



Diseño de Experimentos y Modelado para Optimización en la Industria de Procesos

Tesis Doctoral para optar por el título de

Doctor en Ingeniería Química

Facultad de Ingeniería Química - Universidad Nacional del Litoral

Autor: Martín F. Luna

Director: Dr. Ernesto C. Martínez

Jurados: Dr. Pio A. Aguirre

Dr. José A. Bandoni

Dra. Marta S. Basualdo

INGAR - CONICET

Santa Fe, 2016

A la memoria de Ricardo Grau

INDICE

Resumen	12
Capítulo 1: INTRODUCCIÓN	15
1.1 Descripción de la problemática	16
1.2 Análisis de la principal bibliografía relacionada con el tema propuesto	23
1.2.1 Modelado para optimización y modelos de tendencia	23
1.2.2 Diseño experimentos, aprendizaje activo e inferencia Bayesiana	25
1.3 Aspectos que lo hacen diferente de lo ya existente y conocido en el área	28
1.4 Bibliografía	31
Capítulo 2: MODELADO PARA OPTIMIZACIÓN	36
2.1 Problema de Optimización en la Industria de Procesos	37
2.2 Modelos matemáticos de procesos industriales	39
2.3 Ajuste del modelo	43
2.4 Tendencia de un modelo	46
2.5 Modelos probabilísticos de tendencia y Bootstrapping	52
2.6 Problema de desarrollo	58
2.7 Diseño de experimentos	59
2.8 Análisis de sensibilidad	63
2.9 Resumen del capítulo	64
2.10 Bibliografía	66
Capítulo 3: OPTIMIZACIÓN EXPERIMENTAL	68
3.1 Esquema de optimización experimental	69
3.2 Algoritmo para ajuste del modelo y Bootstrapping	73
3.3 Algoritmos para diseñar el experimento	74
3.3.1 Enfoque I	74
3.3.2 Enfoque II	76
3.4 Criterios de mejora y de parada	77
3.5 Algoritmo para la reducción de la región de optimización	79
3.6 Casos de estudio	82
3.6.1 Ejemplo 1: Síntesis de un principio activo	83
3.6.2 Ejemplo 2: Producción de biodiesel	96
3.6.3 Ejemplo 3: Producción de células animales	109
3.7 Resumen del capítulo	119
3.8 Bibliografía usada en este capítulo	121
Capítulo 4: ANALISIS DE CONVERGENCIA	124
4.1 Influencia de la Tendencia del Modelo en la Convergencia	125
4.2 Análisis experimental de la convergencia	140
4.3 Resumen del capítulo	143
4.4 Bibliografía usada en este capítulo	145
Capítulo 5: VERIFICACIÓN EXPERIMENTAL	146
5.1 Bioprocesos	148
5.2 Levadura	149
5.3 Planteo del problema	153

<i>5.4 Modelo para el biorreactor</i>	157
<i>5.5 Procedimiento experimental</i>	166
<i>5.6 Resultados</i>	171
<i>5.7 Resumen del capítulo</i>	183
<i>5.8 Bibliografía usada en este capítulo</i>	185
Capítulo 6: CONCLUSIONES	188
<i>6.1 Principales características del método</i>	189
<i>6.2 Propuestas para futuros trabajos</i>	191
Anexo: Programas de Matlab	194

INDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.1: Contribución de las etapas al gasto total en I&D para la industria biofarmacéutica</i>	17
<i>Figura 1.2: Etapas de desarrollo y operación para un proceso</i>	20
<i>Figura 1.3: Diagrama de bloques de la metodología</i>	26
<i>Figura 2.1 - Distintas etapas en la optimización de un proceso usando un modelo de tendencia.</i>	51
<i>Figura 2.2 Predicciones y función densidad de probabilidad para el modelo presentado en la ecuación (2.8).</i>	53
<i>Figura 2.3 - Ilustración del procedimiento de Bootstrapping</i>	57
<i>Figura 3.1 - Esquema de optimización propuesto</i>	72
<i>Figura 3.2 - Reducción de la región de optimización</i>	80
<i>Figura 3.3 - Superficie de respuesta del proceso del Ejemplo 1</i>	88
<i>Figura 3.4 - Datos y predicciones para el experimento #1 del Ejemplo 1.</i>	91
<i>Figura 3.5 - Camino de mejora sobre la superficie de respuesta para el Ejemplo 1.</i>	93
<i>Figura 3.6 - Ampliación de la figura 3.5 para la segunda iteración (experimentos #2 a #5).</i>	94
<i>Figura 3.7 - Curva de aprendizaje para el Ejemplo 1.</i>	95
<i>Figura 3.8 - Curvas de performance para el Ejemplo 2.</i>	102
<i>Figura 3.9 - Curva de aprendizaje para el Ejemplo 2.</i>	106
<i>Figura 3.10 - Curva de aprendizaje para el cambio de materia prima en el Ejemplo 2.</i>	108
<i>Figura 3.11 - Red metabólica para células animales</i>	111
<i>Figura 3.12 - Datos y predicciones para el experimento exploratorio del Ejemplo 3.</i>	116
<i>Figura 3.13 - Curvas de aprendizaje para los distintos métodos del Ejemplo 3.</i>	118
<i>Figura 4.1 - Superficie de respuesta real, aproximación del modelo para el ejemplo conceptual y reducción de la región de operación.</i>	130
<i>Figura 4.2 - Región de mejora real y predicha para el ejemplo propuesto</i>	131
<i>Figura 4.3 - Tendencia del modelo para el ejemplo propuesto</i>	133
<i>Figura 4.4 - Superficie de respuesta real y predicción del segundo modelo para el ejemplo</i>	135
<i>Figura 4.5 - Regiones de mejora real y predicha y tendencia del segundo modelo</i>	136
<i>Figura 4.6 - Ampliación del entorno mostrando la tendencia del segundo modelo</i>	137

<i>Figura 4.7 - Análisis del segundo ejemplo conceptual</i>	139
<i>Figura 4.8 - Superficie de respuesta real y distintas condiciones de operación iniciales</i>	142
<i>Figura 5.1 - Rendimiento de biomasa en función de glucosa residual.</i>	160
<i>Figura 5.2 - Velocidad de crecimiento en función de glucosa residual.</i>	161
<i>Figura 5.3 - Velocidades específicas de crecimiento y consumo en función de glucosa residual.</i>	163
<i>Figura 5.4 - Velocidades específicas de crecimiento y consumo en función del tiempo para un experimento.</i>	164
<i>Figura 5.5 - Biorreactor BioFlo 110 usado en los experimentos del capítulo 5.</i>	167
<i>Figura 5.6 - Esquema de perfil de alimentación utilizado (5 escalones).</i>	170
<i>Figura 5.7 -Distribuciones de parámetros ajustados con datos del experimento #1.</i>	173
<i>Figura 5.8 -Datos y ajuste del modelo para el experimento #1.</i>	174
<i>Figura 5.9 -Distribuciones de parámetros ajustados con datos del experimento #3.</i>	177
<i>Figura 5.10 -Datos y ajuste del modelo para el experimento #3.</i>	178
<i>Figura 5.11 - Performance de los experimentos en función de la cantidad de glucosa agregada.</i>	181
<i>Figura 5.12 - Curva de aprendizaje para el ejemplo presentad en este capítulo.</i>	182

INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 3.1 - Constantes cinéticas las simulaciones del Ejemplo 1</i>	86
<i>Tabla 3.2 - Resultados para la implementación completa del proceso al Ejemplo 1.</i>	92
<i>Tabla 3.3 - Reacciones de transesterificación para el Ejemplo 2.</i>	97
<i>Tabla 3.4 - Reacciones de saponificación para el Ejemplo 2.</i>	98
<i>Tabla 3.5 - Parametrizaciones para diferentes casos de estudio del ejemplo 2.</i>	101
<i>Tabla 3.6 - Modelo de tendencia para el ejemplo 2.</i>	103
<i>Tabla 3.7 - Resultados de la implementación de la metodología para el Ejemplo 2.</i>	105
<i>Tabla 3.8 - Óptimo real para el Ejemplo 2</i>	105
<i>Tabla 3.9 - Resultados a para un cambio de fuente de materia prima para el Ejemplo 2.</i>	107
<i>Tabla 3.10 - Óptimo real para cambio de fuente de materia prima en el Ejemplo 2.</i>	107
<i>Tabla 3.11 - Resultados de la implementación de la metodología para el Ejemplo 3.</i>	115
<i>Tabla 4.1 - Resultados de la implementación desde la misma política exploratoria.</i>	140
<i>Tabla 4.2 - Resultados de la implementación desde distintas políticas exploratorias.</i>	141
<i>Tabla 5.1 - Medio de cultivo para levaduras</i>	169
<i>Tabla 5.2 - Perfil de alimentación y su funcionalidad con los parámetros de la política.</i>	171
<i>Tabla 5.3 - Política para el experimento #1</i>	171
<i>Tabla 5.4 - Esquema de muestreo para el experimento #1</i>	171
<i>Tabla 5.5 - Resultados del experimento #1</i>	172
<i>Tabla 5.6 - Política para el experimento #2</i>	174
<i>Tabla 5.7 - Esquema de muestreo para el experimento #2</i>	174
<i>Tabla 5.8 - Resultados del experimento #2</i>	175
<i>Tabla 5.9 - Nuevos límites para el experimento #3</i>	175
<i>Tabla 5.10 - Política para el experimento #3</i>	175
<i>Tabla 5.11 - Esquema de muestreo para el experimento #3</i>	176
<i>Tabla 5.12 - Resultados del experimento #3</i>	176
<i>Tabla 5.13 - Política para el experimento #4</i>	178
<i>Tabla 5.14 - Esquema de muestreo para el experimento #4</i>	178

<i>Tabla 5.15 - Resultados del experimento #4</i>	179
<i>Tabla 5.16 - Nuevos límites para el experimento #5</i>	179
<i>Tabla 5.17 - Política para el experimento #5</i>	179
<i>Tabla 5.18 - Esquema de muestreo para el experimento #5</i>	179
<i>Tabla 5.19- Resultados del experimento #5</i>	180
<i>Tabla 5.20 - Resumen de los resultados</i>	181

INDICE DE ALGORITMOS

<i>Algoritmo 3.1 - Bootstrapping</i>	73
<i>Algoritmo 3.2 - Cálculo de los estadísticos</i>	75
<i>Algoritmo 3.3 - Cálculo de $\det(Q^T Q)$</i>	76
<i>Algoritmo 3.4 - Cálculo de las distribuciones para la política de operación</i>	76
<i>Algoritmo 3.5 - Reducción de la región de operación</i>	79

Los siguientes artículos publicados fueron realizados con el material generado en el desarrollo de esta tesis:

- Luna, M. F., Martínez, E.C. (2013). "Model-based run-to-run optimization under uncertainty of biodiesel production". *Computer Aided Chemical Engineering*, Volume 32, 2013, Pages 103-108.
- Luna, M. F., Martínez, E. C. (2014). "A Bayesian approach to run-to-run optimization of animal cell bioreactors using probabilistic tendency models". *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 53(44), 17252-17266.
- Luna, M. F., & Martínez, E. C. (2015). "Run-to-Run Optimization of Biodiesel Production using Probabilistic Tendency Models: A Simulation Study". *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 93(9), 1613-1623.
- Colombo, E., Luna, M.F., Martínez, E.C (2016). "Probability-based design of experiments for batch process optimization with end-point specifications". *Industrial & Engineering Chemistry Research*. Publicado ASAP, DOI: 10.1021/acs.iecr.5b01295

También se han realizado los siguientes trabajos:

- Luna, M. F., Martínez, E. C. (2013). "Simulation-based optimal design of experiments for productivity improvement in biodiesel production". *Workshop on Applied Modeling and Simulation (WAMS), Buenos Aires, Argentina.*

- Lopez, A.O., Luna, M. F., Martínez, E. C. (2014). “Intensificación del Proceso Fenton vía Optimización Run-to-Run de la Política Operativa”. *Terceras Jornadas de Intercambio y Difusión de los Resultados de Investigaciones de los Doctorandos en Ingeniería*.
- Luna, M. F., Martínez, E. C. (2014). “Bayesian optimal design of experiments for run-to-run optimization of innovative bioprocesses”. *European Symposium on Computer Aided Process Engineering 24 (ESCAPE 24)*.
- Colombo, E., Luna, M.F., Martínez, E.C. (2015). “Optimal experimental design for process optimization with stochastic binary outcomes”. *Argentine Symposium on Industrial Informatics SII 2015 44th Argentine Conference on Informatics (44 JAIIO)*.
- Colombo, E., Luna, M.F., Martínez, E.C. (2015). “Diseño óptimo de experimentos para garantizar las especificaciones finales de productos y procesos”. *Congreso Argentino de Ingeniería Química 2015 (CAIQ 2015)*.
- Lopez, A.O., Luna, M. F., Martínez, E. C. (2015). “Modeling for Optimization in 2-Chlorophenol Oxidation by the Fenton Process”. *Congreso Argentino de Ingeniería Química 2015 (CAIQ 2015)*.
- Luna, M. F., Martínez, E. C. (2015). “Modelado para optimización en el desarrollo de procesos innovadores”. *Congreso Argentino de Ingeniería Química 2015 (CAIQ 2015)*.

Resumen

En la presente tesis se aborda la problemática de la optimización experimental de procesos que presentan una elevada incertidumbre respecto de su comportamiento. Se presenta una metodología para el adecuado diseño de experimentos dinámicos que permitan aumentar la performance del proceso, se analizan sus características y su convergencia y finalmente se aplica a varios ejemplos relacionados a la industria de procesos química y biotecnológica.

En la práctica industrial, existen diferentes motivos por los que un proceso presenta incertidumbre. Este es el caso particular de procesos innovadores, entendiendo como tales a aquellos nuevos procesos que aún no han sido suficientemente estudiados y de los cuales el grado de desconocimiento acerca de su naturaleza es aún importante. Otro caso de interés es el de procesos que utilizan materias primas de naturaleza compleja, que pueden variar su composición o propiedades dependiendo de su origen. Si estos cambios en la materia prima no son fácilmente cuantificables, su efecto sobre la operación del proceso es difícil de determinar.

Esta información incompleta suele ser insuficiente para generar modelos matemáticos que permitan representar fielmente el proceso en un amplio rango de condiciones de operación. Sin la adecuada comprensión de los fundamentos que explican el comportamiento observado, los modelos pueden proponer condiciones de operación subóptimas. Por otro lado, un método de optimización puramente experimental suele ser muy costoso, y desaprovecha información fenomenológica que se tiene sobre el proceso.

Para hacer frente a esta problemática, se plantea una metodología de optimización que combina el uso de modelos de tendencia con *feedback* experimental en un marco de aprendizaje activo. Utilizando la información disponible, se formula un modelo matemático que relacione las respuestas del proceso con las variables de operación. En base a este modelo, se diseña un experimento con dos objetivos principales: optimizar la performance del proceso y maximizar la información que puede ser obtenida sobre el mismo. El experimento es llevado a cabo y se realizan las mediciones correspondientes. Como el conocimiento sobre el proceso y la información disponible son escasos, el modelo pierde capacidad de predicción al alejarse de las condiciones usadas para su obtención y el óptimo propuesto puede no ser en realidad el óptimo real del proceso. Usando la información obtenida, el modelo es actualizado para capturar la respuesta del proceso en la nueva región de operación y un nuevo experimento es diseñado. El experimento es realizado y el ciclo se repite mientras las sucesivas iteraciones mejoren la performance del proceso.

El método permite realizar la mayor cantidad de experimentos en la región de operación de alta performance, evitando regiones de poco interés en la práctica industrial, lo cual reduce el costo de implementación. El *feedback* experimental, por otro lado, permite corregir los errores del modelo, algo especialmente importante cuando se trabaja con modelos formulados con información incompleta.

En esta tesis, el problema de Modelado para Optimización es estudiado, desarrollando su marco teórico y analizando sus principales herramientas. Luego,

la metodología propuesta es explicada pormenorizadamente, presentando dos algoritmos para la implementación de la misma. Tres casos de estudio de interés en la industria química y biotecnológica son generados vía simulación para ejemplificar el uso del método. Luego, se realiza un análisis de la convergencia y de las características principales del método. Finalmente, se aborda un nuevo caso de estudio que involucra la realización de ensayos a escala banco, lo que permite demostrar la aplicabilidad y fiabilidad de la metodología en un problema real.

CAPÍTULO 1

Introducción

CAPÍTULO 1: Introducción

En este capítulo se enuncia la problemática abordada en esta tesis y se plantean los objetivos específicos y generales. Luego se analiza la bibliografía existente en el tema y se enuncian los aspectos novedosos de este trabajo.

1.1 Descripción de la problemática

Dentro de los procesos industriales, un tipo particular es el de aquellos que presentan un elevado grado de incertidumbre. Esto es, aquellos cuyo comportamiento no puede ser predicho con un grado suficiente de certeza. Esta incapacidad de predecir el comportamiento dificulta en gran medida ciertas tareas relacionadas a la práctica industrial, como son el diseño, la planificación, el control y, en especial, la optimización de procesos. Esta última es clave en industrias donde la eficiencia de los procesos juega un rol fundamental en la factibilidad económica de los mismos.

Los motivos por los que un proceso puede tener elevada incertidumbre son diversos, pero dos de los principales son la falta de conocimientos sobre el proceso y la variabilidad en algún aspecto del mismo. El primer motivo es típico de los procesos innovadores, tales como los pertenecientes a la industria farmacéutica y electrónica. Estas industrias se caracterizan por un corto período de desarrollo debido al elevado dinamismo y a la alta competitividad del mercado. Cuando un nuevo producto o proceso es descubierto en las etapas tempranas de investigación, el tiempo para desarrollarlo es muy reducido, ya que de lo contrario otro competidor puede ganar el nicho de mercado asociado. Esta dinámica de la

innovación, hace que el tiempo disponible para obtener información sobre el nuevo proceso sea considerablemente reducido. El desconocimiento sobre la naturaleza del proceso dificulta su adecuado diseño y optimización. Ya que una operación eficiente del proceso es necesaria para que este sea factible, surge la necesidad de una metodología que logre encontrar esas condiciones aprovechando al máximo los recursos y la escasa información disponible. En la figura 1.1 se muestra un esquema de la contribución al gasto de distintas etapas en investigación y desarrollo para la industria biofarmacéutica (Royle et al., 2013.) Se muestra en el recuadro rojo las etapas a las que va orientada la metodología presentada en esta tesis.

