozície je oxid uhličitý, avšak pri anaeróbných podmienkach vznikajú rôzne organické kyseliny, alkoholy, ketóny atď. [2].

2.4 Matematické modely prietokového biochemického reaktora

Najjednoduchším matematickým modelom, ktorý opisuje prietokový biochemický reaktor je tzv. Monod model. Tento model je veľmi obľúbený kvôli svojej jednoduchosti. Zakladá sa na dvoch predpokladoch: 1) špecifická rýchlosť rastu buniek závisí od koncentrácie substrátu a 2) tvorba biomasy je spojená so spotrebou substrátu. Formulácia rovníc, ktoré popisujú materiálovú bilanciu biomasy je nasledovná:

$$\begin{array}{ccccc} \text{akumulácia} & & \text{množstvo} & & \text{množstvo} \\ \text{bunkovej} & = & \text{vzniknutých} & - & \text{odobraných} \\ \text{hmoty} & & \text{buniek} & & \text{buniek} \end{array}$$

a pre materiálovú bilanciu substrátu platí:

$$\begin{array}{ccccc} \text{akumulácia} & & \text{množstvo} & & \text{množstvo} \\ \text{substrátu} & = & \text{dodaného} & - & \text{odobraného} \\ \text{v systéme} & & \text{substrátu} & & \text{substrátu MO} \end{array}$$

Ak uvažujeme, že objem reaktora sa nemení a prítok substrátu sa rovná odtoku suspenzie, potom môžeme písať:

$$V \left(\frac{dx}{dt} \right) = V\mu(s)x - Fx, \quad (1)$$

$$V \left(\frac{ds}{dt} \right) = F s_{in} - F s - V \frac{1}{Y_x} \mu(s)x. \quad (2)$$

Tabuľka 2: Parametre Monod modelu, ich symbol a rozmer.

Parameter	Symbol	Rozmer
Špecifická rýchlosť rastu	$\mu(s)$	$1/h$
Maximálna špecifická rýchlosť rastu	μ_m	$1/h$
Michaelisova konštanta	K_M	g/L
Výťažok (biomasa)	Y_x	
Objem reaktora	V	L
Prietok substrátu/suspenzie	F	L/h
Koncentrácia biomasy	x	g/L
Koncentrácia substrátu	s	g/L
Koncentrácia čerstvého substrátu	s_{in}	g/L

Ak obe strany rovníc vydělíme objemom reaktora a označíme si pomer $\frac{F}{V} = D$, rýchlosť riedenia, môžeme rovnice (1) a (2) upraviť do nasledovného tvaru:

$$\frac{dx}{dt} = (\mu(s) - D)x, \text{ kde } \mu(s) = \mu_m \frac{s}{K_M + s}, \quad (3)$$

$$\frac{ds}{dt} = D(s_{in} - s) - \frac{1}{Y_x} \mu(s)x. \quad (4)$$

Rovnice (3) a (4) tvoria najjednoduchší opis biochemického reaktora – Monod model, a význam jednotlivých parametrov je uvedený v Tabuľke 2. Avšak, tento model má množstvo nedostatkov. Nedokáže vysvetliť jednotlivé fázy rastu, ktoré sú pozorované experimentálne a to: lag-fázu, smrť buniek na základe hladovania, tvorbu produktu atď. Tieto nedostatky boli doplnené u tzv. štrukturovaných modelov. Model, ktorý berie do úvahy aj tvorbu produktu, získame doplnením Monod modelu do nasledovného tvaru:

$$\frac{dx}{dt} = (\mu(s) - D)x, \quad (5)$$

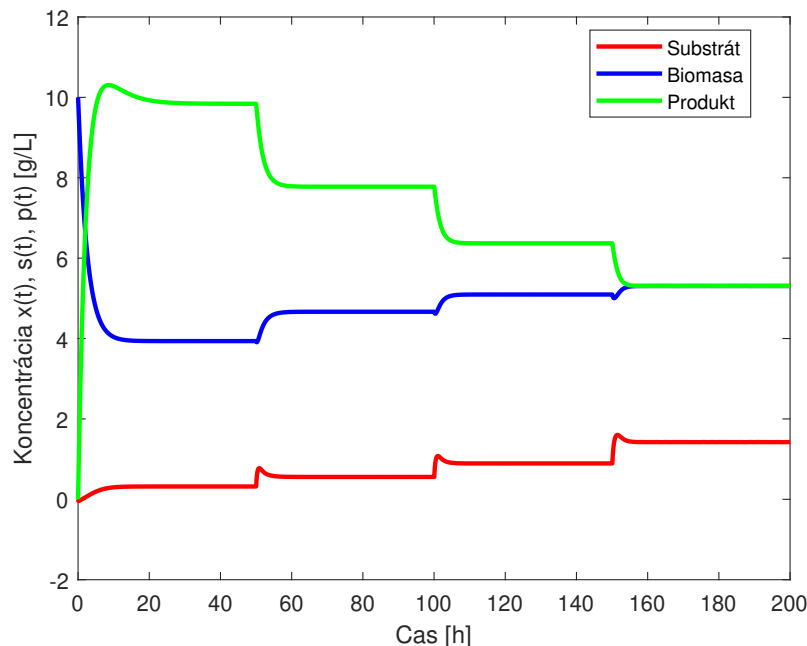
$$\frac{ds}{dt} = D(s_{in} - s) - \frac{1}{Y_x} \mu(s)x - \frac{1}{Y_p} \nu x, \quad (6)$$

$$\frac{dp}{dt} = \nu x - Dp, \quad (7)$$

kde p predstavuje koncentráciu produktu v g/L , Y_p je bezrozmerný koeficient výťažnosti produktu a ν predstavuje kinetický člen rýchlosti tvorby produktu v jednotkách času napr. $1/h$. Do rovnice (4) sme doplnili časť, ktorá vraví, že časť substrátu sa spotrebuje na tvorbu produktu a rovnica (7) predstavuje obyčajnú materiálovú bilanciu produktu.

Ak by sme chceli do modelu zakomponovať tendenciu úmrtia mikroorganizmov v dôsledku príliš vysokej koncentrácie substrátu (vplyv osmotického tlaku), treba upraviť špecifickú rýchlosť rastu $\mu(s)$ tak, že bude obsahovať inhibičný člen K_i , ktorého rozmer je g/L . Špecifická rýchlosť rastu potom nadobudne tvar:

$$\mu(s) = \mu_m \frac{s}{K_M + s + \frac{s^2}{K_i}}. \quad (8)$$



Obr. 1: Časový priebeh koncentrácie substrátu, biomasy a produktu pri viacnásobnej skokovej zmene rýchlosti riedenia D pri začiatočných podmienkach $p_0 = s_0 = 0$, $x_0 = 10$ g/L.

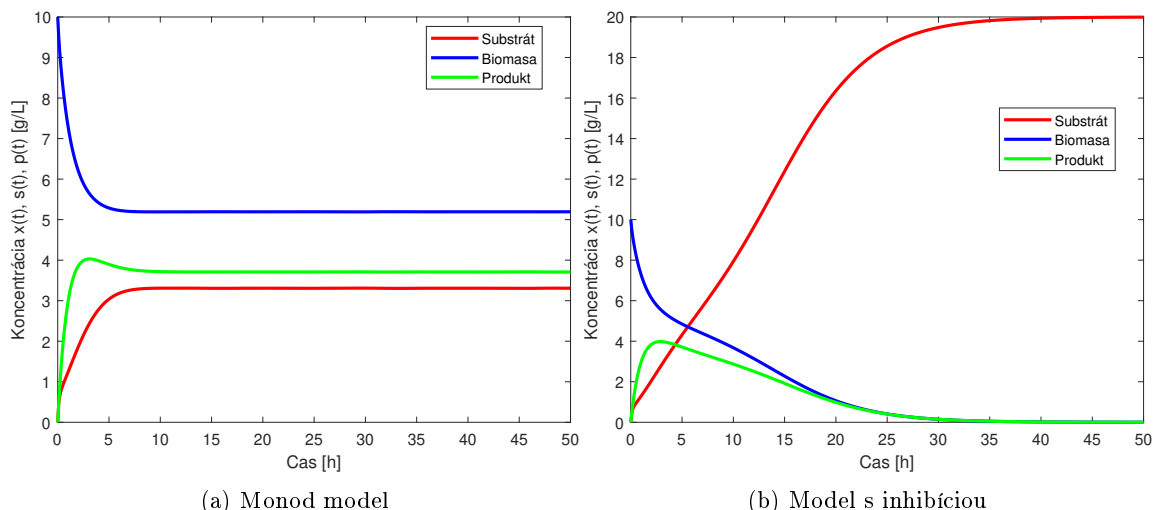
3 Analýza matematických modelov

V predchádzajúcej časti sme spomenuli viacero modelov, ktorými môžeme opísať biochemický reaktor. V tejto časti sa budeme venovať analýze dvoch modelov a to Monod modelu doplnenému o produktovú časť a modelu, taktiež s produktovou časťou, ale s vplyvom inhibície.

3.1 Dynamika

Matematický model, ktorý opisuje biochemický reaktor je nelineárny model. To znamená, že odozva systému je rôzna pre rovnakú veľkosť skokovej zmeny pri rôznych začiatočných podmienkach. Túto nelinearitu si možno všimnúť na Obr. 1. Ten opisuje časový priebeh koncentrácie Monod modelu pri viacerých skokových zmenách v rýchlosti riedenia $D = (0.2, 0.3, 0.4 \text{ a } 0.5^{1/h})$ so začiatočnými podmienkami $p_0 = s_0 = 0$ g/L, $x_0 = 10$ g/L. Parametre modelu boli nastavené ako to je uvedené v Tabuľke 3. Ďalej si môžeme všimnúť prudký nárast koncentrácie produktu na počiatku, ktorý bol spôsobený nadbytkom biomasy v systéme. Po ustálení dynamika produktu pripomína systém 1. rádu. Na druhej strane v dynamike tvorby biomasy sa prejavuje nestabilná nula (menšie podkmity), ktoré sú spôsobené v dôsledku zvýšenia prítoku látky cez reaktor. Keďže pritečie viac substrátu, čím sa zvýši jeho koncentrácia, koncentrácia biomasy naopak klesne, keďže odtečie viac suspenzie. Následne zvýšená koncentrácia substrátu podporí rast biomasy a tým sa aj koncentrácia biomasy začne zvyšovať. V dynamike substrátu sa zasa prejavuje stabilná nula, ktorá opäť súvisí s väčším prítokom čerstvého média a pomalšou spotrebou substrátu na tvorbu biomasy a produktu.