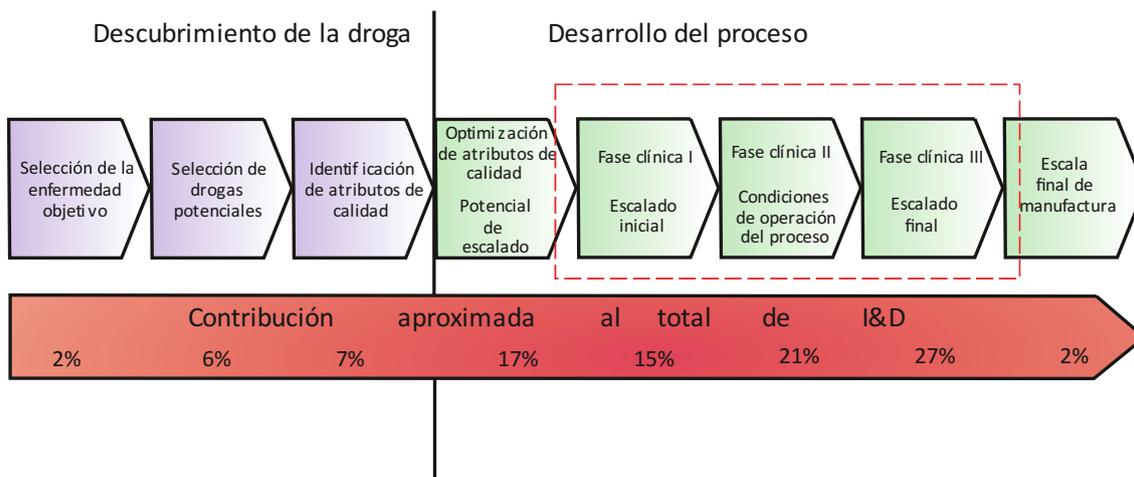


Figura 1.1: Contribución de las etapas al gasto total en I&D para la industria biofarmacéutica.

La otra causa de incertidumbre a considerar es la variabilidad en alguna característica del proceso. Para que esto cause incertidumbre, dicha variación debe ser imposible de detectar, medir o relacionar directamente con el comportamiento del proceso. Un caso típico es el de uso de materias prima de origen natural, cuya composición es compleja y no completamente especificada. Por ejemplo, en el caso de la producción de biodiesel, el aceite vegetal utilizado como materia prima no tiene una composición química determinada, sino que es una combinación de triglicéridos que varía dependiendo de su origen. Esta variabilidad en la composición de triglicéridos tiene efecto en la cinética de reacción y determina las condiciones óptimas de operación. Si la composición no puede ser medida o si no se cuenta con información sobre cómo afecta al comportamiento del proceso, al variar considerablemente la materia prima (por ejemplo, pasando de un proveedor a otro, o de un tipo de aceite a otro) las condiciones óptimas de operación pueden cambiar, y si ninguna acción correctiva es llevada a cabo, esto se traduce en una pérdida de performance. Nuevamente, para hacer frente a este escenario es necesaria una metodología que permita encontrar un nuevo óptimo operativo rápidamente, de manera que la pérdida en la performance sea mínima.

Esta problemática referida a los procesos industriales que presentan incertidumbre, y en particular al desarrollo (incluyendo en el mismo el escalado y cambio de operación) de los mismos, puede formularse de la siguiente manera:

¿Cómo desarrollar económicamente un proceso que opere de manera óptima en presencia de incertidumbre?

En este sentido, debe entenderse como económico tanto al uso óptimo de recursos (ya sea tiempo, dinero o materias primas disponibles) como al costo de oportunidad por operar en condiciones subóptimas, desde el momento en el que se comienza con el desarrollo hasta que se considera terminada la curva de aprendizaje.

Una última consideración respecto del planteo del problema: si bien la variabilidad es considerada como fuente de incertidumbre, en esta tesis se abordarán problemas donde las variaciones se dan con una frecuencia menor a la duración del ciclo de desarrollo del proceso. Es decir, la variación genera un cambio en el proceso que motiva un cambio en las condiciones de operación, pero una nueva variación no vuelve a manifestarse mientras la metodología de optimización está siendo aplicada. Esto se ilustra en la figura 1.2. En ésta, se indica como se distribuyen los experimentos en el tiempo para el proceso de desarrollo. Inicialmente, se realizan experimentos para encontrar el óptimo del proceso. Terminada esta etapa, el proceso trabaja bajo dichas condiciones óptimas de operación por un tiempo indeterminado, hasta que una perturbación en el proceso hace que sea necesaria una reoptimización del mismo. El proceso de optimización se repite hasta hallar un nuevo óptimo, y el proceso opera en estas condiciones hasta una nueva perturbación. Un ejemplo es el ya citado sobre el cambio de un proveedor de materia prima a otro. Uno de los requisitos para que la propuesta en esta tesis sea aplicable es que los resultados de un experimento de un proceso sean replicables mientras dure el desarrollo, es decir que ante determinadas condiciones de operación el resultado del proceso siempre sea el mismo. Si la

variabilidad en el proceso es elevada, una metodología distinta a la presentada aquí, o una modificación de la misma, deberá ser considerada.

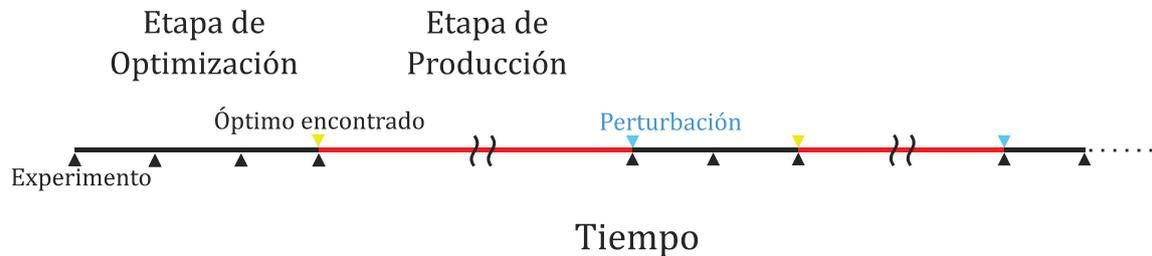


Figura 1.2: Etapas de desarrollo y operación para un proceso

Existen diferentes escuelas de optimización de procesos que se utilizan en la práctica industrial y académica. Los diferentes métodos pueden agruparse en métodos puramente experimentales, o *model-free*, y métodos basados en modelos matemáticos, o *model-based*. Los primeros no utilizan una formulación matemática para representar el proceso, sino que basándose en interacciones con el mismo y mediante mecanismos de prueba y error, proponen condiciones óptimas de operación. El método tradicional es el diseño factorial de experimentos (en sus distintas versiones). La principal ventaja de estos métodos es que al no hacer predicciones sobre el comportamiento del proceso, la incertidumbre no los afecta. Las desventajas son que requieren mucho esfuerzo experimental (es decir, muchos experimentos) y que la información utilizada sólo es aquella sobre la performance, siendo inútil otra información proporcionada por el experimento.

Los métodos basados en modelos utilizan formulaciones matemáticas para representar el proceso y como herramienta para optimizarlo. Una vez que se cuenta con el modelo, se utiliza alguno de los algoritmos disponibles en la extensa bibliografía para obtener el óptimo matemático. Si el modelo describe a la perfección el proceso, el óptimo propuesto coincide con el óptimo real. Si no lo hace, el óptimo del proceso real puede ser distinto al predicho por el modelo. En el caso de procesos con elevada incertidumbre, es muy difícil contar con modelos que permitan predecir con exactitud el comportamiento real del proceso, debido a los motivos anteriormente citados. Dos nuevos grupos pueden encontrarse dentro de la optimización basada en modelos. En el enfoque tradicional, un gran esfuerzo experimental es realizado para obtener un modelo suficientemente complejo que represente bien al proceso en cualquier condición de operación, antes de abordar la optimización. Una vez obtenido el óptimo, el proceso de desarrollo se detiene. Un modelo de estas características es siempre muy deseable, pero el enfoque presenta la desventaja de ser muy costoso experimentalmente. El otro enfoque es de carácter iterativo: primero, un modelo simplificado del proceso se usa para obtener las relaciones básicas entre las variables operativas y las respuestas del proceso en una región de operación reducida. Se estima el óptimo de las condiciones de operación y se realiza un experimento. El *feedback* informativo de dicho experimento se usa para actualizar el modelo en la nueva zona de operación, lo que sirve para encontrar mejores condiciones operativas. Se repite el procedimiento hasta la convergencia. La ventaja de este enfoque es que el esfuerzo experimental se focaliza en condiciones de operación donde la performance es alta, lo que permite evitar experimentos en zonas de poco interés (algo muy

deseable en el desarrollo de procesos innovadores) y minimizar el costo marginal (algo muy importante en el caso de un cambio en las condiciones de operación). El costo a pagar es la “localidad” del modelo: éste pierde poder predictivo al alejarse de las condiciones de operación donde fue obtenido. Pero esto no debería ser un problema en el caso de modelado para optimización, ya que el modelo se usa como un medio para obtener un óptimo y no como una herramienta general de descripción y comprensión del proceso.

En esta tesis, una metodología para optimización de procesos con incertidumbre basada en modelos y *feedback* experimental será desarrollada y estudiada. El foco principal está puesto en el desarrollo, escalado y cambio de operación para procesos de la industria química y biotecnológica. La hipótesis principal bajo la que se trabaja es:

Durante el desarrollo, escalado y operación de procesos químicos y biotecnológicos, el diseño de experimentos desde la perspectiva del modelado para optimización permite generar de manera rápida y económica mejoras incrementales en la performance de los mismos.

Los objetivos generales son:

Desarrollar conceptos y metodologías de modelado para optimización experimental que permitan hacer frente a los elevados niveles de incertidumbre presentes en la operación, desarrollo y escalado rápido y económico de sistemas complejos de reacciones químicas y de bioprocesos innovadores.

Los objetivos específicos son:

- 1) Desarrollar y evaluar experimentalmente modelos probabilísticos de tendencias para optimización integrando *bootstrapping* de la incertidumbre paramétrica.
- 2) Diseñar una metodología para optimización iterativa de políticas de operación integrando modelos de tendencias con datos experimentales para sistemas reaccionantes complejos de la industria de procesos químicos y biotecnológicos.
- 3) Evaluar la metodología propuesta con datos experimentales propios obtenidos en laboratorio y a través de simulación, para diversos ejemplos de la industria de procesos.
- 4) Realizar un análisis teórico-experimental de la convergencia del método desarrollado para optimización de políticas con modelos probabilísticos.

1.2 Análisis de la principal bibliografía relacionada con el tema propuesto

1.2.1 Modelado para optimización

Para hacer frente a la problemática de modelos estructuralmente imperfectos, parámetros inciertos y datos escasos se ha propuesto un enfoque metodológico denominado *modelado para optimización* (Bonvin, 1998; Martínez, 2000; Martínez et al., 2009; Cristaldi et al., 2009; Cristaldi et al., 2010; Cristaldi et al., 2011). En esta propuesta se considera a los modelos de un proceso bajo estudio como un

medio o guía para una mejora iterativa de la política de operación. En consecuencia, el concepto de diseño experimental óptimo no está relacionado con una mayor precisión paramétrica del modelo sino en la capacidad del modelo para descubrir condiciones operativas que proporcionan mayor rendimiento o más alta productividad. Por tanto, un problema central en modelado para optimización es generar datos siguiendo un procedimiento de aprendizaje activo (Raju & Cooney, 1998; Martínez, 2000) que persigue una rápida convergencia hacia formas cuasi-óptimas de operación con niveles de performance que proporcionan una referencia o *benchmark* para la operación industrial. Este rol de un modelo difiere sustancialmente de la concepción tradicional como herramienta para una mayor comprensión de los fenómenos y el desarrollo de una capacidad predictiva para el comportamiento del proceso en un amplio rango de condiciones operativas. En este último caso, se impone el objetivo de la precisión paramétrica como prioritario para la generalización y la extrapolación (Sedrati et al. 1999; Asprey & Macchietto, 2002; Franceschini & Macchietto, 2009). En esencia, en el enfoque propuesto subyace una idea utilitarista que hace uso intensivo de las herramientas disponibles, como los modelos de tendencia, para lograr mejores políticas de operación y rendimientos, con economía de costosos procesos de experimentación basada en una estrategia de muestreo óptimo.

Un modelo de tendencia es un modelo dinámico no lineal de bajo orden, que aproxima un proceso usando una combinación de conocimientos fundamentales e información experimental. A medida que nueva información es generada, el modelo se actualiza para ajustar los datos experimentales en la región operativa de

interés. El objetivo del modelo de tendencia no es explicar o estudiar a fondo los mecanismos "reales" del proceso, sino predecir condiciones donde la performance del proceso mejorará. Para esto, relaciona las variables de entrada y salida del sistema usando información fenomenológica (Filippi et al., 1989; Fotopoulus et al.; 1998; Martinez et al., 2013).

1.2.2 Diseño de experimento y aprendizaje activo

El diseño de experimentos es una técnica mediante la cual se genera conocimiento acerca de un proceso a través de la experimentación, utilizando los recursos de manera económica (Montgomery, 2008). Se busca relacionar los parámetros del proceso con las respuestas del mismo. Qué parámetros y que respuestas se estudian, y cómo se lleva a cabo el diseño, dependen de la naturaleza del sistema y del objetivo buscado. En el presente trabajo, se busca optimizar la performance de experimentos dinámicos en la industria de procesos químicos y biotecnológicos.

Un experimento dinámico está compuesto de una política de operación del proceso y una estrategia de muestreo "óptima" desde el punto de vista informativo. El diseño es llevado a cabo a partir de un modelo y de un análisis de sensibilidad del mismo (Saltelli et al., 2006; Cristaldi et al., 2011). Una vez que el experimento para optimización ha sido diseñado, la política de operación es implementada y se obtienen nuevos datos a partir de las muestras tomadas durante el experimento. Esos nuevos datos son utilizados para actualizar el modelo (se modifica su estructura y/o se re-estiman las distribuciones de los parámetros vía *bootstrapping*). Con este nuevo modelo, se realiza una nueva iteración. El ciclo

identificación-optimización es repetido hasta que no es obtenida una mejora en la producción del proceso y/o la política ha convergido. Una representación esquemática de la metodología se muestra en la figura 1.3.

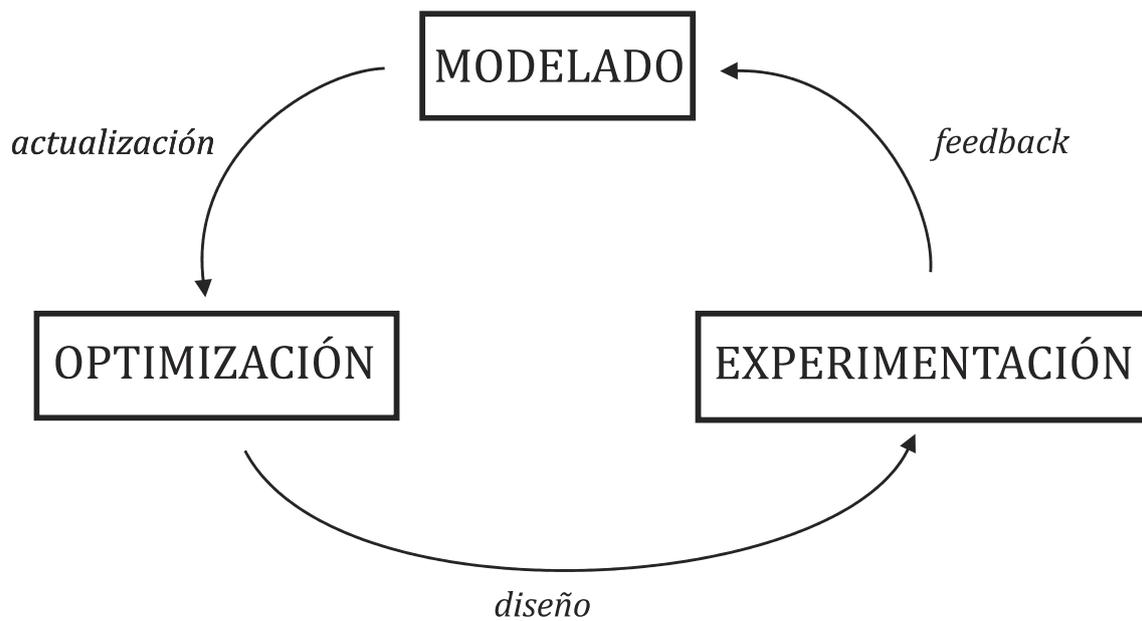


Figura 1.3: Diagrama de bloques de la metodología

En cada iteración del método, el objetivo es obtener un modelo de tendencia (estructura y/o parámetros) que represente el comportamiento del proceso y a partir de esta, diseñar un experimento dinámico que mejore la performance (Martínez et al. 2009; Cristaldi et al. 2009, Cristaldi et al. 2010).

En la búsqueda de garantizar una elevada precisión paramétrica los criterios de optimalidad para diseño experimental se relacionan con la matriz de información de Fisher (Asprey & Machietto, 2002) y adoptan los criterios conocidos como A-optimalidad, D-optimalidad y E-optimalidad, dependiendo cuál medida del

determinante asociado con la matriz de Fisher el diseño intenta minimizar (volumen, autovalores, etc.). En la presente metodología se deben adoptar otros criterios que permitan introducir los sesgos requeridos para obtener datos que aporten información sobre la región óptima de operación como los propuestos en Dawid & Sebastiani (1999). También se propondrán diseños que buscan un equilibrio entre información nueva y valor económico del experimento (Verdinelli & Kadane, 1992).

Los modelos probabilísticos de tendencias combinan una estructura basada en principios fundamentales con distribuciones estadísticas de los parámetros del modelo. En la secuencia de experimentos de la figura 1.3, los datos obtenidos modifican las distribuciones de los parámetros del modelo. La incorporación de una dimensión bayesiana en el diseño experimental permite que esta búsqueda de las condiciones de operación con mayor rendimiento/productividad se realice selectivamente sin una exploración exhaustiva de tal suerte que se minimicen los riesgos y las pérdidas evitando condiciones de operación que no aportan información relevante para la optimización (Verdinelli & Kadane, 1992; Dawid & Sebastiani, 1999). El aprendizaje activo propuesto por Raju & Cooney (1998) integrado con la inferencia bayesiana permite no sólo que el analista influya en la información que los datos aportan sino también que se introduzcan los apropiados sesgos para encontrar un razonable equilibrio entre información requerida para optimizar la política y la necesaria exploración para encontrar mejores condiciones de operación.

1.3 Aspectos que lo hacen diferente de lo ya existente y conocido en el área

El diseño de experimentos para la optimización de procesos es una técnica tradicional en estadística clásica y mucho se ha estudiado en este tema. No así en el caso del diseño de experimentos basado en modelos fundamentales. Esta es un área en desarrollo, de especial interés en la ingeniería química debido al gran conocimiento de los fenómenos detrás de los procesos fisicoquímicos. Sin embargo, la principal aplicación que se le ha dado es en el diseño de experimentos para la obtención iterativa de parámetros en el ajuste de modelos (aumento de la precisión paramétrica de los modelos) y la discriminación entre modelos alternativos.

Cuando el objetivo perseguido es la optimización de un proceso, la metodología propuesta en esta rama del diseño de experimentos suele ser: primero, obtener un modelo completo del proceso de alta precisión paramétrica realizando distintos experimentos y, una vez conseguido esto, utilizar dicho modelo para optimizar el proceso.