Režim fungovania biochemického reaktora má významný vplyv na dynamiku celého systému a pri určitých podmienkach Monod model a model s inhibíciou môžu vykazovať rovnaké správanie, presne ako je tomu na Obr. 1. Avšak, pri nesprávne zvolených pracovných podmienkach, či už počiatočných podmienkach systému, koncentrácie čerstvého substrátu alebo rýchlosti riedenia, model s inhibíciou bude vykazovať diametrálne odlišné správanie od Monod modelu, ako to je zobrazené na Obr. 2. Na nich môžeme vidieť časové priebehy koncentrácie substrátu, biomasy a produktu pri rýchlosti riedenia $D = 0.4^{1/h}$ Monod modelu (Obr. 2a) a modelu s inhibíciou (Obr. 2b). Nastavenie parametrov modelov bolo ako je uvedené v Tabuľke 3 a začiatočné podmienky boli $p_0 = s_0 = 0$ g/L, $x_0 = 10$ g/L. Ako môžeme vidieť, zatiaľ čo Monod model sa dostal do nenulového ustáleného stavu, model s inhibíciou klesol s koncentráciou biomasy a produktu na nulu, zatiaľ čo koncentrácia substrátu stúpala na hodnotu 20 g/L. Tento stav, kedy reaktorom preteká čistý substrát sa nazýva stav



Obr. 2: Porovnanie dynamiky modelov pri rovnakých pracovných podmienkach.

„vymytia“ alebo „výplach“ a prevádzka reaktora je nenávratne narušená.

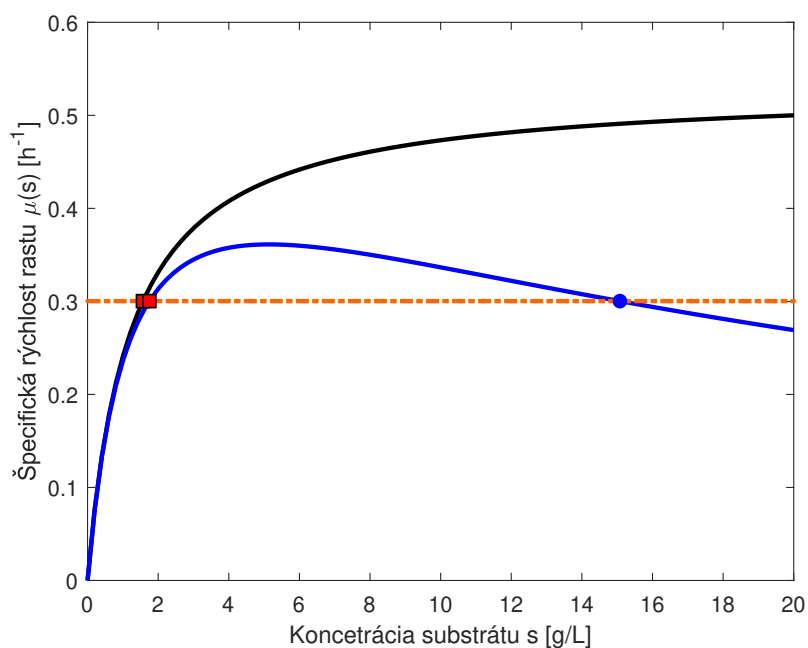
3.2 Stabilita

Výhodou prietokových bioreaktorov je, že pri dodržaní správnych podmienok, dokážeme systém uviesť do časovo konštantného stavu, ktorý nepretržite pracuje. Avšak nájdenie správnych parametrov, nemusí byť také triviálne, ako by sa na prvý pohľad mohlo zdať. Z rovnice (5) vyplýva, že na dosiahnutie ustáleného stavu, je nutné, aby sa buď špecifická rýchlosť rastu rovnala rýchlosti riedenia (takto získame netriviálne riešenie), alebo koncentrácia biomasy je v ľubovľnom čase rovná nule (takto získame triviálne riešenie – stav vymytia). Ustálené stavy modelov môžeme vidieť na Obr. 3, ktorý zobrazuje priebeh špecifickej rýchlosti rastu od koncentrácie substrátu pri konštantnej rýchlosti riedenia. Je dobré si všimnúť, že zatiaľ čo Monod model má iba jeden nenulový ustálený stav, model s inhibíciou už obsahuje dva.

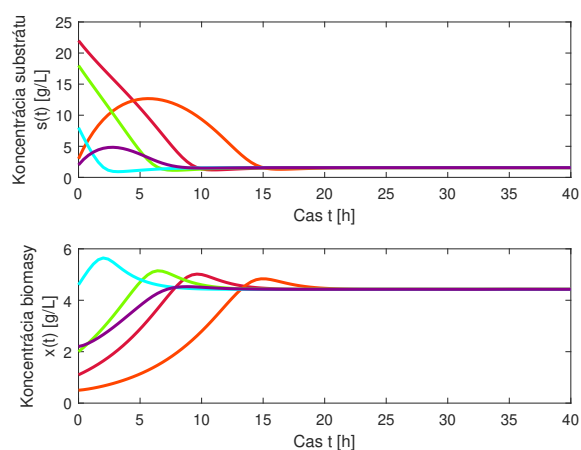
Na fázovom diagrame Monod modelu (Obr. 4 napravo), môžeme vidieť oba ustálené stavy. Ak zvolíme začiatočné podmienky rôzne od nuly (najmä pri koncentrácii biomasy – vedú k triviálnemu riešeniu a systémom bude pretekať čerstvý substrát) pri konštantnej rýchlosti riedenia menšej alebo rovnakej ako špecifická rýchlosť rastu, sa vždy dostaneme do toho istého ustáleného stavu.