Como se ha enunciado anteriormente, en el presente trabajo se propone un enfoque diferente: desarrollar el modelo mientras se optimiza el proceso, utilizando una metodología iterativa. De esta manera, los experimentos se realizan en condiciones de operación donde se mejora incrementalmente el rendimiento del proceso, lo que evita obtener información innecesaria de regiones de poco interés práctico para la optimización. Esto causa que la curva de aprendizaje (variación de la performance con respecto a los experimentos realizados) suela ser

más empujada, haciendo que la implementación del proceso de optimización sea más económica y rápida. Además, usando más información de las regiones de alta performance, nos aseguramos de que el modelo capture bien la tendencia del proceso por lo menos en la zona de interés. Esto es de especial importancia cuando hay errores estructurales en el modelo con respecto al proceso real: el modelo no puede ajustar bien en todo el dominio, y al usar datos de regiones de operación muy alejadas del óptimo, se tienen problemas de ajuste que puede llevar a predecir un óptimo erróneo. En el presente enfoque, el uso de modelos de tendencia que se actualizan constantemente elimina ese problema, pues solo los datos útiles son usados para obtener las parametrizaciones. Estos modelos son de validez local, por lo que se combinan con el *feedback* evaluativo de los experimentos realizados para solucionar problemas en la extrapolación. Esta combinación de conocimiento fundamental (modelos) y experimental (*feedback*) proporciona economía y robustez al método. Además, la simpleza de los modelos de tendencia hace que requieran menor costo experimental para su ajuste.

Otro enfoque novedoso de esta metodología es el uso de inferencia bayesiana y aprendizaje activo en el diseño de experimentos. Los modelos de tendencia utilizados en este trabajo son de naturaleza probabilística: utilizando la técnica de *bootstrapping*, en vez de parámetros se obtienen distribuciones de parámetros. Esto permite al modelo expresar la incertidumbre en su predicción. Dicha información tiene varios usos en la optimización de procesos. En procesos innovadores o con gran incertidumbre, donde hay poca información experimental disponible, la inferencia bayesiana es una herramienta útil para guiar el proceso de

optimización teniendo en cuenta tanto la mejora de la performance como la exploración de las regiones desconocidas del proceso. Además, en experimentos dinámicos (como es el caso de reactores y biorreactores que operan por lotes) esta información es sumamente útil para diseñar la toma de muestra óptima a lo largo de la experiencia.

Trabajos similares en el área son los de Bonvin y colaboradores (Bonvin, 1998; Chachuat et al., 2009; Bonvin & Srinivasan, 2013). Estos trabajos utilizan el modelado para optimización y metodologías iterativas en ingeniería de procesos, pero ninguno utiliza un enfoque bayesiano. En este sentido, el antecedente directo son las publicaciones de Cristaldi y colaboradores, desarrolladas en este grupo de trabajo. Ahí se presentan las bases para el enfoque bayesiano en diseño de experimentos basado en modelado para optimización. En estos trabajos, parte de la metodología requiere el continuo refinamiento de las distribuciones de los parámetros del modelo, mediante el incremento de la información experimental generada. En la presente propuesta, un enfoque distinto es utilizado, basado más fuertemente en el concepto de modelado para optimización. El refinamiento de las distribuciones de los parámetros del modelo es dejado de lado como herramienta fundamental. En vez de eso, se busca que los modelos predigan bien la tendencia del proceso en las zonas de alta performance y se usa el *feedback* experimental para verificar esto. Debido a esto, la metodología resultante es esencialmente distinta a la anterior, tanto en sus fundamentos como en su implementación.

1.4 Bibliografía

Asprey, S.; Machietto, S. (2002). "Designing robust optimal dynamic experiments" *J. Process Control*, 12, 545-556.

Benavides, P.T.; Diwekar, U. (2013). "Studying various optimal control problems in biodiesel production in a batch reactor under uncertainty". *Fuel* 103, 585-592.

Berchmans, H. J., Morishita, K., & Takarada, T. (2013). "Kinetic study of hydroxide-catalyzed methanolysis of *Jatropha curcas* waste food oil mixture for biodiesel production". *Fuel*, 104, 46-52.

Bonvin, D. (1998). "Optimal operation of batch reactors". *J. Process Control* 8, 355-368.

Bonvin, D., & Srinivasan, B. (2013). "On the role of the necessary conditions of optimality in structuring dynamic real-time optimization schemes". *Computers & Chemical Engineering*, 51, 172-180.

Cartwright, T. (1994). "Animal cells as bioreactors". Cambridge University Press.

Cristaldi M., Grau R., Martínez E. (2009), "Iterative Design of Dynamic Experiments in Modeling for Optimization of Innovative Bioprocesses". *Chem Product & Process Modeling*, Vol 4, iss 2, Art. 6.

Cristaldi M., Cristea S., Martinez E. (2010). "Run-to-run Convergence Analysis of Model-based Policy Iteration Algorithms for Experimental Optimization of Batch Processes"; *ESCAPE 20*, p. 925-930.

Cristaldi M., Cabrera M.I, Martinez E., Grau R.J: (2011), "Finding the simplest mechanistic kinetic model describing the homogeneous catalytic hydrogenation of

Avermectin to Ivermectin”, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, Vol. 50, 4252–4263, 2011.

Dawid, P.; Sebastiani. P. (1999). “Coherent dispersion criteria for optimal experimental design”. *The Annals of Statistics*, 27, 1, 65–81.

Eevera, T.; Rajendran, K.; Saradha,S. (2009). “Biodiesel production process optimization and characterization to assess the suitability of the product for varied environmental conditions”. *Renewable Energy* 34, 762–765.

Franceschini, G. & Macchietto, S. (2008). “Model-based design of experiments for parameter precision: state of the art”. *Chem. Eng. Sci.*, 63, 4846-4872.

Filippi, C., Bordet, J., Villermaux, J., Marchal-Brassey, S., Georgakis, C. (1989). “Batch reactor optimisation by use of Tendency models”. *Computers and Chemical Engineering* 13, 35-47.

Fotopoulos, J., Georgakis, C., Stenger Jr., H. G. (1998). “Use of Tendency models and their uncertainty in the design of state estimators for batch reactors”. *Chemical Engineering and Processing* 37, 545-558.

Geng, J., Bi, J. X., Zeng, A. P., & Yuan, J. Q. (2013). “Application of hybrid cybernetic model in simulating myeloma cell culture co-consuming glucose and glutamine with mixed consumption patterns”. *Process Biochemistry*, 48(5), 955-964.

Komers, K., Skopal, F., Stloukal,R., Machek, J. (2002). Kinetics and mechanism of the KOH –Catalyzed methanolysis of rapeseed oil for biodiesel production. *European Journal of Lipid Science and Technology* 104, 728–737.

Leung, D.Y.C.; Guo, Y. (2006). "Transesterification of neat and used frying oil: Optimization for biodiesel production". *Fuel Processing Technology* 87, 883–890.

Liu, S. (2012). "Bioprocess Engineering. Kinetics, Biosystems, Sustainability, and Reactor Design"; Elsevier, USA.

Ma,F.; Hanna,M.A. (1999)."Biodiesel production: a review". *Bioresource Technology* 70, 1-15.

Martínez, E. (2000). "Batch process modeling for optimization using reinforcement learning". *Comp. Chem. Eng.*, 24, 1187-1193.

Martínez, E.; Cristaldi, M.; Grau, R. (2009) "Design of Dynamic Experiments in Modeling for Optimization of Batch Processes." *Ind. Eng. Chem. Res.*, Vol 48, iss. 7, 3453-3465.

Martínez, E. C.; Cristaldi, M.; Grau, R. (2013). "Dynamic optimization of bioreactors using probabilistic tendency models and Bayesian active learning". *Computers and Chemical Engineering* 49, 37– 49.

Martínez, E. C.; Wilson, J. A. (2003). "Evolutionary optimization of batch process systems using imperfect models". *Proc. Indian Natl Sci. Academy*, 389-398.

Minnaard, A.J.; Feringa, B.L.; De Vries, J.G. (2007), "Asymmetric hydrogenation using monodentate phosphoramidite ligands". *Acc. Chem. Res.*, 40, 1267-1277

Montgomery, D. C. (2008). "Design and analysis of experiments". John Wiley & Sons.

Raju, G. K., & Cooney, C. L. (1998). "Active learning from process data". *AIChE J.*, 44, 2199-2211.

Randez-Gil, F.; Sanz, P.; Prieto, J. A. (1999). "Engineering baker's yeast: room for improvement". *Trends in biotechnology*, 17(6), 237-244

Royle, K. E., del Val, I. J., & Kontoravdi, C. (2013). "Integration of models and experimentation to optimise the production of potential biotherapeutics". *Drug discovery today*, 18(23), 1250-1255.

Schultz C.S., Krska S. W. (2007), "Unlocking the potential of asymmetric hydrogenation at Merck", *Acc. Chem. Res.*, 40, 1320-1326.

Sedrati, Y., Cabassud, M., Lehann, M. V., & Casamatta, G. (1999). "Sequential experiment design strategy for kinetic parameter estimation". *Comp. Chem. Eng.*, 23, S427-S430.

Saltelli A., Ratto M.; Tarantola S.; Campolongo F. (2006). "Sensitivity Analysis Practices. Strategies for Model-Based Inference". *Reliability Eng. System Safety*, 1109-1125.

Song, H. S., Morgan, J. A., & Ramkrishna, D. (2009). "Systematic development of hybrid cybernetic models: Application to recombinant yeast co-consuming glucose and xylose". *Biotechnology and bioengineering*, 103(5), 984-1002.

Chachuat, B., Srinivasan, B., & Bonvin, D. (2009). "Adaptation strategies for real-time optimization". *Computers & Chemical Engineering*, 33(10), 1557-1567.

Stephanopoulos, G., Ali, S., Linninger, A., & Salomone, E. (1999). "Batch process development: from reactions to manufacturing systems". *Comp. Chem. Engin.*, 23, S975-S984.

Terwiesch, P., Agarwal, M., & Rippin, D. W. T. (1994). "Batch unit optimization with imperfect modeling: a survey". *J. Process Control*, 4, 238-258.

Terwiesch, P., Ravemark, D., Schenker, B., & Rippin, D. W. T. (1998). "Semi-batch process optimization under uncertainty: theory and experiments". *Comp. Chem. Eng.*, 22, 201-213.

Varner, J., Ramkrishna, D. (1999). "The non-linear analysis of cybernetic models. Guidelines for model formulation". *Journal of biotechnology*, 71(1), 67-103.

Verdinelli, I. & J. B. Kadane (1992). "Bayesian Designs for Maximizing Information and Outcome". *J Am. Statistical Association*, 87, 418, 510-515.

Visser, D.; van der Heijden, R.; Mauch, K.; Reuss, M.; Heijnen, S. (2000). "Tendency Modeling: A New Approach to Obtain Simplified Kinetic Models of Metabolism Applied to *Saccharomyces cerevisiae*". *Metabolic Eng.*, 252-275.

Walsh, G. (2007). "Pharmaceutical biotechnology: concepts and applications"; John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England.

CAPÍTULO 2

Modelado para Optimización

CAPÍTULO 2: Modelado para Optimización

En el presente capítulo, se profundizará en el desarrollo de la problemática propuesta (incluyéndose la formulación matemática de la misma), se introducirá el concepto de Modelado para Optimización y se desarrollaron los diversos aspectos relacionados al mismo, preparando el camino para el desarrollo de una metodología dentro de este marco teórico en los capítulos siguientes.

2.1 Problema de Optimización en la Industria de Procesos

En el área de optimización de procesos, el objetivo general es maximizar un índice de performance (o simplemente performance) o minimizar un costo de operación, mientras se cumplen ciertas condiciones (denominadas en la jerga como restricciones). Los parámetros del proceso son las variables manipuladas por el usuario (el técnico encargado del diseño u operación), y están comprendidos dentro de la región de operación. Las respuestas del proceso son las consecuencias de dichos parámetros. Como se mencionó anteriormente, en este trabajo se estudiarán procesos donde la frecuencia de variación es baja en comparación al tiempo requerido para el desarrollo del mismo. Es decir, la variabilidad puede dar lugar a la necesidad de reoptimizar el proceso, pero no ocurre durante el período de desarrollo. En consecuencia, el mismo set de parámetros generarán la misma respuesta del proceso en dos experimentos distintos (salvo por posibles errores de medición).

La formulación tradicional del problema de optimización (teniendo en cuenta el objetivo de maximizar la performance) es:

$$\max_{\mathbf{u}} J_{R(\mathbf{u})}$$

s.t.:

$$\mathbf{C}_{R(\mathbf{u})} \leq \mathbf{0} \quad (\text{P-2.1})$$

$$\mathbf{D}_{R(\mathbf{u})} = \mathbf{0}$$

$$\mathbf{LB} \leq \mathbf{u} \leq \mathbf{UB}$$

Aquí, \mathbf{u} es el vector de condiciones de operación del proceso (denominado también política de operación). J_R es la performance del proceso operando bajo esa política. \mathbf{C}_R es el vector de restricciones de desigualdad, donde cada elemento que representa el exceso en la respuesta o en la operación del proceso respecto de un valor máximo o mínimo. Análogamente, \mathbf{D}_R es el vector de restricciones de igualdad, donde cada elemento representa el exceso en la respuesta o en la operación del proceso respecto de un valor determinado que debe cumplirse. \mathbf{LB} y \mathbf{UB} son los límites inferior y superior de operación, es decir tipos especiales de restricciones que delimitan los valores máximos y mínimos de \mathbf{u} .

La solución de este problema es un set de parámetros u^* que genere una performance máxima cumpliendo con todas las restricciones dadas. Estas últimas pueden ser sobre la operación (es decir, que la política cumpla cierta condición) o sobre la respuesta (que sea el proceso el que deba cumplirla). Además, estas restricciones pueden ser de igualdad (que se cumpla determinado valor) o desigualdad (que no se supere un límite superior o inferior).

Tanto la performance del proceso como el cumplimiento de las restricciones pueden verificarse experimentalmente, operando el mismo con la política u y midiendo las respuestas. Estas mediciones son lo que se denomina información experimental. Lamentablemente, determinar si una dada performance es la máxima no es fácil de verificar. Del mismo modo, tampoco es fácil encontrar políticas que puedan ser candidatas a máximos. Como se comentó en el capítulo anterior, diferentes metodologías de optimización pueden utilizarse para resolver el problema P-2.1. Las metodologías puramente experimentales se basan en interacciones con el proceso para generar información experimental que permita encontrar el óptimo operativo, mientras que las metodologías basadas en modelos utilizan representaciones matemáticas del proceso para hacerlo. Existen también métodos híbridos que combinan aspectos de ambas clases. Este tipo de metodología se desarrolla en esta tesis.

2.2 Modelos matemáticos de procesos industriales

Los modelos matemáticos de procesos buscan representar la realidad física del mismo a través de la matemática. Los modelos deben ser desarrollados con un objetivo claro, es decir, que es lo que se busca predecir o que se busca resolver con

el modelo. En el marco de la optimización de procesos, el objetivo claro es utilizarlo para resolver el problema (P-2.1). Existen diferentes tipos de modelos, en cuanto a su estructura y su construcción, pero en general un modelo para procesos tiene la forma:

$$\mathbf{y} = f(\boldsymbol{\theta}, \mathbf{u}) \quad (2.1)$$

Aquí, \mathbf{y} es el vector de respuestas del proceso, \mathbf{u} es el vector de variables de proceso anteriormente introducido y $\boldsymbol{\theta}$ es el vector de parámetros del modelo. Los elementos de $\boldsymbol{\theta}$ no pueden ser manipulados por el usuario, sino que deben ser ajustados en base a información teórica y experimental para que el modelo represente adecuadamente el comportamiento del proceso. El modelo es representado por f , y su estructura puede variar desde una simple ecuación hasta sistemas de ecuaciones (algebraicas y diferenciales) incluyendo hasta miles de las mismas. Dicha estructura (es decir, las ecuaciones y las operaciones matemáticas que forman las mismas) pueden estar basadas en principios fundamentales o en datos experimentales. En el primer caso, se utilizan principios físicos conocidos para aumentar de manera eficiente la capacidad predictiva del modelo, especialmente útil para extrapolar a condiciones de operación no ensayadas previamente. Los modelos basados en datos experimentales usan expresiones más simples para representar la información disponible y son más fáciles de construir, pero pueden presentar problemas para extrapolar a condiciones desconocidas. En general, ambos tipos de modelos requieren una regresión de la información experimental del proceso para ajustar los parámetros

(aunque algunos procesos pueden ser representados adecuadamente por modelos basados solamente en principios fundamentales y en datos de la bibliografía especializada). Por regresión se entiende a la solución del problema inverso, cuyo resultado es el set de parámetros que mejor ajuste los datos experimentales utilizados para la misma (se volverá sobre esto luego). Usando este modelo, el problema (P-2.1) puede ser reemplazado por:

$$\max_u J_{(\theta,u)}$$

s.t.:

$$\mathbf{y} = f(\boldsymbol{\theta}, \mathbf{u}) \quad (\text{P-2.2})$$

$$\mathbf{C}_{(\theta,u)} \leq \mathbf{0}$$

$$\mathbf{D}_{(\theta,u)} = \mathbf{0}$$

$$\mathbf{LB} \leq \mathbf{u} \leq \mathbf{UB}$$

Aquí J , \mathbf{C} y \mathbf{D} son las predicciones del índice de performance, las restricciones de desigualdad y de igualdad, respectivamente. La restricción adicional indica el modelo que se utiliza para estas predicciones. La hipótesis es que la política óptima

que se halla al resolver (P-2.2) optimiza tanto J como J_R . Este no necesariamente es siempre el caso, debido a los errores del modelo.

Una gran dificultad de los modelos para optimización es representar adecuadamente el comportamiento del proceso en el rango de operación del mismo. Dado que el proceso real suele ser muy complejo, construir modelos que ajusten en todo la región de operación es una tarea difícil. La diferencia entre la predicción del modelo y la respuesta real es el error del modelo. Este puede estar originado por una inadecuada estructura del modelo y por la dificultad en la obtención de los parámetros. El primer motivo tiene a su vez diferentes causas: puede ser por falta de conocimiento sobre los fenómenos físicos del proceso en el caso de modelos basados en principios fundamentales, o por la elección arbitraria de una estructura inadecuada en el caso de modelos basados en datos experimentales. También la incapacidad para medir alguna respuesta del proceso o la falta de recursos para hacerlo pueden motivar el desarrollo de un modelo simplificado que no es capaz de predecir correctamente el comportamiento del sistema. El segundo motivo, en general, se debe a errores de medición en la interacción con el proceso: por errores de diversa índole (humano, instrumental, etc.) las respuestas pueden tener errores en su medición. Si estos errores son aleatorios y están distribuidos en torno al valor verdadero de la respuesta del proceso, puede minimizarse su influencia en la obtención de los parámetros al ajustar los modelos con una cantidad suficiente de datos experimentales, ya que el efecto de exceso o defecto con respecto al valor real tendería a neutralizarse. Este es el motivo principal para realizar una regresión con datos experimentales en vez

de obtener un ajuste con la cantidad mínima de datos. Sin embargo, cabe destacar que en el caso de modelos con errores estructurales, incluso una cantidad muy grande de datos no eliminarían el error total.

En el caso particular de procesos de elevada incertidumbre estudiados en esta tesis, la principal característica es que tanto la información sobre los fenómenos físicos para obtener la estructura exacta de los modelos así como la cantidad necesaria de datos para obtener los parámetros con una alta precisión no están disponibles. Tampoco todas las variables deseadas pueden ser medidas. Esto da lugar a modelos cuyas predicciones pueden estar afectadas por errores. La incertidumbre sobre el proceso se traslada a la predicción de los modelos. Esto afecta el desarrollo del proceso, ya que no solo se desea obtener condiciones óptimas para operar un proceso, sino que además se desea llegar a ese objetivo de una manera eficiente.