Model s inhibíciou vykazuje odlišné správanie. Na fázovom diagrame (Obr. 5 napravo) môžeme sledovať už dva nenulové stavy a jeden nulový. Výsledkom triviálneho riešenia je "výplach", ktorý vedie k nulovej koncentrácii biomasy. Ako si môžeme všimnúť, vždy keď je rýchlosť rastu biomasy pomalšia ako je odtok suspenzie zo systému, dostaneme sa do výplachu. Ostali dva netriviálne stavy, z ktorých jeden je nestabilný a druhý je stabilný. V okolí nestabilného stavu môžu nastať dva prípady a to v závislosti od počiatočných podmienok. Ak sa na Obr. 3 nachádzame v okolí nestabilného stavu od neho naľavo, to znamená, že rýchlosť rastu biomasy je väčšia ako odtok suspenzie, dostaneme sa do nenulového ustáleného stavu. Ak sa nachádzame viac napravo, dostaneme sa do výplachu. V skutočnosti by sme to mohli interpretovať aj nasledovne. Ak sa nachádzame v okolí nestabilného stavu naľavo, to znamená, že v dôsledku inhibície nám odumierajú niektoré slabšie mikroorganizmy, ale stále je v systéme dostatok takých, ktoré dokážu znížiť množstvo substrátu v prospech nárastu biomasy a produktu. Tým pádom nám klesne koncentrácia substrátu (pokles koncentrácie substrátu bude sprevádzaný aj poklesom koncentrácie biomasy) a dostaneme sa do stabilného ustáleného stavu. Ak sa však nachádzame napravo od nestabilného stavu, letalita v dôsledku vysokého osmotického tlaku je omnoho väčšia ako vitalita mikroorganizmov a postupne inklinujeme k stavu vymytia.

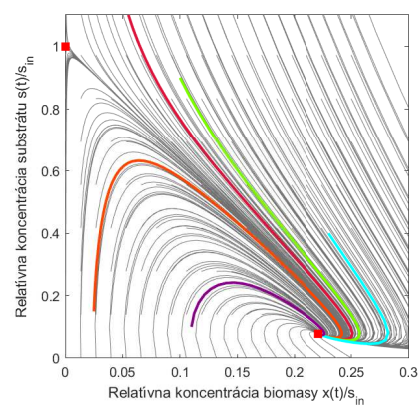
Ďalší parameter, ktorý dokáže ovplyvniť stabilitu systému, je koncentrácia čerstvého substrátu. Z Obr. 6 je zjavné, že ak koncentrácia čerstvého roztoku je nižšia ako nejaká minimálna hodnota, náš systém pôjde do výplachu. Koncentrácia čerstvého substrátu ovplyvňuje špecifickú rýchlosť rastu (viď Obr. 3). Tým pádom ak sa nachádzame v oblasti pod stabilným ustáleným stavom



Obr. 3: Porovnanie priebehu špecifickej rýchlosti rastu Monod modelu (čierna) a modelu s inhibíciou (modrá). Oranžovou bodkočiarkovanou čiarou je znázornená zvolená rýchlosť riedenia $D = 0.31/\text{h}$. Červeným štvorčekom sú označené nenulové stabilné ustálené stavy, modrou krúžkom je označený nestabilný stav.

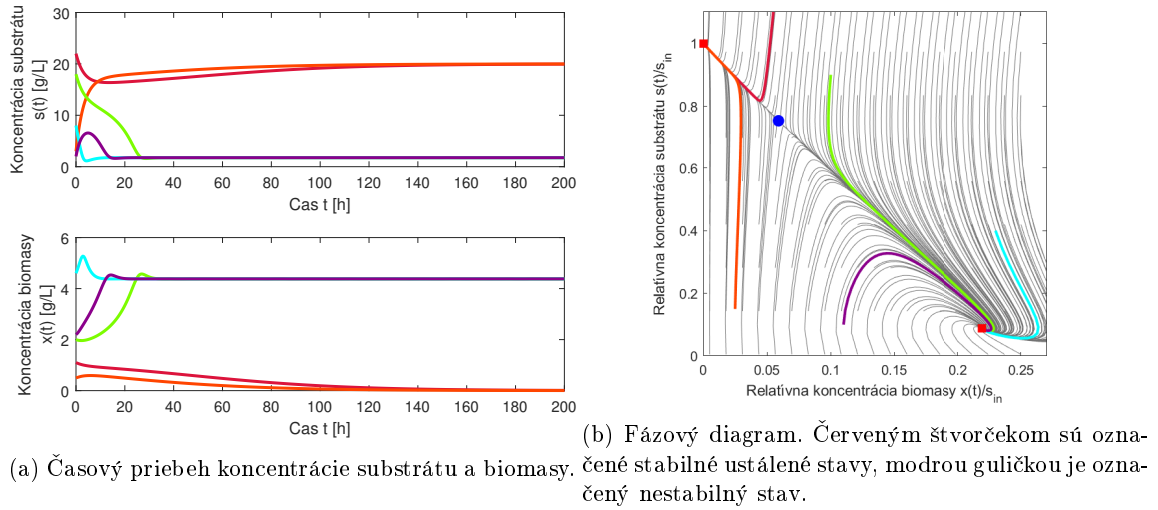


(a) Časový priebeh koncentrácie substrátu a biomasy.



(b) Fázový diagram.

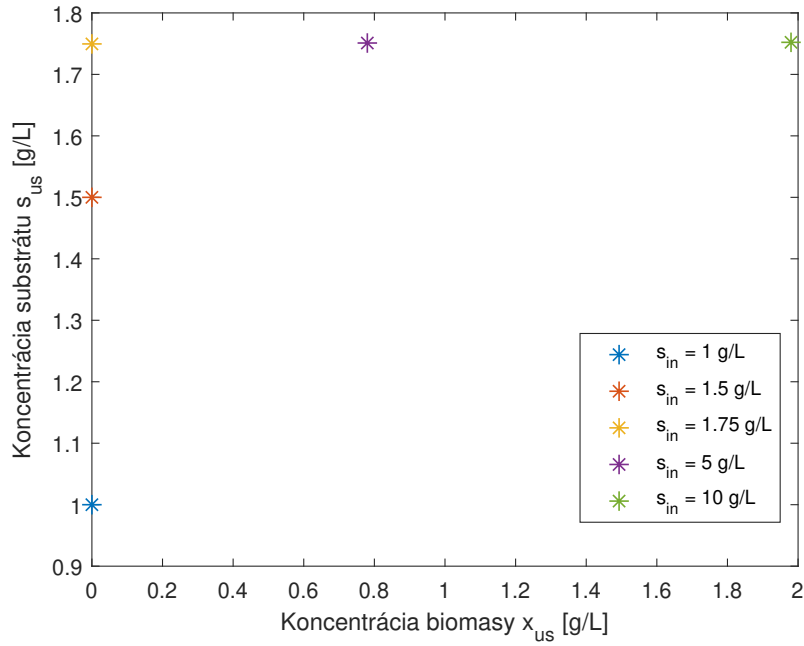
Obr. 4: Stabilita a ustálený stav Monod modelu pri nastavení parametrov uvedených v Tabuľke 3.



Obr. 5: Stabilita a ustálené stavy modelu s inhibíciou pri nastavení parametrov uvedených v Tabuľke 3.

Tabuľka 3: Nastavenie parametrov Monod modelu a modelu s inhibíciou.

Parameter	Veľkosť	Rozmer
μ_m	0.53	$1/h$
ν	0.5	$1/h$
K_M	1.2	g/L
K_i	22	g/L
Y_x	0.4	
Y_p	1	
V	3.33	L
F	1	L/h
s_{in}	20	g/L
p_0, s_0	0	g/L
x_0	10	g/L



Obr. 6: Závislosť koncentrácie substrátu od koncentrácie biomasy v ustálenom stave pri rôznych koncentráciách čerstvého substrátu s_{in} .

(ten v takomto prípade neexistuje, pretože sme mimo pracovného nastavenia) dochádza k výplachu. Ak sa chceme dostať do stabilného ustáleného stavu, je nutné aby koncentrácia čerstvého substrátu bola vyššia ako koncentrácia v prvom stabilnom ustálenom stave. Pri Monod modeli by sme mohli ísť s touto koncentráciou do nekonečna, kde by sme dosiahli maximálnu rýchlosť rastu. Ale na rozdiel od Monod modelu, pri modeli s inhibíciou, by od istého momentu ($S^* = \sqrt{K_M K_i}$) so zväčšujúcou sa koncentráciou čerstvého substrátu klesala špecifická rýchlosť rastu, ktorá sa limitne blíži k nule a koncentrácia biomasy by tak klesla na nulu.

4 Odhad parametrov

Je zrejmé, že nastaviť optimálny chod biochemického reaktora je zložitá záležitosť a jeho pracovný režim treba prispôsobiť na základe daného fermentačného média, teda na základe jeho vlastných parametrov – maximálnej špecifickej rýchlosti rastu, Michaelisovej konštanty a prípadne konštanty inhibície. Tie však nepoznáme a je nutné ich získať z jednotlivých časových priebehov, najčastejšie koncentrácie substrátu.

4.1 Optimalizačné metódy

Je zrejmé, že nastaviť optimálny chod biochemického reaktora je zložitá záležitosť a jeho pracovný režim treba prispôsobiť na základe daného fermentačného média, teda na základe jeho vlastných parametrov – maximálnej špecifickej rýchlosti rastu, Michaelisovej konštanty a prípadne konštanty inhibície. Tie však často nepoznáme a je nutné ich získať z jednotlivých časových priebehov, najčastejšie koncentrácie substrátu. Vhodnou formuláciou optimalizačného problému môžeme tieto parametre odhadnúť z nameraných údajov.

Pri návrhu optimalizácie, by našim cieľom mohlo byť minimalizovať výrobné náklady alebo maximalizovať efektívnosť výroby. Optimalizačný algoritmus je postup, ktorý sa vykonáva iteratívne porovnávaním rôznych riešení, až kým sa nenájde optimálne alebo uspokojivé riešenie. Dnes existujú dva odlišné typy optimalizačných algoritmov.