2.3 Ajuste del modelo

Ajustar un modelo es obtener los parámetros para que el modelo represente correctamente la información experimental disponible sobre el proceso. Debido a la existencia de errores aleatorios en las mediciones, es deseable utilizar la máxima información posible, de modo que su efecto se minimice. Por otro lado, si existen errores estructurales la combinación de datos de condiciones de operación muy distintas no es recomendable, porque el modelo no puede ajustarse correctamente en todas las condiciones. De esta manera, la selección de qué datos usar forma

parte del problema de modelado. Elegidos que datos se ajustarán, la formulación tradicional del problema de ajuste es un problema inverso:

$$\min_{\theta} E_{(\theta, u, X)}$$

s.t.:

$$y = f(\theta, u) \quad (\text{P-2.3})$$

$$C_{\theta(\theta, u, X)} \leq 0$$

$$D_{\theta(\theta, u, X)} = 0$$

$$LB_{\theta} \leq \theta \leq UB_{\theta}$$

Aquí E es una función que mide la diferencia entre las predicciones del modelo y los datos experimentales X . Los vectores C_{θ} y D_{θ} son restricciones de desigualdad e igualdad que pueden agregarse para forzar al modelo a exhibir ciertas características (por ejemplo, para que ajuste un determinado dato sin error). Como se explico anteriormente, X es un subconjunto de todos los datos generados disponibles, y un determinado experimento puede generar varios datos.

Uno de los enfoques tradicionales es el de cuadrados mínimos, donde E toma la forma:

$$E_{(\theta, u, X)} = \sum_i w_i \left[\left(\frac{y_{i(\theta, u)} - X_i}{X_i} \right) \right]^2 \quad (2.2)$$

Aquí el subíndice i indica el elemento del conjunto de datos experimentales, u es la política utilizada para obtener ese dato, y_i es la predicción correspondiente del modelo y w_i es un factor de peso. Como puede verse, dado los datos experimentales y las políticas con las que se obtuvieron, la solución del problema (P-2.3) es el vector θ que minimiza la función E .

Un enfoque más general es el de la máxima verosimilitud:

$$E_{(\theta, u, X)} = -\prod_i \ln L_{(\theta, u, X)} \quad (2.3)$$

donde L es la verosimilitud de los parámetros del modelo θ , dado los datos X obtenidos bajo la política u . El signo menos se usa para transformar el problema de minimización (P-2.3) a un problema de maximización.

2.4 Tendencia de un modelo

En el marco de modelado para optimización, el objetivo fundamental del modelo es ser un medio para optimizar el proceso. Para eso, es deseable que el *modelo ajuste* bien las respuestas del proceso relacionadas al problema (P-2.1). Cualquier otra predicción del modelo es bienvenida pero no necesariamente es útil para la tarea buscada. Un modelo *ajusta bien* en una condición de operación \mathbf{u} si cumple:

$$\begin{aligned}
 J_{(u)} &\approx J_{R(u)} \\
 \mathbf{C}_{(u)} &\approx \mathbf{C}_{R(u)} \\
 \mathbf{D}_{(u)} &\approx \mathbf{D}_{R(u)}
 \end{aligned}
 \tag{2.4}$$

Por supuesto, si esto se cumple en todo el dominio de \mathbf{u} , luego el óptimo propuesto por el modelo coincidirá con el óptimo real:

$$\begin{aligned}
 J_{R(\mathbf{u}^*)} &\approx J_{R(\mathbf{u}^*_R)} \\
 \mathbf{u}^* &= \mathbf{u}^*_R
 \end{aligned}
 \tag{2.5}$$

Luego resolviendo (P-2.2) se resuelve (P-2.1), que es el objetivo final de todo el procedimiento. Pero que un modelo cumpla con (2.4) en todo el dominio no es

fácil. Su desarrollo puede ser muy costoso, e incluso así garantizar un buen ajuste puede ser imposible debido a los mencionados errores estructurales del modelo.

Para metodologías de optimización con *feedback* experimental, los requerimientos de un modelo pueden ser relajados de alguna manera usando el concepto de *tendencia*. Se define primero la región de mejora para una determinada política \mathbf{u}_0 como sigue:

$$ROI_{(\mathbf{u}_0)} = \left\{ \mathbf{u} \mid J_{R(\mathbf{u})} > J_{R(\mathbf{u}_0)} \right\} \quad (2.6)$$

es decir, la región de mejora está compuesta por todas las posibles variables de operación que tengan una mayor performance que \mathbf{u}_0 . Si el modelo logra capturar la región de mejora en un determinado dominio, se dice que ahí el modelo tiene *buena tendencia*. Luego, en esta región la política óptima \mathbf{u}^* que surge como solución del problema (P-2.2), cumplirá con

$$\mathbf{u}^* \in ROI_{(\mathbf{u}_0)} \quad (2.7)$$

ya que por definición de óptimo, la performance de \mathbf{u}^* debe ser mayor a la de \mathbf{u}_0 , y si el modelo tiene *buena tendencia*, sus predicciones sobre si \mathbf{u}^* mejoran respecto a \mathbf{u}_0 son correctas. Luego dicha política representa una mejora con respecto a la anterior. La información de este experimento puede usarse para actualizar el modelo, de manera que tenga buena tendencia en torno a esta nueva política de

operación (y en una subsiguiente iteración de la metodología \mathbf{u}^* pasa a ser \mathbf{u}_0). De esta manera el requerimiento sobre la predicción del modelo es más cualitativo que cuantitativo, usando el *feedback* experimental como corrección de la política de operación propuesta.

Un modelo de tendencia (*tendency model* o TM) es un tipo de modelo basado en principios fundamentales, que busca capturar la tendencia de un proceso basándose en el *feedback* experimental como efecto corrector. Si bien el modelo de tendencia está basado en principios fundamentales, por lo general se hacen simplificaciones, y ciertas descripciones pueden ser del tipo *black box* o "caja negra". Algunas de las respuestas del proceso pueden ser obviadas o unificadas en otras variables denominadas agregadas o *lumped*. Esto va de acuerdo con el objetivo principal de optimizar el proceso, en vez de describir a la perfección sus respuestas. Una característica típica de estos modelos es que sus simplificaciones dan lugar a errores estructurales, que se agravan al extrapolarse a regiones de operación distintas a las cuales el modelo fue ajustado. Estos problemas de extrapolación hacen que el modelo sea esencialmente *local*. La corrección por *feedback* sirve para salvar estas dificultades. La principal ventaja es que estos modelos son fáciles de formular y, sobre todo, de ajustar.

En la figura 2.1 se ilustra el concepto de *modelado para optimización*. Un proceso tiene una respuesta \mathbf{y} (que es igual a la performance del proceso) para una política \mathbf{u} . En la figura 2.1a se muestra la curva real que relaciona estas variables en línea sólida negra. Esta curva es desconocida para el usuario. Se realizan

muestreos en tres condiciones operativas con el fin de ajustar un modelo de tendencia, cuya relación política/respuesta se indica con cuadrados blancos en la figura 2.1a. El modelo de tendencia se muestra en la figura 2.1b con una línea de trazo gris. Como puede verse, hay una diferencia entre el valor real y el valor predicho por el modelo, especialmente para valor de u alejados de los puntos usados para ajustar el modelo. Sin embargo, ya que el usuario desconoce la relación real entre las variables, el modelo es usado para buscar un óptimo de u . Este óptimo se ensaya en el punto indicado en la figura 2.1c, indicado con un nuevo cuadrado blanco (que al realizarse el experimento se encuentra sobre la curva real). Como puede verse, existe una diferencia entre el valor predicho por el modelo y la respuesta real. Sin embargo, este punto tiene una mejor respuesta (mayor valor de y) que los puntos antes ensayados. Entonces puede decirse que el modelo tiene buena tendencia, ya que produjo una mejora comparado con las políticas anteriores. En la figura 2.1d, el modelo se actualiza utilizando el nuevo punto experimental. Las predicciones de este modelo se representan con la curva de trazos azul. Puede apreciarse que la predicción mejora con respecto al modelo anterior en prácticamente todo el rango mostrado, pero especialmente en la zona de alta performance. El nuevo modelo se usa para obtener un nuevo óptimo, que se indica en la figura 2.1.e. El valor predicho y el obtenido son distintos, pero la brecha es menor y, lo más importante, el valor de la performance es mayor a la obtenida con el modelo anterior. En la figura 2.1f, se muestra en trazo rojo el modelo actualizado usando el último punto experimental obtenido. Puede verse que el modelo predice aún mejor la respuesta real del proceso en varias zonas del dominio de u , especialmente en la de alta performance, y que el óptimo de ambas

curvas se encuentra prácticamente en la misma política. Por ende, una futura optimización y su respectivo ensayo experimental darían una nueva mejora. Este ejemplo cualitativo sirve para ilustrar el uso de modelos de tendencia en la mejora de procesos. Los pormenores de su implementación se desarrollarán en los siguientes capítulos.

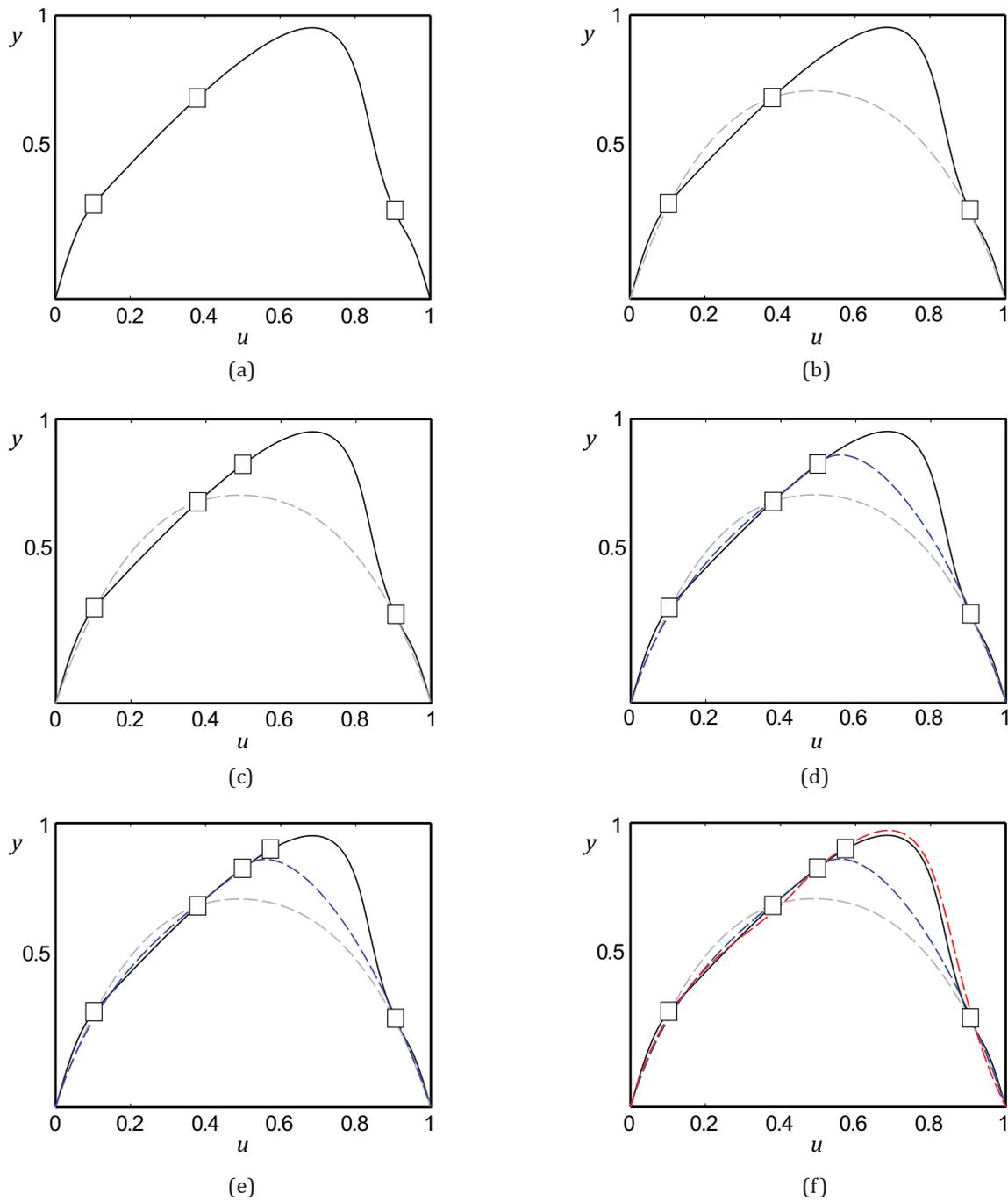


Figura 2.1 - Distintas etapas en la optimización de un proceso usando un modelo de tendencia.

2.5 Modelos probabilísticos de tendencia y Bootstrapping

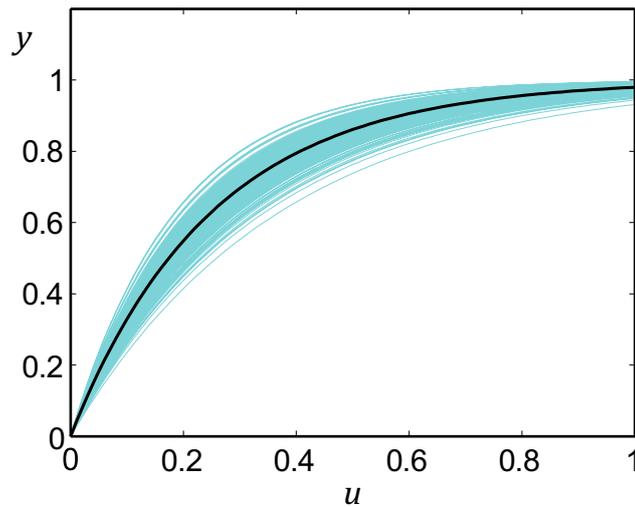
Debido a la poca información disponible, las predicciones de los modelos poseen una elevada incertidumbre asociada. Lógicamente, esto dificulta la optimización del proceso. Un posible enfoque para hacer frente a este problema es el uso de modelos probabilísticos de tendencia (*probabilistic tendency model* o PTM). Los PTM usan variables estocásticas con distribuciones de probabilidad en vez de valores fijos para los parámetros, y por ende sus predicciones también son distribuciones para las respuestas del modelo. Esto permite trabajar con la incertidumbre asociada a la predicción, añadiéndole más posibilidades al desarrollo del problema de optimización.

El vector de parámetros θ es remplazado por el vector estocástico $\tilde{\theta}$. En este, cada elemento es una variable estocástica con una distribución. Muestreando estas distribuciones, se obtiene una muestra θ_i , que puede ser usado en el modelo de tendencia para evaluar una dada política u , dando una predicción y . El proceso puede ser repetido suficientes veces y todas las predicciones pueden ser recolectadas en un vector estocástico \tilde{y} . Esto puede apreciarse en el siguiente ejemplo. Para el modelo:

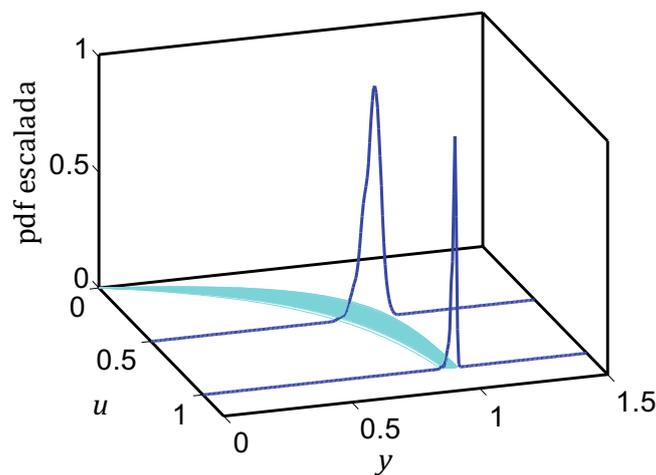
$$y = 1 - \exp(-\theta u) \quad (2.8)$$

donde θ tiene distribución gaussiana de media 4 y desviación estandar 0.5, se genera el vector \tilde{y} , que se muestra en la figura 2.2. En esta pueden verse las

distintas predicciones para y en función de u . En la figura 2.2a se muestra la media de las predicciones (en color negro) y en la figura 2.2b se muestra la función distribución de probabilidad (pdf) escalada, en el eje vertical. Aquí puede verse que la incertidumbre asociada a la respuesta es mayor en $u = 0.5$ que en $u = 1$.



(a)



(b)

Figura 2.2 - (a) Predicciones del modelo presentado en la ecuación (2.8). (b)

Función densidad de probabilidad para dichas predicciones.

Dado que tanto el índice de performance como las restricciones son calculados usando el vector $\tilde{\theta}$, las siguientes predicciones pueden definirse:

$$\bar{J}_{(\tilde{\theta}, u)} = E \left[J_{(\tilde{\theta}, u)} \right]$$

$$pc_{j(\tilde{\theta}, u)} = \Pr \left(C_{j(\tilde{\theta}, u)} \leq 0 \right) \quad (2.9)$$

$$pd_{j(\tilde{\theta}, u)} = \Pr \left(D_{j(\tilde{\theta}, u)} = 0 \right)$$

Esto es, para una dada política u y distribuciones de parámetros $\tilde{\theta}$, \bar{J} es el valor esperado del índice de performance, mientras que pc_j y pd_j son las probabilidades de que una dada restricción de desigualdad o de igualdad se cumpla (los subíndices j indican cada una de varias posibles restricciones). Por ejemplo, un valor alto de \bar{J} asociado con un valor bajo de pc_j (o pd_j) puede ser considerado poco confiable, por lo que un valor menor de \bar{J} pero con mayor pc_j puede ser preferible. Por supuesto, esta confiabilidad se basa solamente en la información experimental recogida, y en como tal información fue usada para obtener el vector $\tilde{\theta}$. Vale la pena recordar que el proceso es en esencia determinístico en sus respuestas con respecto a las condiciones de operación, y que las probabilidades no reflejan posible perturbaciones en la operación del mismo, sino que reflejan la incertidumbre en la predicción del modelo de tendencia debido a la falta de información y conocimiento.

Estas nuevas variables que ofrece el PTM permiten reformular (P-2.2) de la siguiente manera:

$$\max_u \bar{J}_{(\tilde{\theta}, u)}$$

s.t.:

$$\tilde{y} = f(\tilde{\theta}, u)$$

$$pc_{j(\tilde{\theta}, u)} \geq \alpha_j \quad (\text{P-2.4})$$

$$pd_{j(\tilde{\theta}, u)} \geq \beta_j$$

$$LB_{\theta} \leq \theta \leq UB_{\theta}$$

donde \bar{J} , pc_j y pd_j son calculados de acuerdo a la Ec. (2.9). Esta formulación es equivalente a la programación probabilística, un área bien conocida en programación estocástica. Una de las principales ventajas es que ajustando los parámetros α_j y β_j , el usuario puede ajustar la metodología de acuerdo a cuan riesgosa admite que sea la solución obtenida. Altos valores de estos parámetros hacen el procedimiento más conservador, ya que la solución obtenida minimiza la probabilidad de no cumplir las restricciones. Si el óptimo está en una región de operación cercana a las restricciones, la metodología puede tardar más en converger o puede converger a un subóptimo. Por otro lado, valores bajos de los parámetros pueden converger rápido pero al costo de que algunos experimentos queden fuera de especificación.