- (a) **Deterministické algoritmy.** Tieto využívajú špecifické pravidlá na posúvanie kandidátov riešenia od jedného k druhému. Ide o metódy, ktoré sú založené na poznaní gradientu účelovej funkcie alebo na odhade gradientu. Môže sem patriť napr. metóda poklesu gradientu, Newtonova metóda, simplexova (Nelder–Mead) metóda atď.
- (a) **Stochastické algoritmy.** Kým deterministické metódy prehľadávajú optimalizačný priestor systematicky, stochastické metódy ho prehľadávajú náhodne. Stávajú sa veľmi obľúbenými kvôli určitým vlastnostiam, ktoré deterministické algoritmy nemajú. Sem môžu patriť metódy ako simulované žihanie alebo metóda Luus–Jaakola.

Metódy založené na poznaní gradientu účelovej funkcie vedú k lokálnemu optimu, zatiaľ čo stochastické metódy často vedú ku globálnemu optimu, ale vyžadujú značné množstvo vyhodnotení účelovej funkcie. Z tohto dôvodu, pre rozmerovo väčšie problematiky, sú negradientové metódy menej žiadúce.

4.2 Prístupy k odhadu

Na začiatku by bolo vhodné spomenúť, že nie vždy dokážeme získať analytické riešenie modelu, ktoré by nám veľmi uľahčilo prácu, pretože by šlo o výrazne jednoduchšiu optimalizačnú úlohu regresie dát. V prípade, že nemáme k dispozícii analytické riešenie, je nutné priebehy modelu počítať numerickými metódami, čo nás privádza k rôznym návrhom optimalizačných problémov.

Spôsob, akým získať neznáme parametre modelu, môže byť rôzny a závisí najmä od množstva údajov, ktorými disponujeme. V prípade, že z reálneho zariadenia dokážeme získať viaceré časové priebehy, teda merať, môžeme parametre odhadnúť na základe aproximácie derivácie. Vysvetlíme si to na príklade biochemického reaktora. V prípade, že dokážeme merať časový priebeh koncentrácie biomasy a substrátu, môžeme na základe rovnice (5) odhadnúť parametre K_M a μ_m . Optimalizačný problém by mohol byť sformulovaný nasledovne:

$$\min_{\mu_m, K_M} \sum_{n=1}^N (\Delta_i^m - (\mu(s_i^m, \mu_m, K_M) - D) x_i^m)^2, \quad (9)$$

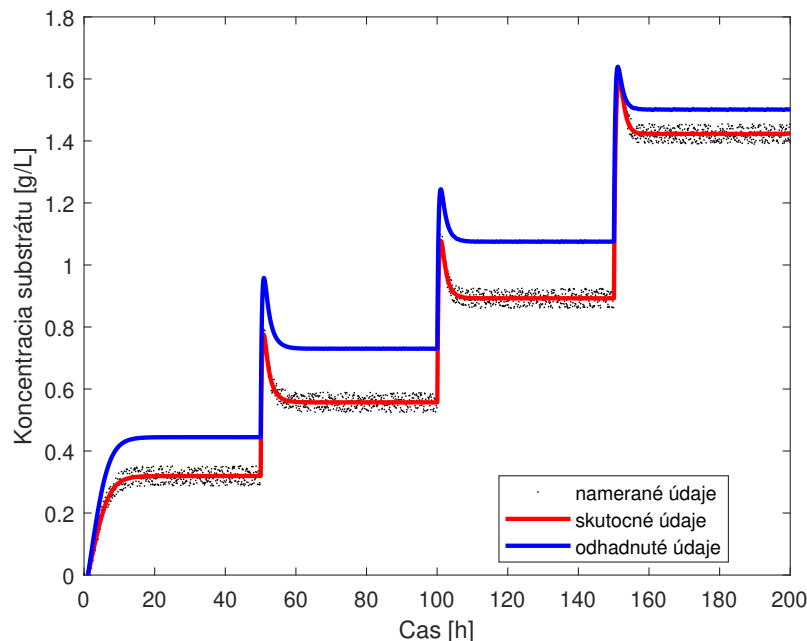
kde N je celkový počet dát, $\Delta_i = \frac{x_i^m - x_{i-1}^m}{t_i - t_{i-1}}$ je diferenciacia dvoch susedných nameraných hodnôt koncentrácie biomasy, s_i^m je hodnota nameranej koncentrácie substrátu v i -tom bode a tvar špecifickej rýchlosti rastu závisí od daného modelu a môže mať tvar daný buď (3), alebo (8).

Prvý prístup je síce veľmi jednoduchý, ale má svoje nevýhody. Najväčším problémom je však skutočnosť, že bežne meriame iba koncentráciu substrátu a tým pádom prichádzame o značnú časť informácií. Druhý prístup obchádza tento problém a zameriava sa na hľadanie neznámych parametrov samotných diferenciálnych rovníc. Zatiaľ čo návrh optimalizačného problému sa príliš nezmení, zložitosť výpočtu sa výrazne zvýši. V tomto prípade je nutné, v každom nameranom bode, niekoľkokrát numericky vyhodnotiť priebehy koncentrácie biomasy, produktu a aj substrátu a porovnať ich s nameraným signálom tak, aby sme získali optimálne riešenie. Túto problematiku by sme mohli sformulovať nasledovne:

$$\begin{aligned}
& \min_{\mu_m, K_M} \quad \sum_{n=1}^N (s_i^m - s_i)^2, \\
& \text{s.t.} \quad \dot{s} = D(s_{in} - s) - \frac{1}{Y_x} \mu(s, \mu_m, K_M) x - \frac{1}{Y_p} \nu x \\
& \quad \dot{x} = (\mu(s, \mu_m, K_M) - D)x \\
& \quad s(0) = s_0 \\
& \quad x(0) = x_0
\end{aligned} \tag{10}$$

kde s_i je koncentrácia substrátu v i -tom bode vypočítaná na základe modelu biochemického reaktora.

Ostáva tu však otázka, ako správne voliť štruktúru špecifickej rýchlosti rastu, aby sme dokázali správne určiť odhadované parametre. Túto informáciu nevieme jednoducho získať z nameraných údajov a môžeme dospieť k nesprávnemu modelu.



Obr. 7: Časový priebeh koncentrácie biomasy vypočítaný podľa parametrov odhadnutých na základe aproximácie derivácie.

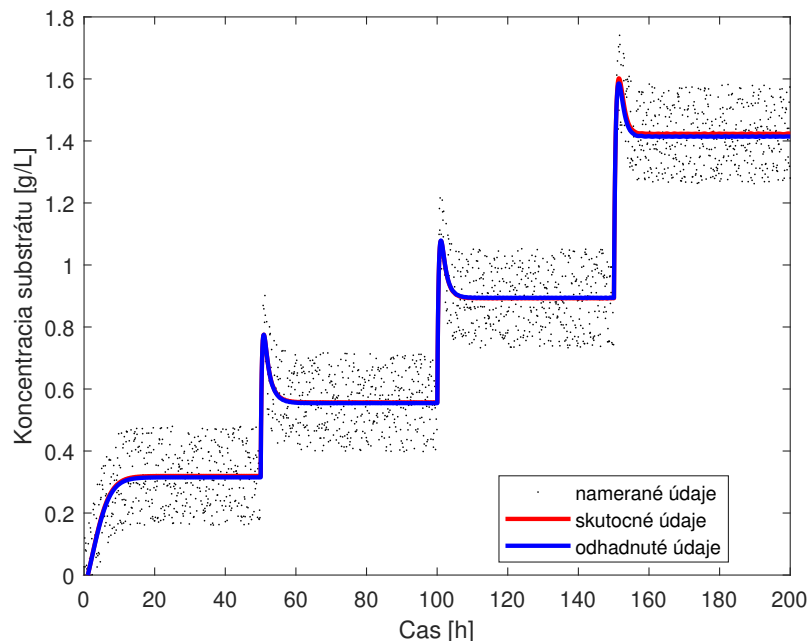
5 Výsledky

V experimentálnej časti sme sa venovali porovnaní prístupov k odhadu parametrov a porovnaniu dvoch optimalizačných metód – simplexovej (Nelder–Mead) metóde a metóde Luus–Jaakola. Dáta boli vygenerované simuláciou modelu s inhibíciou pri viacerých skokových zmenách v rýchlosti riedenia $D = (0.2, 0.3, 0.4 \text{ a } 0.5 \text{ l/h})$ v čase $t = 50 \text{ h}$ a ich časový priebeh je zobrazený na Obr. 1. Parametre modelu boli nastavené podobne ako je uvedené v Tabuľke 3 s rozdielom v maximálnej špecifickej rýchlosti rastu s hodnotou $\mu_m = 0.954 \text{ l/h}$. Odhad parametrov sme robili vzhľadom na Monod model, kvôli vyššie uvedeným skutočnostiam.

Najväčším problémom pri odhade parametrov na základe aproximácie derivácie je šum merania. Diferencia takéhoto signálu vedie k strate údajov z dynamiky systému. Preto je potrebné takýto zašumený signál najskôr spracovať napr. filtráciou. Ďalším faktom je, že meranie koncentrácie biomasy má omnoho väčšiu fluktuáciu ako samotné meranie koncentrácie substrátu, čo vedie k väčším nepresnostiam. V praxi by bolo nutné zabezpečiť identifikáciu živých organizmov od mŕtvych, ak by sme chceli robiť odhad takýmto prístupom. Na Obr. 7 môžeme vidieť výsledok odhadu parametrov na základe aproximácie derivácie. Môžeme si všimnúť, že takýto prístup k odhadu parametrov kladie dôraz skôr na dynamiku systému ako na samotné ustálené stavy.

Odhadovať parametre na základe celého modelu je v tomto prípade omnoho efektívnejšie. Vyhneme sa tak spomínaným problémom pri odhade parametrov aproximáciou derivácie. Veľkou výhodou tohto prístupu je, že rozptyl šumu môže byť výrazne väčší. Výsledok takéhoto prístupu k odhadu parametrov môžeme vidieť na Obr. 8. Z obrázku je očividné, že odhadnutý priebeh je kvalitatívne lepší ako v predchádzajúcom prípade.