Para obtener el vector $\tilde{\theta}$ a través de los datos experimentales disponibles, se utiliza el método de *bootstrapping*. En este método, se generan nuevos datos artificiales usando muestreo con remplazo de la información experimental disponible. Para cada uno de estas muestras artificiales, se resuelve el problema (P-2.3), generando un vector θ . Dado que el modelo tiene errores estructurales y que existen errores en las mediciones, los diferentes vectores que son respuesta de (P-2.3) para cada caso pueden variar entre sí. Para cada elemento de θ , los diferentes valores se combinan para dar lugar a una distribución que define el respectivo elemento de $\tilde{\theta}$. La cantidad de muestras generadas artificialmente debe ser suficiente para generar una buena aproximación de la distribución de cada parámetro del modelo.

La figura 2.3 ilustra el proceso de bootstrapping para un proceso con respuesta y para una política u . En la figura 2.3a, la totalidad de los datos originales obtenidos en un experimento (indicados con cuadrados blancos) son ajustados por un modelo (la predicción se indicada con línea sólida negra) cuya parametrización es θ_1 . En la figura 2.3b, se genera un set de datos artificial, eliminando el tercer y quinto dato (contando de izquierda a derecha) del set original y duplicando el segundo y el sexto. La predicción del nuevo modelo, de parametrización θ_2 , generado con este nuevo set se presenta en la figura y, como puede verse, es distinta a la del modelo de la figura anterior. El mismo procedimiento se realiza en la figura 2.3c, pero esta vez el set artificial se genera eliminando los puntos 2 y 4, mientras se duplican los puntos 3 y 5. La predicción del modelo obtenido (de parametrización θ_3) es diferente a los dos casos anteriores. Este procedimiento

puede repetirse, generando nuevas parametrizaciones del modelo hasta obtener el vector probabilístico $\tilde{\theta}$. En la figura 2.3d se muestran todos los puntos originales, acompañados de la predicción del modelo probabilístico, donde la línea sólida indica el promedio de las predicciones, la zona celeste (más intensa en el centro) representa la densidad de la probabilidad y la línea de trazos indica los límites a partir de los cuales la probabilidad es nula o despreciable.

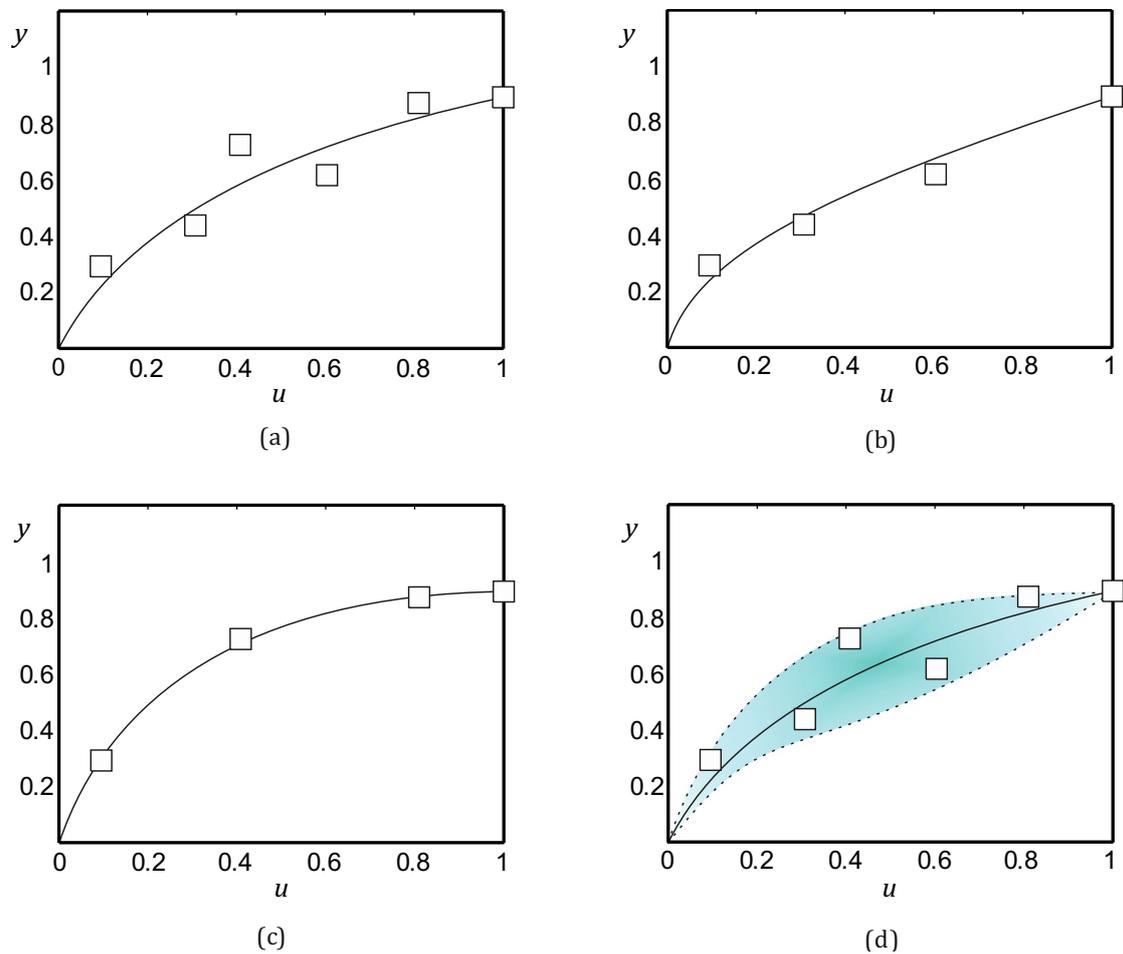


Figura 2.3 - Ilustración del procedimiento de *Bootstrapping*.

2.6 Problema de desarrollo

Como se enunció anteriormente, el problema de desarrollo de procesos óptimos no busca solamente encontrar políticas que maximicen la performance del mismo. También es deseable que la búsqueda sea realizada de una manera rápida y/o económica. En base a esto, se formula el problema de desarrollo como sigue:

$$\min_{\mathbf{U}} \varphi(\mathbf{U})$$

s.t.: (P-2.1)

(P-2.5)

Aquí \mathbf{U} es la matriz compuesta por todas las políticas usadas en los distintos experimentos del proceso de desarrollo y φ es el costo de desarrollo. Este último puede definirse de distintas maneras, dependiendo de las características del proceso. Por ejemplo, si el producto del proceso puede venderse o utilizarse con un fin económico (ej.: sustituir el mismo producto que de otra forma debería ser comprado para usarse en otro proceso), una buena definición es:

$$\varphi = \sum_i J_{R(u_i)} - J_{R(u_R^*)} \quad (2.10)$$

es decir, la diferencia acumulada entre el máximo beneficio posible y el beneficio de cada lote. Queda así contabilizada la pérdida de performance generada por operar en condiciones subóptimas. En otros casos, el costo de cada experimento

debe ser considerado (en especial en casos donde el producto no puede ser utilizado).

Obviamente, la solución trivial es obtener la política óptima en una iteración. Pero dado que el comportamiento del proceso no es conocido a la perfección, (P-2.1) no puede resolverse *a priori*. Por lo tanto, es necesario generar información sobre el mismo, lo que requiere experimentos y aumenta el costo de desarrollo. Sea cual sea la metodología propuesta, la formulación del problema (P-2.4) es aplicable a todas, de manera que estas deben hacer un uso eficiente de sus interacciones con el proceso de manera de minimizar su costo.

Una de las ventajas de los métodos que utilizan *feedback* experimental como el propuesto en esta tesis, es que realizan la mayoría de sus experimentos en la zona de alta performance. Esto es doblemente beneficioso, ya que si el costo está relacionado con la performance este será menor, y además se evitan zonas de poco interés práctico, reduciendo el número de experimentos.

2.7 Diseño de experimentos

El diseño de experimentos es una técnica que permite planificar el desarrollo de una actividad experimental para cumplir un determinado objetivo relacionado a la información que será generada. En el marco de *modelado para optimización*, dicha información será utilizada para el ajuste del modelo que será usado para optimizar la política. Dado que este tiene una importancia central en el método de

optimización, mientras mejor sea el ajuste más eficiente será el proceso. Por lo tanto, siempre es deseable que un experimento sea lo más informativo posible.

Por otro lado, las variables del proceso que pueden manipularse para hacer un proceso más informativo pueden ser las mismas que se manipulan para optimizar la performance de un proceso. Esto implica que ambos objetivos sean en muchos casos contrapuestos, ya que las condiciones de operación que maximizan la información y las que maximizan la performance pueden no ser las mismas. Algunos elementos de la política relacionados a la informativa generada no afectan la performance del proceso (por ejemplo los tiempos de muestreo o la inyección de un trazador), pero como regla general si un elemento afecta la performance del proceso afectará también la información generada. Para facilitar el proceso de optimización, se define la política ampliada Ψ de la siguiente manera:

$$\Psi = [u, \psi] \quad (2.11)$$

donde u incluye los elementos de la política que afectan a la performance de proceso y ψ a los elementos que no lo hacen. Luego, en los problemas (P-2.2) y (P-2.4) debe reemplazarse u por Ψ .

Una forma de conciliar los objetivos contrapuestos es incorporar en la función objetivo del problema de optimización una funcionalidad con la información generada:

$$J = \lambda J_p + (1 - \lambda) J_I \quad (2.12)$$

donde J_p es la performance del proceso, J_I es la performance informativa y λ es un factor de peso. La performance informativa debe representar cuantitativamente la información generada por el proceso que será usada para ajustar los parámetros del modelo. Existen varias formas de hacerlo: midiendo los efectos en la performance del proceso de (i) los elementos de la política o (ii) de los parámetros del modelo y (iii) midiendo los efectos de los parámetros del modelo en el ajuste del mismo. Todas estas medidas se hacen a través de un análisis de sensibilidad, cuyo resultado son los índices de sensibilidad SI . Dependiendo de lo que se decida medir será el tipo de análisis a realizar. Una vez obtenidos estos índices, puede definirse la matriz de sensibilidad Q . En la siguiente sección se abordará la realización del análisis de sensibilidad y de la construcción de la matriz. En base a esta última, diferentes criterios pueden seleccionarse para definir un escalar que sirve como función objetivo J_I .

Uno de los criterios típicos es el denominado criterio M, por el cual:

$$J_I = \det(Q^T \cdot Q) \quad (2.13)$$

Un valor de λ cercano a 0 en la ecuación implica que el problema prioriza la identificación del modelo sobre la performance del proceso y puede generar condiciones de operación que sean de poco interés industrial. Esto es lo normal en una metodología que se basa en modelos complejos sin *feedback*. En el marco propuesto de modelado para optimización, es preferible lo opuesto, es decir, priorizar una alta performance. Cuando λ tiende a 1, la influencia de la

información generada en la función objetivo es nula, y la adopción de los elementos de \mathbf{u} se basa solamente en su efecto sobre la performance del proceso.

La adopción de los elementos de ψ puede hacerse a posteriori, es decir, una vez que \mathbf{u} está ya definido. En ese caso, el problema se formula:

$$\max_{\psi} J_I$$

s.t.:

$$\mathbf{C}_{\psi} \leq \mathbf{0} \quad (\text{P-2.6})$$

$$\mathbf{D}_{\psi} = \mathbf{0}$$

$$\mathbf{LB}_{\psi} \leq \psi \leq \mathbf{UB}_{\psi}$$

donde \mathbf{C}_{ψ} y \mathbf{D}_{ψ} son restricciones de desigualdad y de igualdad, y \mathbf{LB}_{ψ} y \mathbf{UB}_{ψ} son límites inferior y superior, respectivamente. Esto permite maximizar la información generada sin afectar la performance del proceso. Este es el enfoque adoptado en la metodología desarrollada en esta tesis.

2.8 Análisis de sensibilidad

El análisis de sensibilidad (AS) es una herramienta muy útil en el estudio de un sistema, que permite medir el efecto de las entradas en las respuestas del mismo. En el caso de modelado para optimización, el AS puede relacionar las respuestas de un proceso a la política de operación para un modelo determinado, o puede relacionar el ajuste del modelo a los parámetros del mismo para una política dada. Ambos enfoques tienen gran utilidad en el desarrollo de la metodología aquí planteada.

Existen diferentes formas de definir matemáticamente la sensibilidad de un parámetro o variable. En procesos donde la incertidumbre es considerable, resulta muy útil hacerlo de la siguiente forma:

$$S_i = \frac{V_i}{V} \quad (2.14)$$

donde S_i representa el índice de sensibilidad i , que relaciona V_i , la varianza atribuida al factor i , con la varianza total del proceso V . Esta definición de S_i permite no solo relacionar el efecto mecánico de la variable, sino también el de la incertidumbre del modelo. El cálculo del AS se abordará en el siguiente capítulo.

Una de las aplicaciones de mayor utilidad en el presente contexto es el uso del AS para diseño de experimentos. Para eso, se define la matriz de sensibilidad Q en base a los índices de sensibilidad S_{ij} . Una forma útil de hacerlo es:

$$Q = \begin{pmatrix} S_{11} & \dots & S_{1m} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ S_{n1} & \dots & S_{nm} \end{pmatrix} \quad (2.15)$$

donde el primer subíndice n indica la sensibilidad respecto de un elemento de \mathbf{u} y el segundo subíndice m indica que está evaluado en la condición experimental correspondiente a $\boldsymbol{\psi}$. Esta funcionalidad de Q con $\boldsymbol{\psi}$ permite diseñar el experimento que maximice J_i .

2.9 Resumen del capítulo

La optimización de procesos es una práctica común pero compleja en la práctica industrial, que requiere el uso de técnicas especializadas para ser resuelta de manera eficaz y eficiente. Una de las herramientas más útiles (y quizás poco empleada en la práctica industrial, aunque ampliamente usada en la académica) es el modelado matemático de los procesos. Un modelo es una representación matemática del comportamiento de un proceso, que permite predecir y analizar las relaciones entre las variables de operación y la respuesta del sistema. De esta manera, el procedimiento de optimización puede realizarse de manera inteligente y económica usando el modelo, ya que este permite incorporar información a

priori del proceso y principios fundamentales para definir rápidamente las regiones de mayor performance. Se propone para este fin el uso *modelado para optimización*: el uso de modelos de tendencia (creados con el fin de mejorar la performance) que utilizan el *feedback* experimental para actualizarse de manera que, a través de interacciones con el proceso, se logre la mejora del mismo de manera iterativa. Luego, el problema de optimización se divide en dos sub problemas: uno de ajuste del modelo y otro de optimización basado en el mismo, vinculados a través de la verificación experimental (que cumple la función tanto de proveer datos para el ajuste como medio para verificar la mejora propuesto por el modelo).

El desarrollo de modelos detallados para procesos innovadores puede resultar dificultoso, ya que habitualmente la información experimental es escasa y el conocimiento sobre la naturaleza del proceso es incompleta. La incertidumbre generada en las predicciones puede ser reflejada mediante el uso de modelos probabilísticos de tendencia, obtenidos mediante la técnica de *bootstrapping*, que utilizan distribuciones de parámetros en lugar de parámetros fijos. El análisis de sensibilidad del modelo permite obtener información adicional sobre la relación de la respuesta de un proceso con sus variables de entrada, y resulta fundamental para realizar el diseño de experimentos. En esta técnica, se definen todas las variables que tendrá un experimento, desde la política de operación hasta la toma de información del mismo. La combinación entre el modelado matemático, el diseño de experimentos y el *feedback* experimental del proceso, aplicados de manera iterativa, son la base del método propuesto en esta tesis.

2.10 Bibliografía usada en este capítulo

Avriel, M. (2003). *Nonlinear programming: analysis and methods*. Courier Corporation.

Biegler, L. T., Lang, Y. D., & Lin, W. (2014). Multi-scale optimization for process systems engineering. *Computers & Chemical Engineering*, 60, 17-30.

Bonvin, D. (1998). Optimal operation of batch reactors—a personal view. *Journal of process control*, 8(5), 355-368.

Georgakis, G., 1995. Modern tools of process control: The case of black, gray and white models. *Entropie* 194, 34-48.

Joshi, M., Seidel-Morgenstern, A., & Kremling, A. (2006). Exploiting the bootstrap method for quantifying parameter confidence intervals in dynamical systems. *Metabolic engineering*, 8(5), 447-455.

Lundstedt, T., Seifert, E., Abramo, L., Thelin, B., Nyström, Å., Pettersen, J., & Bergman, R. (1998). Experimental design and optimization. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 42(1), 3-40.

Martínez, E. C., Cristaldi, M. D., & Grau, R. J. (2013). Dynamic optimization of bioreactors using probabilistic tendency models and Bayesian active learning. *Computers & Chemical Engineering*, 49, 37-49.

Sahinidis, N. V. (2004). Optimization under uncertainty: state-of-the-art and opportunities. *Computers & Chemical Engineering*, 28(6), 971-983.

Saltelli, A., Ratto, M., Tarantola, S., & Campolongo, F. (2005). Sensitivity analysis for chemical models. *Chemical reviews*, *105*(7), 2811-2828.

Srinivasan, B., Palanki, S., & Bonvin, D. (2003). Dynamic optimization of batch processes: I. Characterization of the nominal solution. *Computers & Chemical Engineering*, *27*(1), 1-26.

Srinivasan, B., Bonvin, D., Visser, E., & Palanki, S. (2003). Dynamic optimization of batch processes: II. Role of measurements in handling uncertainty. *Computers & Chemical Engineering*, *27*(1), 27-44.

Troup, G. M., & Georgakis, C. (2013). Process systems engineering tools in the pharmaceutical industry. *Computers & Chemical Engineering*, *51*, 157-171.

Zhang, W., Binns, M., Theodoropoulos, C., Kim, J. K., & Smith, R. (2015). Model building methodology for complex reaction systems. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, *54*(16), 4603-4615.

CAPÍTULO 3

Optimización experimental

CAPÍTULO 3: Optimización experimental

En este capítulo, se desarrollará un método de optimización basado en modelos con *feedback* experimental. Primero se presentará la estructura del método con sus diferentes etapas, para posteriormente analizar éstas y los algoritmos que las constituyen. Se concluye el capítulo con ejemplos de aplicación.

3.1 Esquema de optimización experimental

Como se enunció en los capítulos anteriores, debido a los errores entre las predicciones del modelo y el comportamiento real del proceso, una de las propuestas es utilizar un esquema de dos etapas: primero se utiliza la información experimental para ajustar el modelo, y una vez obtenido éste, se optimiza la política de operación; con esta nueva política, se realiza un experimento que genera más información que puede ser usada para actualizar el modelo. El ciclo puede ser repetido con el objetivo de mejorar continuamente la performance.

Intentar ajustar un modelo con error en todo el dominio de operación puede generar un ajuste mediocre, incluso en la región de interés, lo que puede dar lugar a predicciones de óptimos espurios. Por este motivo, en este trabajo se prefiere utilizar datos de un único experimento perteneciente a la región de alta performance para ajustar el modelo. En cada iteración, el modelo ajusta mejor en la zona de interés, lo que facilita la predicción de mejores condiciones de operación. Lamentablemente, las predicciones pueden proponer una política óptima que en realidad genere una disminución en la performance, debido a que los modelos tienen mayor error al ser utilizados para predecir respuestas en condiciones de operación distintas a las usadas para ajustarlo. Un nuevo ajuste

puede ser realizado con la información generada en el "falso" óptimo, pero esto trae problemas: se estaría usando un modelo que ajusta mejor en condiciones de menor performance, lo que iría en contra de lo propuesto anteriormente. Esto puede dificultar el proceso de optimización, ya sea ralentizándolo (lo que aumentaría el costo de desarrollo) o incluso puede dar lugar a problemas de convergencia. Estos últimos serán estudiados en el capítulo siguiente. La propuesta para solucionar dichos problemas es una etapa adicional en el ciclo de 2 etapas. Esta etapa se activa solamente si una predicción da lugar a una performance menor que la mejor obtenida hasta el momento, y lo que se hace es reducir la región de operación, para dejar fuera las condiciones operativas indeseables. El problema de optimización del proceso vuelve a resolverse en un dominio reducido sin hacer un nuevo ajuste del modelo.

Con base en lo expuesto aquí, se propone la metodología adjunta en la figura 3.1. Primero, se realiza un experimento exploratorio para obtener los primeros datos experimentales del proceso. Generados estos datos, se inicia el ciclo iterativo. Inicialmente se ajusta el modelo; con el modelo obtenido, se diseña el experimento (política de operación y estrategia de muestreo). Finalmente, se lleva a cabo el experimento y se analizan los resultados. Si la performance mejoró, puede iniciarse una nueva iteración del ciclo desde la etapa de ajuste del modelo. Si no lo hizo, se activa un segundo ciclo donde la región de operación se reduce en torno a las condiciones de operación encontradas en la iteración anterior (o el experimento exploratorio), que fueron las utilizadas para obtener el modelo. El modelo no se actualiza, y el diseño del experimento se realiza en la región reducida. Se realiza el experimento y si la performance mejora, se vuelve al ciclo inicial y la región de

búsqueda vuelve a ser la original. Si la performance no mejora, el segundo ciclo vuelve a activarse y la región se reduce nuevamente. El método se detiene cuando se cumple alguno de los criterios de parada. Estos pueden estar relacionados a la convergencia del método (que la política propuesta en dos iteraciones sucesivas sea prácticamente la misma) o al esfuerzo experimental máximo (número de experimentos totales por iteración o presupuesto disponible para desarrollo). Cuando se cumple el criterio, se revisan todas las políticas probadas y se elige aquella que haya dado mejor performance en el experimento real. A continuación se desarrollaran los diferentes aspectos y etapas de la metodología.

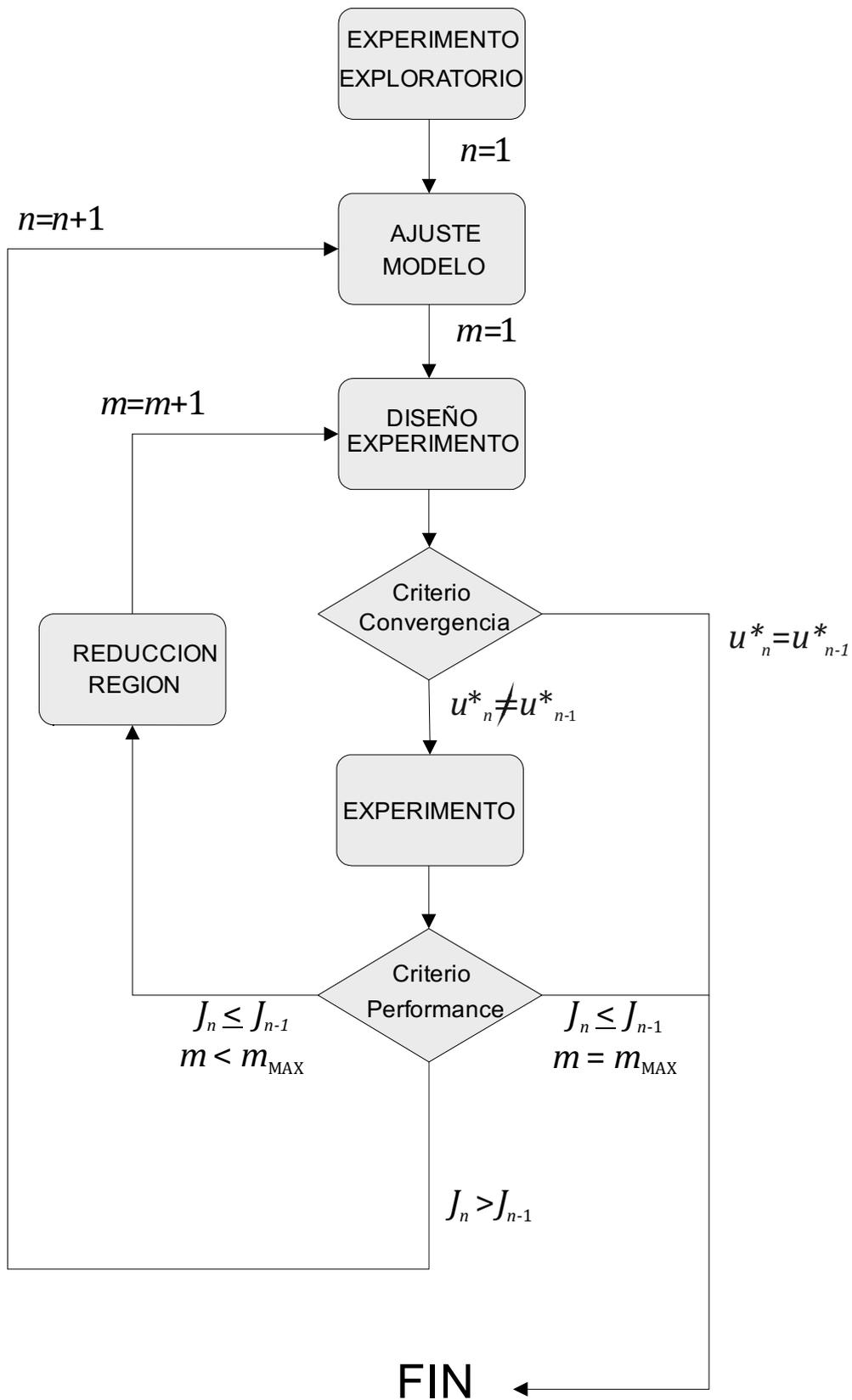


Figura 3.1 - Esquema de optimización propuesto

3.2 Algoritmo para ajuste del modelo y Bootstrapping

Para obtener la distribución de parámetros del modelo, el problema (P-2.3) debe ser resuelto repetidamente usando información obtenida en los experimentos. Para resolver (P-2.3), es necesario definir los límites inferiores y superiores de los parámetros. Mientras más acotado sea el dominio, más fácil será la resolución del problema. En general, estos valores se fijan en base a conocimiento sobre el comportamiento del proceso, que puede venir de la bibliografía o de experiencias exploratorias en laboratorio o planta piloto. El Algoritmo 3.1 describe el procedimiento para la obtención de distribuciones de los parámetros en el modelo:

- Resolver (P-2.3) para los datos iniciales \mathbf{X}_0
- Compilar el vector $\boldsymbol{\theta}_0$
- ▷ Loop : para $k = 1$ a N
 - Generar nuevos datos \mathbf{X}_k usando resamplero con sustitución
 - Resolver (P-2.3) para los datos \mathbf{X}_k
 - Compilar el vector $\boldsymbol{\theta}_k$
- ▷ fin Loop
- Usar todos los $\boldsymbol{\theta}_k$ para obtener el vector de distribuciones de parámetros del modelo $\tilde{\boldsymbol{\theta}}$

Algoritmo 3.1 - Bootstrapping

El valor de N debe ser suficientemente grande y es fijado por el usuario. Para generar un nuevo set de datos experimentales a partir del original, se realiza un re-muestreo con sustitución. De esta manera, al resolver el problema (P-2.3) el vector de parámetros del modelo será distinto del original. Para cada elemento de $\boldsymbol{\theta}$ se cuenta con diferentes valores, que al compilarse aproximan las

distribuciones. Cada elemento del vector probabilístico $\tilde{\theta}$ es una variable estocástica con una distribución.

3.3 Algoritmos para diseñar el experimento

La política óptima puede obtenerse usando modelos probabilísticos de diferentes formas. En este trabajo se presentan dos enfoques distintos: el primero, basándose en la solución del problema (P-2.4) tal cual está planteado. El segundo es una simplificación para el caso en el que no hay restricciones que deban calcularse usando el modelo. Este último es útil debido a que es más fácil de implementar desde el punto de vista computacional.

3.3.1 Enfoque I

Para el primer enfoque, se desea calcular si se cumplió la restricción o no. Se definen las funciones:

$$\xi^c_{j(\theta,u)} = \begin{cases} 1 & \text{si } C_{j(\theta,u)} \leq 0 \\ 0 & \text{c.o.c} \end{cases} \quad (3.1)$$

$$\xi^d_{j(\theta,u)} = \begin{cases} 1 & \text{si } D_{j(\theta,u)} = 0 \\ 0 & \text{c.o.c} \end{cases}$$

Se propone el Algoritmo 3.2 para calcular la función objetivo y las restricciones:

- Para una determinada política \mathbf{u} :
 - ▷ Loop : para $k = 1$ a N
 - Generar un vector $\boldsymbol{\theta}_k$ sampleando $\tilde{\boldsymbol{\theta}}$
 - Evaluar el modelo para generar y_k
 - A partir de y_k , calcular J_k , \mathbf{C}_k y \mathbf{D}_k
 - Calcular $\xi_{\mathbf{c}_k}$ y $\xi_{\mathbf{d}_k}$ usando \mathbf{C}_k y \mathbf{D}_k
 - ▷ fin Loop
- A partir de los J_k , $\xi_{\mathbf{c}_k}$ y $\xi_{\mathbf{d}_k}$, calcular \bar{J} , \mathbf{pc} y \mathbf{pd} como los promedios de estos

Algoritmo 3.2 - Cálculo de los estadísticos

Aquí nuevamente el usuario debe elegir el valor de N . Debido que este procedimiento debe realizarse una cantidad N de veces para cada evaluación del modelo, el costo computacional puede resultar elevado. Es deseable utilizar métodos de optimización eficientes para resolver el problema (P-2.4).

Una vez obtenida la política óptima, se desarrolla la estrategia de muestreo. Según lo expuesto en el capítulo anterior, es necesario el cálculo de la matriz de sensibilidad. Para el primer enfoque, se estudia la sensibilidad de la performance a los parámetros del modelo, usando la política óptima.

Para evaluar la función objetivo J , para cada vector candidato a muestreo óptimo \mathbf{ts} , se usa el Algoritmo 3.3:

- Realizar el GSA para cada elemento del vector de tiempo \mathbf{ts} . Obtener los índices SI .
- Calcular la matriz Q usando los SI .
- Calcular el determinante $\det(Q^T \cdot Q)$.

Algoritmo 3.3 - Cálculo de $\det(Q^T \cdot Q)$

Este procedimiento también es muy demandante computacionalmente. Debido a que los SI son independientes entre sí, una alternativa para una búsqueda más eficiente es evaluarlos a determinados espacios de tiempo y ajustar los perfiles temporales con algún tipo de interpolador. Esto permite evaluar rápidamente el vector \mathbf{ts} , usado para resolver el problema (P-2.6).

3.3.2 Enfoque II

Para el segundo enfoque, en vez de resolver el problema (P-2.4), se resuelve (P-2.2) repetidamente, para obtener un vector probabilístico de políticas $\tilde{\mathbf{u}}$. Con este vector se obtiene \mathbf{u}^* usando una métrica adecuada (por ejemplo la media o el modo):

- ▷ Loop : para $k = 1$ a N
 - Samplear la distribución de parámetros del modelo $\tilde{\theta}$ para generar θ_k
 - Resolver (P-2.2) usando θ_k para obtener \mathbf{u}_k
- ▷ fin Loop
 - Usar todos los \mathbf{u}_k para obtener el vector de distribución de parámetros de la política $\tilde{\mathbf{u}}$
 - Elegir \mathbf{u}^* usando la métrica seleccionada

Algoritmo 3.4 - Cálculo de las distribuciones para la política de operación

Para obtener el esquema de muestreo óptimo, puede usarse un análisis de sensibilidad de la performance con respecto a los parámetros del modelo o a los elementos de la política. Este último resulta más interesante en el marco del modelado para optimización y es el adoptado aquí. El esquema de cálculo en este caso es el mismo que en el enfoque I (Algoritmo 3.3), pero fijando un set de parámetros del modelo (tomando valores promedio de los mismos, por ejemplo) y usando las distribuciones de los elementos de la política.

Es importante notar que en este enfoque, no se tiene en cuenta la probabilidad de cumplir las restricciones en base a la incertidumbre del modelo. Por este motivo, no se recomienda para casos donde las restricciones deban ser calculadas a partir del modelo.

3.4 Criterios de mejora y de parada

El criterio de mejora analiza si el experimento diseñado generó un aumento en la performance. Este análisis debe hacerse obviamente sobre el resultado de los experimentos y no sobre las predicciones de los modelos. El incremento puede medirse en valor absoluto o relativo, y puede imponerse como criterio un aumento mínimo ϵ :

$$J_{R\ k+1} - J_{R\ k} > \epsilon \quad (3.2)$$

o

$$\frac{\|J_{R\ k+1} - J_{R\ k}\|}{\|J_{R\ k}\|} > \epsilon \quad (3.3)$$

Como se mencionó anteriormente, si el criterio de mejora no se cumple, el segundo bucle se activa, reduciéndose la región de optimización y repitiendo el diseño del experimento.

Los criterios de parada pueden agruparse en dos categorías: convergencia de la política y límite en la experimentación. Los primeros tienen que ver con la diferencia entre dos políticas sucesivas, y pueden medir diferentes normas:

$$\frac{\|\mathbf{u}_{k+1} - \mathbf{u}_k\|}{\|\mathbf{u}_k\|} < \varepsilon \quad (3.4)$$

o

$$\max_j \left(\frac{|\mathbf{u}_{k+1(j)} - \mathbf{u}_{k(j)}|}{|\mathbf{u}_{k(j)}|} \right) < \varepsilon \quad (3.5)$$

Una vez cumplido este criterio, el desarrollo se considera completo y la metodología se detiene.

El otro tipo de criterio está referido a la repetición del segundo bucle: si el criterio de mejora no se cumple, el segundo bucle reduce la región de optimización y el problema de diseño de experimentos se resuelve nuevamente. Puede esperarse que si la región de búsqueda se reduce suficientes veces, el criterio de parada referido a la convergencia de la política se cumpla. Sin embargo, esto puede demorar mucho en la práctica o ser muy costoso experimentalmente. Por lo tanto, el máximo número de experimentos por iteración m_{MAX} puede fijarse como criterio de parada. Otra limitación es el presupuesto que se asigna a un problema de

desarrollo: el máximo número de experimentos o el costo de estos puede ser fijado de antemano, funcionando como criterio de parada alternativo.

$$m = m_{\text{MAX}} \quad (3.6)$$

Una vez que se cumple un criterio de parada, la política elegida como óptima es aquella que haya dado una mejor performance entre todas las ensayadas experimentalmente.

3.5 Algoritmo para la reducción de la región de optimización

La reducción de la región de operación es uno de los elementos fundamentales en la metodología propuesta, ya que facilita la convergencia y robustez del método usando el *feedback* informativo del proceso real. Una vez confirmada la activación del segundo bucle, la región de búsqueda se reduce de manera de eliminar las condiciones experimentales que, ensayadas experimentalmente, no cumplieron con el criterio de mejora. El siguiente algoritmo permite realizar la reducción deseada:

- ▷ Loop : para cada elemento de \mathbf{u}
- Si el elemento de la política propuesta es menor que el correspondiente elemento de la política óptima de la iteración anterior $u_{n-1(j)}$, fijar el nuevo límite inferior como:

$$LB_{(j)} = u_{n-1(j)} + (u_{n(j)} - u_{n-1(j)})sf$$
 - Si el elemento de la política propuesta es mayor que el correspondiente elemento de la política óptima de la iteración anterior $u_{n-1(j)}$, fijar el nuevo límite inferior como:

$$UB_{(j)} = u_{n-1(j)} + (u_{n(j)} - u_{n-1(j)})sf$$
- ▷ fin Loop

Algoritmo 3.5 - Reducción de la región de operación

Aquí, sf es el factor de reducción, uno de los parámetros del método que debe ser seleccionado por el técnico. La reducción es seguida del diseño de experimentos en la nueva región de operación y por la ejecución de dicho experimento. Se verifican los criterios y el segundo bucle puede activarse nuevamente, reduciendo aún más la región de operación. Si se genera una mejora y comienza una nueva iteración, la región de operación vuelve a sus valores originales. Una ilustración de la reducción propuesta, para una política con dos variables, puede verse en la figura 3.2:

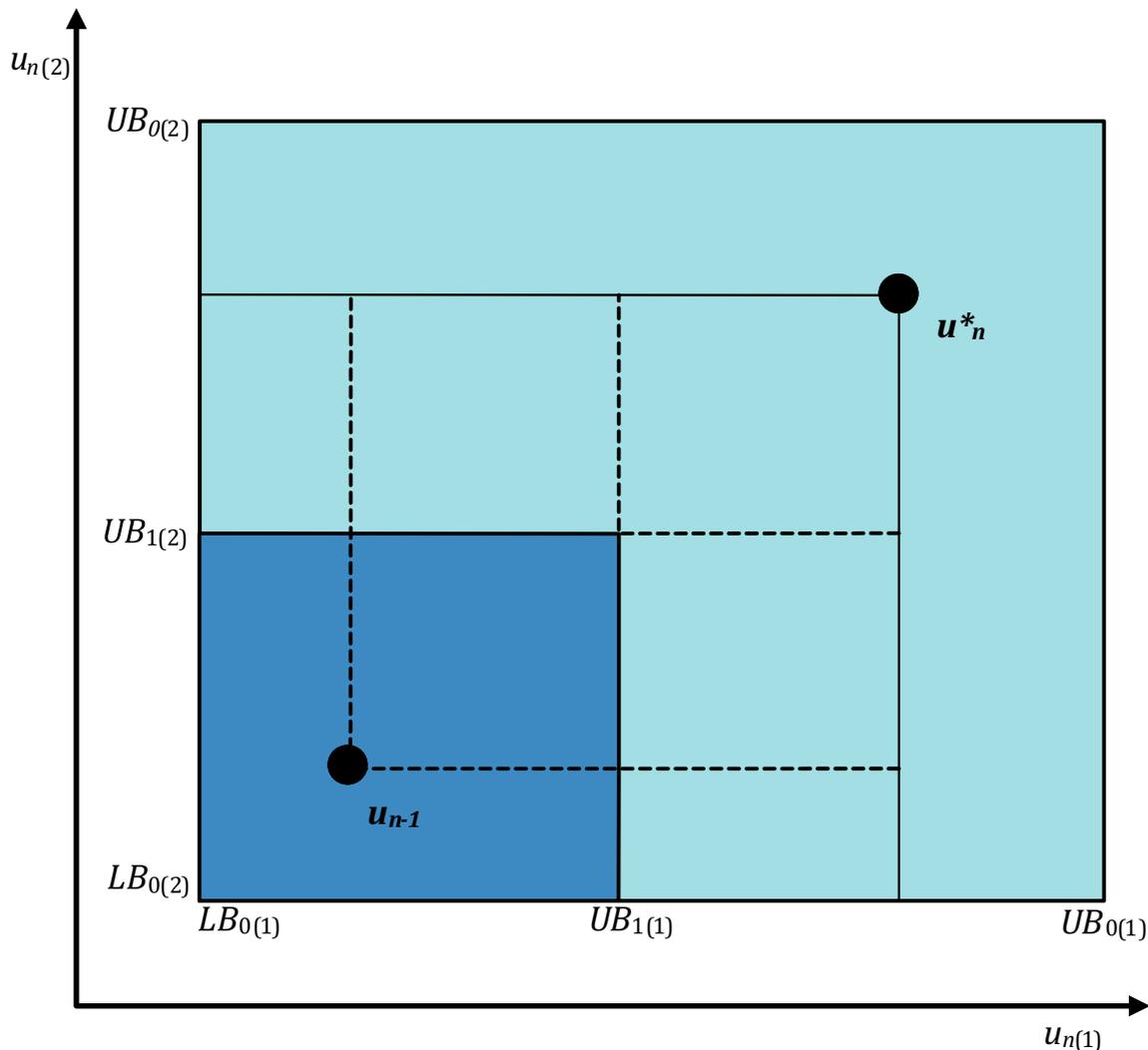


Figura 3.2 - Reducción de la región de optimización

Aquí, la región en tono claro es la región inicial. Luego de probar la política \mathbf{u}^* que no cumplió el criterio de mejora, se aplica el algoritmo de reducción propuesto, que genera los nuevos límites de la región. La nueva región, en tono oscuro, excluye la condición \mathbf{u}^* que no generó la mejora necesaria. El factor de reducción en este caso es 0.5.