Výsledky porovnania optimalizačných metód pri odhade parametrov na základe modelu a nameranej koncentrácie substrátu sú uvedené v Tabuľke 4. Simplexová metóda bola v každom bode efektívnejšia ako metóda Luus–Jaakola. Rozdiel pri týchto metódach je ten, že zatiaľ čo metóda Luus–Jaakola je čisto stochastická metóda, ktorá náhodne umiestňuje body, v ktorých vyhodnocuje účelovú funkciu a porovnáva ju z predchádzajúcimi bodmi, simplexová metóda svoj ďalší postup volí na základe predošlých hodnôt účelovej funkcie. Ako už bolo spomínané, tento prístup k odhadu je výpočtovo veľmi náročný, keďže je nutné numericky vyhodnocovať priebeh modelu v každom bode. Tým pádom každé jedno vyhodnotenie účelovej funkcie zaberie značné množstvo času. Ani jedna z týchto metód však nevedie ku globálnemu optimu, ale sú založené na tolerovateľnej odchýlke od optimálneho riešenia. Z tohto dôvodu by sme dokázali odhadnúť parametre



Obr. 8: Časový priebeh koncentrácie substrátu vypočítaný podľa parametrov odhadnutých na základe diferenciálnych rovníc modelu a nameranej koncentrácie substrátu.

Tabuľka 4: Porovnanie optimalizačných metód pri odhade parametrov modelu biochemického reaktora. Skutočné hodnoty boli: maximálna špecifická rýchlosť rastu $\mu_m = 0.954 \text{ }^1/\text{h}$ a Michaelisova konštanta $K_M = 1.2 \text{ g/L}$.

	Nelder–Mead	Luus–Jaakola
$\mu_m \text{ [}^1/\text{h]}$	0.8772	1.0500
$K_M \text{ [g/L]}$	1.0667	1.5082
Počet iterácií	52	349
Počet vyhodnotení účelovej funkcie	99	698
Čas [s]	4.0351	75.0524

modelu presnejšie, ak by sme znížili toleranciu nepresnosti.

Najzávažnejším problémom však je, že sme dokázali relatívne s vysokou presnosťou, nájsť parametre modelu s nesprávnou štruktúrou. Toto je samozrejme veľmi rizikové, pretože ak model štruktúrne nesedí (napr. by tam boli nejaké skryté/nenájdené nuly), tak sa ľahko stane, že náš systém privedieme do stavu vymytia. Žiaľ, informácie o štruktúre modelu nedokážeme získať z nameraných údajov a treba tento problém vyriešiť iným spôsobom. Ako bolo ukázané v článku [1], jedným z riešení môžu byť hybridné modely. Hybridné modely sú také modely, ktoré majú základ v mechanických modeloch a tieto sú doplnené dátovými modelmi. Dátové modely v tomto prípade upravujú odchýlky od skutočného modelu, ktoré sa iteratívne aktualizujú na základe informácií zo zariadenia (skutočného modelu). Základnou myšlienkou je vynútiť prispôbenie podmienok optimality medzi zariadením a rozšíreným modelom pomocou podmienok lineárnej korekcie.

6 Záver

Táto práca sa zaoberala problematikou modelov prietokového biochemického reaktora. Na začiatku sme ozrejmili, čo vlastne biochemický reaktor je, aké funkcie plní a vysvetlili sme rozdiely medzi jednotlivými typmi. Odvodili sme najjednoduchší model biochemického reaktora, tzv. Monod model, ktorý sme následne doplnili o časť tvorby produktu. Následne sme sa zaoberali rozdielmi v dynamike a stabilite Monod modelu a modelu s inhibíciou, ktoré boli ilustrované pomocou fázových diagramov. Najväčšiu časť našej pozornosti sme však venovali odhadu parametrov modelu biochemického reaktora. Tu sme porovnávali rôzne prístupy k odhadu parametrov a jednotlivé optimalizačné metódy. Z výsledkov môžeme tvrdiť, že zatiaľ čo odhad parametrov pomocou aproximácie derivácie vykazoval mnohé nedostatky (napr. citlivosť na šum merania, musíme mať k dispozícii časový priebeh koncentrácie substrátu a aj biomasy, s čím súvisia ďalšie problémy atď.), odhad parametrov na základe diferenciálnych rovníc ich odstránil. Avšak náročnosť na výpočet sa tým výrazne zvýšila. Z optimalizačných metód sa ako najvhodnejšia javila simplexová metóda (viď Tabuľku 4). Táto dokázala optimalizačný problém vyriešiť efektívnejšie v porovnaní s metódou Luus-Jaakola. Na samotný záver sme uviedli problematiku štruktúry modelu, kde vhodným riešením tohto problému sa javia byť tzv. hybridné modely.

Literatúra

- [1] Reinaldo Hernández and Sebastian Engell. Economics optimizing control with model mismatch based on modifier adaptation. *IFAC-PapersOnLine*, 52(1):46 – 51, 2019. 12th IFAC Symposium on Dynamics and Control of Process Systems, including Biosystems DYCOPS 2019.
- [2] Nicolai Panikov. *Kinetics of Microbial Processes. In.* 12 2016.
- [3] Jagriti Singh, Nirmala Kaushik, and Soumitra Biswas. Bioreactors – technology & design analysis. 06 2014.
- [4] B. Srinivasan, S. Palanki, and D. Bonvin. Dynamic optimization of batch processes: I. characterization of the nominal solution. *Computers & Chemical Engineering*, 27(1):1 – 26, 2003.