3.6 Casos de estudio

Con el objetivo de ilustrar la aplicación de la metodología, se desarrollan tres ejemplos de interés industrial, con resultados generados vía simulación. El primer ejemplo trata sobre el desarrollo de una síntesis para un principio activo en la industria farmacéutica, que se realiza de manera fed-batch. En este proceso se presentan restricciones sobre los subproductos (impurezas) generados, por lo que es un caso interesante para la aplicación del enfoque I para el diseño de experimentos. El segundo ejemplo aborda el problema de la producción batch de biodiesel a partir de distintas materias primas. Inicialmente, se obtiene la política de operación para una determinada materia prima. Luego se ilustra como el cambio de materia prima genera una caída en la performance, que conduce a una nueva optimización y una eventual mejora en la performance. Debido a que este problema no tiene restricciones que deban ser modeladas, es un ejemplo adecuado para el enfoque II. Finalmente, se presenta el ejemplo de producción de biomasa de células animales en modo fed-batch. Este problema es muy común en la industria bio-farmacéutica, donde los microorganismos son usados como catalizadores para la producción de principios activos. En este caso, se utiliza una política más compleja que en los casos anteriores y también se compara experimentalmente la metodología con otros enfoques de optimización distintos. Además, este problema guarda gran similitud con el ejemplo experimental presentado luego en esta tesis (capítulo 5).

3.6.1 Ejemplo 1: Síntesis de un principio activo

Un típico problema de la industria farmacéutica es la síntesis de un principio activo farmacéutico (API, por sus siglas en inglés) novedoso, cuyo proceso productivo tiene altos niveles de incertidumbre. Este problema es de especial interés, porque muchas drogas son descubiertas cada año, pero solo unas pocas llegan a la etapa de pruebas clínicas. Para poder ganar una porción del mercado, el producto debe estar disponible comercialmente a la mayor brevedad posible, lo que reduce el tiempo de desarrollo para el proceso. El hecho de que los API seleccionados son solo una pequeña fracción del total descubierto, hace que el esfuerzo puesto en generar conocimientos sobre estos productos sea retrasado hasta etapas avanzadas del desarrollo. Debido a que las pruebas clínicas son un cuello de botella, es deseable resolver este problema de la manera más eficiente posible, sin comprometer la performance del proceso. El ejemplo presentado aquí es suficientemente simple para ser bien entendido y analizado, sin perder el interés tecnológico.

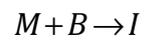
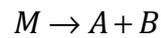
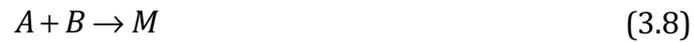
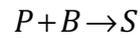
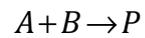
Un API (denominado P) debe ser sintetizado a partir de dos reactivos (A y B) en un reactor tanque agitado. La reacción es llevada a cabo en presencia de un solvente y de un catalizador. El sistema reaccionante es complejo: la reacción entre A y B da lugar a P ; la reacción de P y B da una destrucción del producto, reduciendo el rendimiento. Por otro lado, A y B pueden reaccionar de una manera alternativa para formar la impureza I . Esta última es indeseable porque a partir de un cierto umbral de concentración precipita, arruinando la producción completa. Tanto la reducción del rendimiento como la formación de la impureza se atribuyen a un

exceso de B , por lo tanto una operación fed-batch es seleccionada. Una solución de A se carga inicialmente en el reactor y una solución de B se alimenta al reactor, de manera de mantener la concentración de este reactivo baja, para evitar los efectos indeseados. Después de un período de tiempo, el producto de reacción se deriva a una etapa de purificación, donde el producto se separa de la mezcla. El perfil de alimentación de B será optimizado, dejando otras variables en valores nominales (temperatura, concentraciones iniciales, etc). Esto es seleccionado arbitrariamente para mostrar con mayor facilidad la aplicación del método, pero no es una limitación (todas las variables nombradas pueden ser optimizadas). Algunos ensayos de laboratorio son llevados a cabo y junto con otra información disponible sobre el proceso, son usados para definir los valores de los límites operacionales. El perfil de alimentación se parametriza de la siguiente manera:

$$F_{(t)} = \begin{cases} u_1 & \text{if } t < u_2 \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (3.7)$$

Aquí, F es el caudal volumétrico y t representa el tiempo. Nuevamente, esta parametrización es escogida por simplicidad con el objetivo de ilustrar la aplicación de la metodología.

El sistema reaccionante *real* es desconocido por el usuario, y es:



En este sistema, el intermediario M es formado pero no puede ser medido experimentalmente. De hecho, las únicas especies que pueden ser medidas son P e I .

El sistema de ecuaciones usado para describir el sistema mediante simulación es:

$$r_1 = k_1 A B$$

$$r_2 = k_2 P B$$

$$r_3 = k_3 A B \tag{3.9}$$

$$r_4 = k_4 M$$

$$r_5 = k_5 C B$$

$$\frac{dA}{dt} = -r_1 - r_3 + r_4 - \frac{F}{V}A$$

$$\frac{dB}{dt} = -r_1 - r_2 - r_3 + r_4 - r_5 + \frac{F}{V}(B_i - B)$$

$$\frac{dP}{dt} = r_1 - r_2 - \frac{F}{V}P$$

$$\frac{dM}{dt} = r_3 - r_4 - r_5 - \frac{F}{V}M \quad (3.10)$$

$$\frac{dI}{dt} = r_5 - \frac{F}{V}I$$

$$\frac{dS}{dt} = r_2 - \frac{F}{V}S$$

$$\frac{dV}{dt} = F$$

Las constantes cinéticas para simular este modelo se informan en la Tabla 3.1

Parámetro	Valor
k_1	1.225 E-01 [l.mol ⁻¹ .min ⁻¹]
k_2	1.870 E-02 [l.mol ⁻¹ .min ⁻¹]
k_3	7.0 E-03 [l.mol ⁻¹ .min ⁻¹]
k_4	3.0 E-02 [min ⁻¹]
k_5	3.0 E-01 [l.mol ⁻¹ .min ⁻¹]

Tabla 3.1 - Constantes cinéticas usadas en las simulaciones del Ejemplo 1

Hay dos restricciones a cumplir en el proceso: la concentración final de I no debe ser superior a 0.01 mol/l (para evitar precipitación) y el volumen final del reactor no puede exceder la capacidad máxima del tanque, que es 2.25 l. Estas restricciones son denominadas C_1 y C_2 , respectivamente. Los resultados exactos de las simulaciones son perturbados con un error de medición de 5% para datos tomados durante el experimento, pero son considerados exactos para mediciones a tiempo final (estas mediciones son realizadas offline, con un método analítico de mayor precisión). El índice de performance a ser optimizado es el beneficio asociado a cada lote de producción. Se considera que el producto obtenido puede ser utilizado luego (por ejemplo, para otras etapas del proceso y/o pruebas clínicas).

En el caso de cumplir las restricciones, resulta:

$$J = 4 P_{(tf)} V_{(tf)} - A_{(0)} V_{(0)} - 0.3 B_{in} u_1 u_2 \quad (3.11)$$

Si la restricción C_1 no se cumple:

$$J = - \left(A_{(0)} V_{(0)} + 0.3 B_{in} u_1 u_2 \right) \quad (3.12)$$

debido a que el lote debe ser desechado. Los coeficientes 4 y 0.3 se deben a los precios relativos de P y B con respecto a A . La concentración inicial $A_{(0)}$ y la de alimentación B_{in} son ambas 0.1 mol/l y el volumen inicial $V_{(0)}$ es 1 l. La duración del experimento es 180 min.

A través de simulaciones, puede generarse la superficie de respuesta para la performance J respecto de los elementos de la política u_1 y u_2 . Esta se presenta en la figura 5. Las líneas de trazos indican las restricciones y el punto negro el óptimo del proceso.

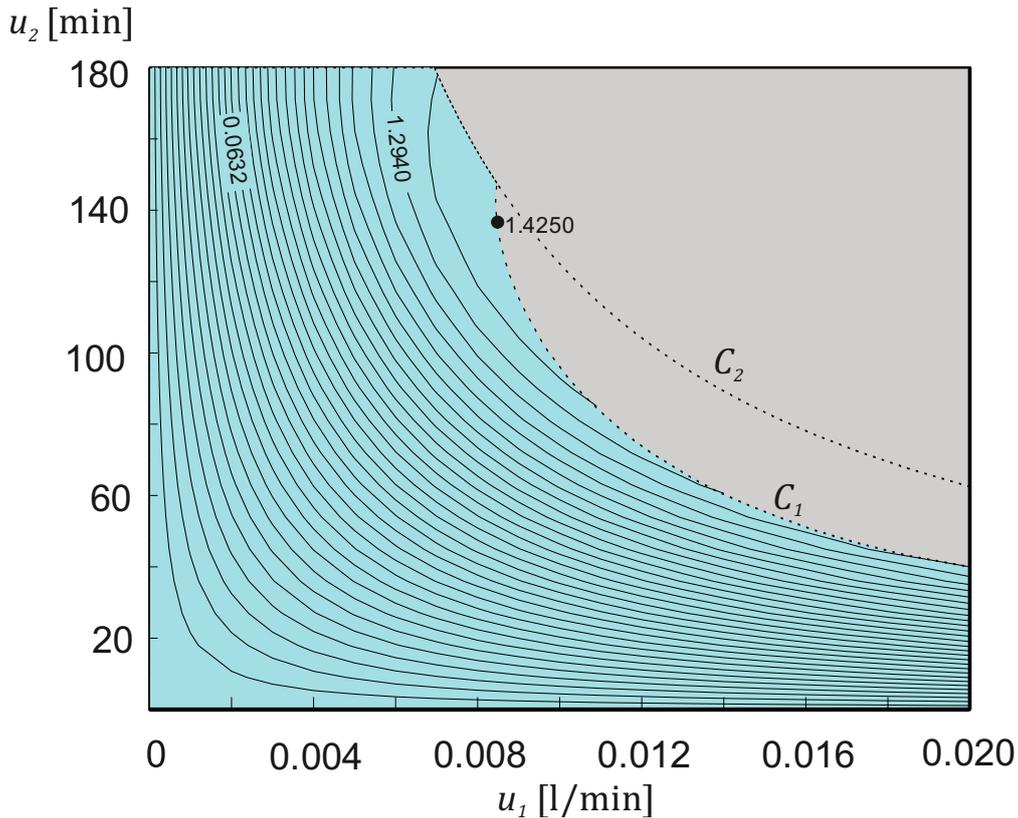
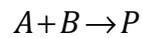


Figura 3.3 - Superficie de respuesta del proceso

El comportamiento es altamente no lineal, y el óptimo se encuentra sobre la restricción para I . Además de esto, la región de optimización es no convexa, lo que aumenta la dificultad del problema. El óptimo verdadero es $\mathbf{u}_R^* = [8.59\text{E-}03 \text{ l/min}, 128.69 \text{ min}]$ y la performance correspondiente es $J_{R(\mathbf{u}_R^*)} = 1.4250$. Como se enunció anteriormente, en este ejemplo el usuario no tiene acceso al modelo exacto (ni obviamente a la superficie de respuesta).

Basándose en datos previos, el siguiente modelo de tendencia es planteado:



$$r_1 = k_1 AB$$

$$r_2 = k_2 PB \quad (3.14)$$

$$r_3 = k_3 AB^\nu$$

$$\frac{dA}{dt} = -r_1 - r_3 - \frac{F}{V}A$$

$$\frac{dB}{dt} = -r_1 - r_2 - 2r_3 + \frac{F}{V}(B_i - B)$$

$$\frac{dP}{dt} = r_1 - r_2 - \frac{F}{V}P \quad (3.15)$$

$$\frac{dI}{dt} = \nu r_3 - \frac{F}{V}I$$

$$\frac{dV}{dt} = F$$

Los parámetros a ser ajustados son las constantes cinéticas (k_1 , k_2 y k_3), y los coeficientes ν y γ . El índice de performance y la restricción C_1 deben ser calculados usando el modelo de tendencia, mientras que la restricción C_2 puede ser predicha directamente ya que el volumen inicial es conocido y el final puede ser calculada en base a los elementos de la política directamente (sin usar el modelo). Dado que C_1 debe ser modelada, y que el éxito del experimento depende fuertemente de su cumplimiento, se agrega la siguiente restricción al problema de ajuste:

$$D_{\theta(\theta, u, X)} = I_{(tf)} - I_{(tf)}^{\text{exp}} \quad (3.16)$$

Forzando esta restricción, el modelo debe ajustar la información experimental sobre la impureza I al final del experimento, que es la que determina el cumplimiento de C_1 .

Los hiper-parámetros usados para testear la metodología son los siguientes : α_1 es 50%, sf es 0.5 y m_{MAX} es 5. Dado que C_2 se calcula sin incertidumbre, el valor de α_2 es 100%. El experimento exploratorio se realiza con la política $u_0 = [1,20E-02 \text{ l/min}, 45 \text{ min}]$. Para este experimento, se adquieren los datos y se aplica la metodología. Estos datos se presentan en la figura 3.4, junto con las predicciones del modelo probabilístico. Los resultados para todos los experimentos de la metodología se presentan en la tabla 3.2.

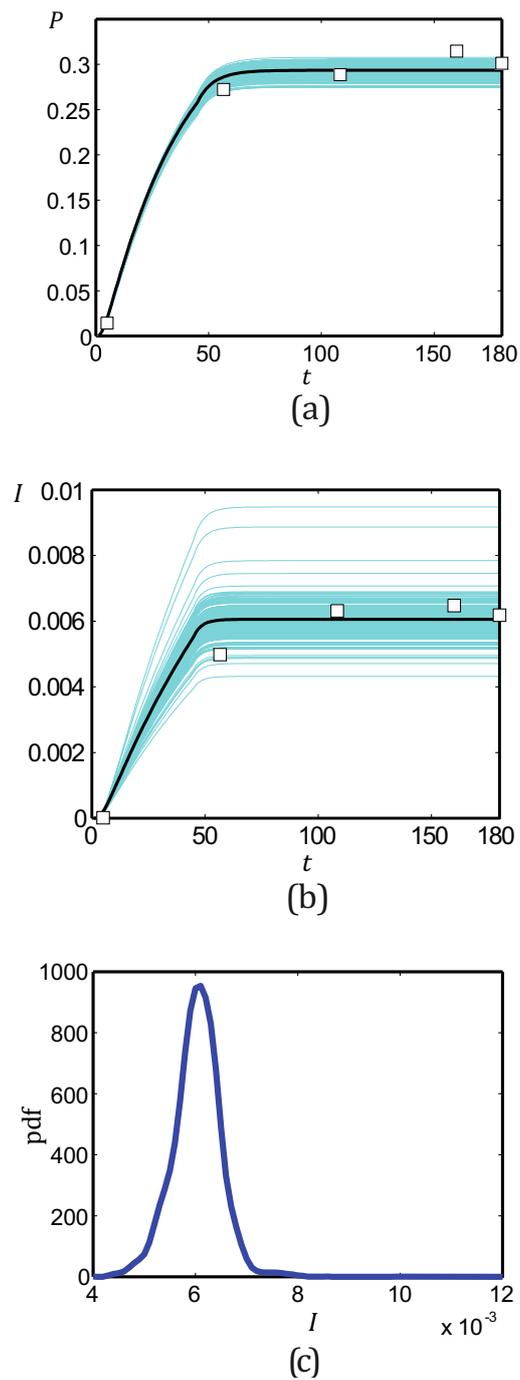


Figura 3.4 - Para el experimento #1: Datos y predicciones para (a) el producto P y (b) la impureza I . Para esta última, en (c) se muestra la función densidad de probabilidad.

ITER #	EXP #	u^*_1 [l/min]	u^*_2 [min]	$J_{R(u^*)}$
0	1	1,20E-02	45,00	0,6942
1	2	8,73E-03	116,01	1,4055
2	3	6,98E-03	159,46	1,3781
	4	7,99E-03	110,05	1,3090
3	5	8,40E-03	128,96	1,4184
	6	7,12E-03	165,78	1,3826
	7	8,01E-03	132,29	1,4066
	8	8,35E-03	117,35	1,3870
4	9	8,45E-03	128,46	1,4205
	10	7,06E-03	166,88	1,3809
	11	8,57E-03	110,34	1,3691
	12	7,95E-03	133,42	1,4062
	13	8,44E-03	130,28	1,4220
5	14	7,10E-03	166,12	1,3829
	15	7,99E-03	133,05	1,4067
	16	8,34E-03	117,87	1,3876
	17	8,43E-03	130,55	1,4190
	18	8,45E-03	129,71	1,4175

Tabla 3.2 - Resultados para la implementación completa del proceso al Ejemplo 1.

La política óptima es la ensayada en el experimento #13, tiene una performance solo 1% menor que el óptimo real. La metodología realizó todos los experimentos en la zona de alta productividad y ninguno falló en cumplir las restricciones. En la figura 3.5, el mejor experimento de cada iteración es mostrado sobre la superficie de respuesta real, con el objetivo de mostrar la trayectoria realizada por la metodología. En la figura 3.6, se muestran los experimentos realizados durante la iteración #2 (experimentos #3 a #5), junto con el último experimento de la iteración #1 (experimento #2). Después de dos intentos fallidos, la performance aumenta en el experimento #5, dando lugar a una nueva iteración.

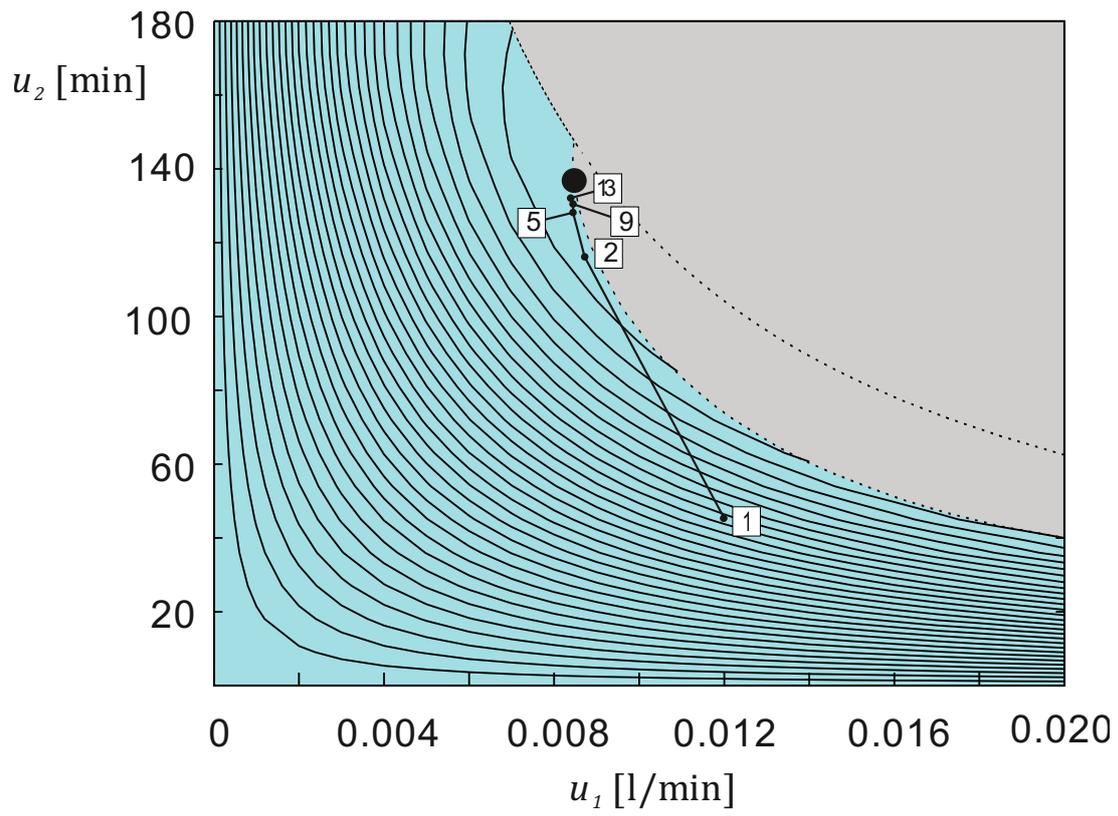
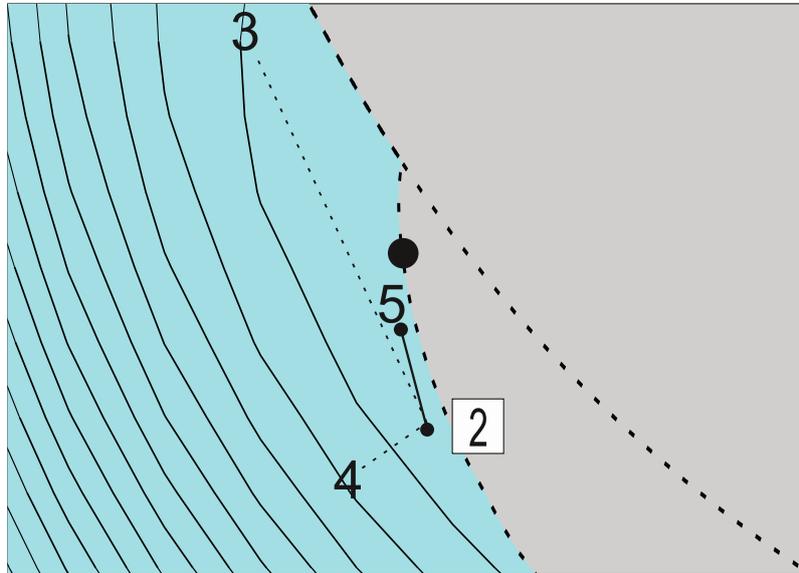


Figura 3.5 - Camino de mejora sobre la superficie de respuesta para el Ejemplo 1.



**Figura 3.6 - Ampliación de la figura 3.5 para la segunda iteración
(experimentos #2 a #5).**

Finalmente, la evolución de la performance se analiza con la curva de aprendizaje, presentada en la figura 3.7. Aquí puede verse la performance en cada experimento (línea negra) y cuál es su diferencia con el óptimo real (línea de trazos). El área sombreada en gris representa el costo de desarrollo del proceso.

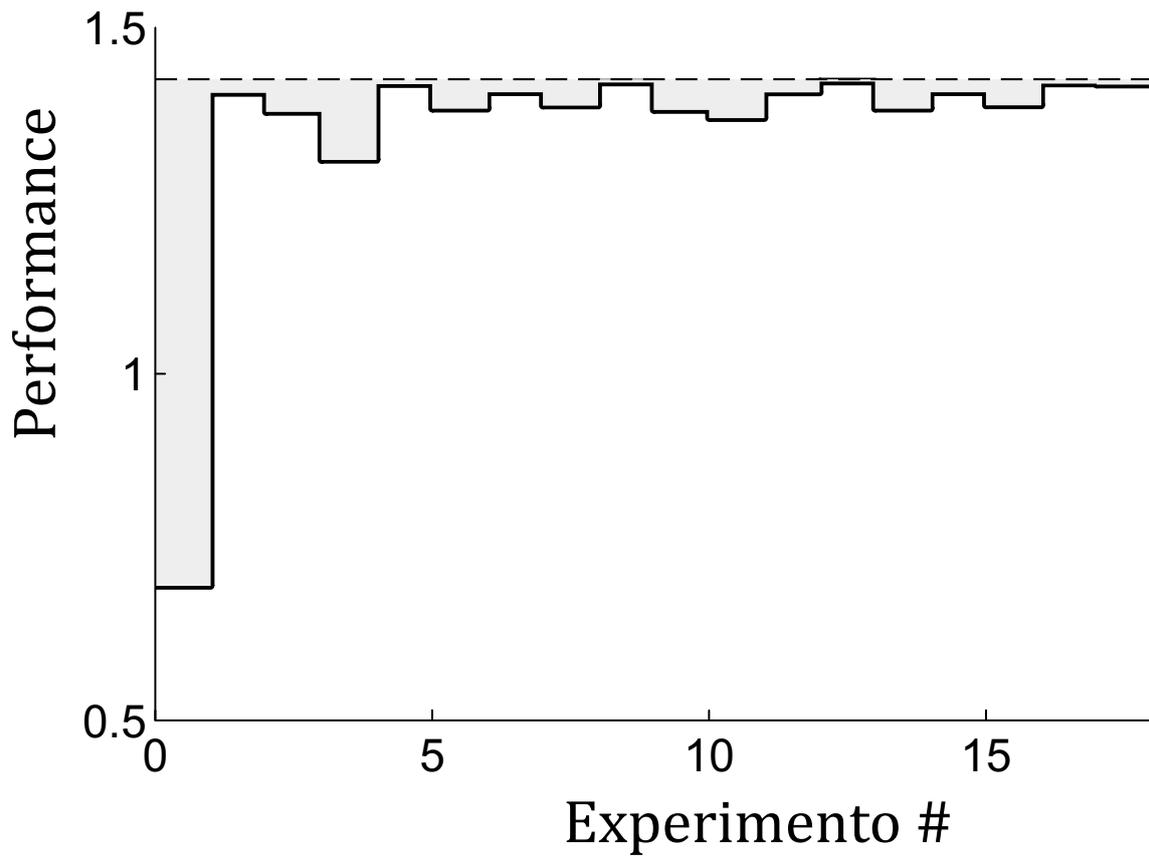


Figura 3.7 - Curva de aprendizaje para el Ejemplo 1.

Como conclusión, puede observarse que la metodología propuesta logra obtener condiciones óptimas de operación incluso sin conocimiento del mecanismo de reacción real y, lo que es más importante, lo hace con un alta grado de eficiencia.

3.6.2 Ejemplo 2: Producción de biodiesel

El biodiesel es un combustible alternativo producido a partir de fuentes renovables de triglicéridos, como las grasas animales o los aceites vegetales. El biodiesel sería un reemplazo ideal para el diesel convencional si tan solo fuese más competitivo económicamente. Se han desarrollado distintos procesos para la producción de biodiesel, siendo el más adoptado la transesterificación homogénea mediante catálisis básica. En este último, los glicéridos del aceite o grasa reaccionan con metanol en presencia de un catalizador (normalmente hidróxido de sodio o potasio) para dar ésteres metílicos (biodiesel) y glicerol. La variabilidad de la materia prima (cada aceite o grasa es una mezcla de triglicéridos que pueden variar fuertemente de una fuente a otra) repercute en el rendimiento de la reacción. Debido al complejo sistema reaccionante y a reacciones laterales indeseables, condiciones de operación que resultan óptimas para una determinada materia prima pueden ser ineficientes para otras. Para que el proceso resulte económicamente rentable, el rendimiento de la reacción debe ser lo más elevado posible, ya que el costo de la materia prima representa entre el 80 y el 90% del costo total de producción. En este caso de estudio, la metodología propuesta permite encontrar la política de operación óptima a pesar de la incertidumbre generada por trabajar con materias primas cuyas propiedades fisicoquímicas no son conocidas *a priori*. También se muestra el efecto del cambio en las propiedades de la materia prima sobre el rendimiento y cómo la metodología puede solucionar este problema. Debido a que no hay restricciones que deban ser modeladas, este problema es ideal para ser resuelto con el enfoque II.

En el ejemplo adoptado se trabajará con un reactor que opera de modo batch. El método de producción es la transesterificación mediante catálisis homogénea con hidróxido de sodio como catalizador. El reactor se carga con los reactivos (metanol y una mezcla de triglicéridos) y el catalizador, y la temperatura puede controlarse con un intercambiador de calor (ej: camisa y/o serpentín). Después de una hora de tiempo de reacción, la mezcla reaccionante se pasa a la etapa de purificación. La relación metanol a triglicéridos es 6:1 y el volumen inicial es 1l.

Las reacciones que tienen lugar en el sistema pueden dividirse en dos tipos: las reacciones de transesterificación, que dan lugar a la producción de biodiesel, y las de saponificación, que son indeseables y bajan el rendimiento. A continuación se adjunta las reacciones y sus respectivas velocidades en las tablas 3.3 y 3.4. Estas reacciones son desconocidas para el usuario y son las usadas para simular el proceso.

Transesterificación	
$TG + CH_3OH \rightarrow DG + E$	$r_1 = k_1 [OH] [TG] [CH_3OH]$
$DG + E \rightarrow TG + CH_3OH$	$r_2 = k_2 [OH] [DG] [E]$
$DG + CH_3OH \rightarrow MG + E$	$r_3 = k_3 [OH] [DG] [CH_3OH]$
$MG + E \rightarrow DG + CH_3OH$	$r_4 = k_4 [OH] [MG] [E]$
$MG + CH_3OH \rightarrow G + E$	$r_5 = k_5 [OH] [MG] [CH_3OH]$
$G + E \rightarrow MG + CH_3OH$	$r_6 = k_6 [OH] [G] [E]$

Tabla 3.3 - Reacciones de transesterificación para el Ejemplo 2.

Saponificación	
$TG + OH \rightarrow S + DG$	$r_7 = k_7 [OH][TG]$
$DG + OH \rightarrow S + MG$	$r_8 = k_8 [OH][DG]$
$MG + OH \rightarrow S + G$	$r_9 = k_9 [OH][MG]$
$E + OH \rightarrow S + CH_3OH$	$r_{10} = k_{10} [OH][E]$

Tabla 3.4 - Reacciones de saponificación para el Ejemplo 2.

En este sistema reaccionante, un mol de triglicéridos reacciona con uno de metanol para dar éster metílico (biodiesel) y digliceridos. El diglicérido formado puede reaccionar con metanol para dar éster metílico y monoglicerido, y este último puede reaccionar con metanol para dar éster metílico y glicerol. Estas reacciones son reversibles, por lo tanto los caminos opuestos también son factibles. Por otro lado, las reacciones de saponificación son irreversibles y disminuyen el rendimiento de la reacción, ya que consumen tanto reactivos como productos para dar lugar a un subproducto indeseado.

El modelo de simulación usado para generar los datos en este ejemplo es:

$$\begin{aligned}\frac{d[TG]}{dt} &= -r_1 + r_2 - r_7 \\ \frac{d[DG]}{dt} &= r_1 - r_2 - r_3 + r_4 + r_7 - r_8 \\ \frac{d[MG]}{dt} &= r_3 - r_4 - r_5 + r_6 + r_8 - r_9 \\ \frac{d[E]}{dt} &= r_1 + r_3 + r_5 - r_2 - r_4 - r_6 - r_{10} \\ \frac{d[CH_3OH]}{dt} &= -\frac{d[E]}{dt} \\ \frac{d[G]}{dt} &= r_5 - r_6 + r_9 \\ \frac{d[OH]}{dt} &= -r_7 - r_8 - r_9 - r_{10} \\ \rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} &= Q_x - \sum_i r_i \Delta H_i \\ Q_x &= UA v (T_x - T)\end{aligned}\tag{3.17}$$

Las constantes cinéticas dependen de la temperatura según la ecuación de Arrhenius:

$$k_i = A_i e^{-B_i/T}\tag{3.18}$$

Los parámetros A_i y B_i caracterizan a la fuente de materia prima y de ellos dependen el rendimiento y la política óptima. La performance del proceso se define como la cantidad de éster producido sobre el máximo posible:

$$J_{(t)} = \frac{[E]_{(t)}}{3[TG]_{(t=0)}} \quad (3.19)$$

Las variables a optimizar son la carga de catalizador inicial y el perfil del set-point del lazo de control de la temperatura, que es parametrizado de la siguiente manera:

$$T_{sp} = \begin{cases} T_1 & \text{si } t < t_{sw} \\ T_2 & \text{c.o.c.} \end{cases} \quad (3.20)$$

Este set-point actúa sobre la temperatura del intercambiador según un controlador proporcional:

$$T_x = 30(T_{sp} - T) + 323 \quad (3.21)$$

Por lo tanto, el vector de la política puede definirse como:

$$\mathbf{u} = \left[[OH]_{t=0} \quad t_{sw} \quad T_1 \quad T_2 \right] \quad (3.22)$$

Para analizar la diferencia en el comportamiento de diferentes fuentes de materia primas, se proponen las parametrizaciones adjuntas en la tabla 3.5.

Parámetro	Unidad	Fuente 1	Fuente 2	Fuente 3
A_1	$[\text{l}^2.\text{mol}^{-2}.\text{min}^{-1}]$	4.2447×10^8	3.6871×10^8	1.3067×10^8
A_2	$[\text{l}^2.\text{mol}^{-2}.\text{min}^{-1}]$	2.1754×10^6	1.1052×10^6	3.3646×10^6
A_3	$[\text{l}^2.\text{mol}^{-2}.\text{min}^{-1}]$	5.7097×10^{12}	8.4468×10^{12}	4.1139×10^{12}
A_4	$[\text{l}^2.\text{mol}^{-2}.\text{min}^{-1}]$	1.0824×10^{10}	2.5756×10^{10}	9.1583×10^9
A_5	$[\text{l}^2.\text{mol}^{-2}.\text{min}^{-1}]$	1.7355×10^6	1.1658×10^6	1.8115×10^6
A_6	$[\text{l}^2.\text{mol}^{-2}.\text{min}^{-1}]$	2.5186×10^6	3.0964×10^6	2.0566×10^6
A_7	$[\text{l}.\text{mol}^{-1}.\text{min}^{-1}]$	5.8674×10^9	2.3126×10^9	2.2848×10^5
A_8	$[\text{l}.\text{mol}^{-1}.\text{min}^{-1}]$	4.7867×10^9	4.0460×10^9	3.6823×10^9
A_9	$[\text{l}.\text{mol}^{-1}.\text{min}^{-1}]$	1.5580×10^9	8.5888×10^8	1.2236×10^9
A_{10}	$[\text{l}.\text{mol}^{-1}.\text{min}^{-1}]$	3.8596×10^9	4.9473×10^9	2.9874×10^9
B_1	[K]	6594.1	6629.4	6516.5
B_2	[K]	4952.3	4803.4	5168.5
B_3	[K]	9537.8	9747.7	9511.8
B_4	[K]	8073.3	8430.9	8091.7
B_5	[K]	4479.0	4429.9	4574.5
B_6	[K]	5668.3	5809.2	5675.0
B_7	[K]	8871.9	8571.8	5314.4
B_8	[K]	8074.7	8024.9	7994.0
B_9	[K]	7396.4	7206.4	7322.4
B_{10}	[K]	7873.5	7960.3	7794.8

Tabla 3.5 - Parametrizaciones para diferentes casos de estudio del ejemplo 2.

Por ejemplo, para un caso donde se trabaje a temperatura constante ($T_1 = T_2$), la figura 3.8 puede obtenerse al comparar la fuente 1 y 2.

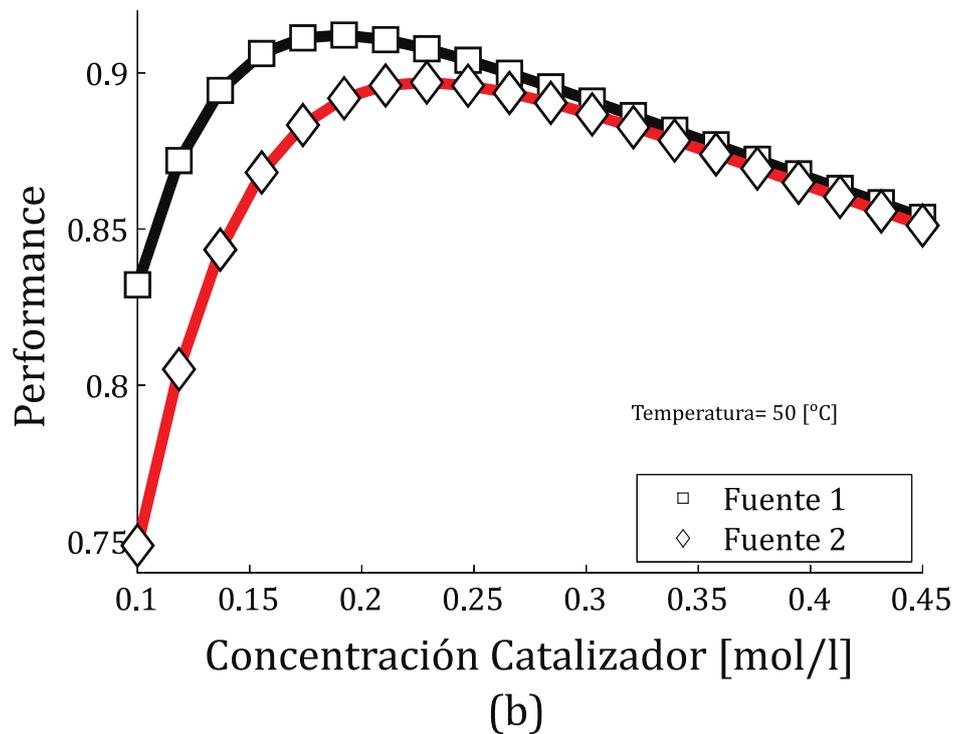
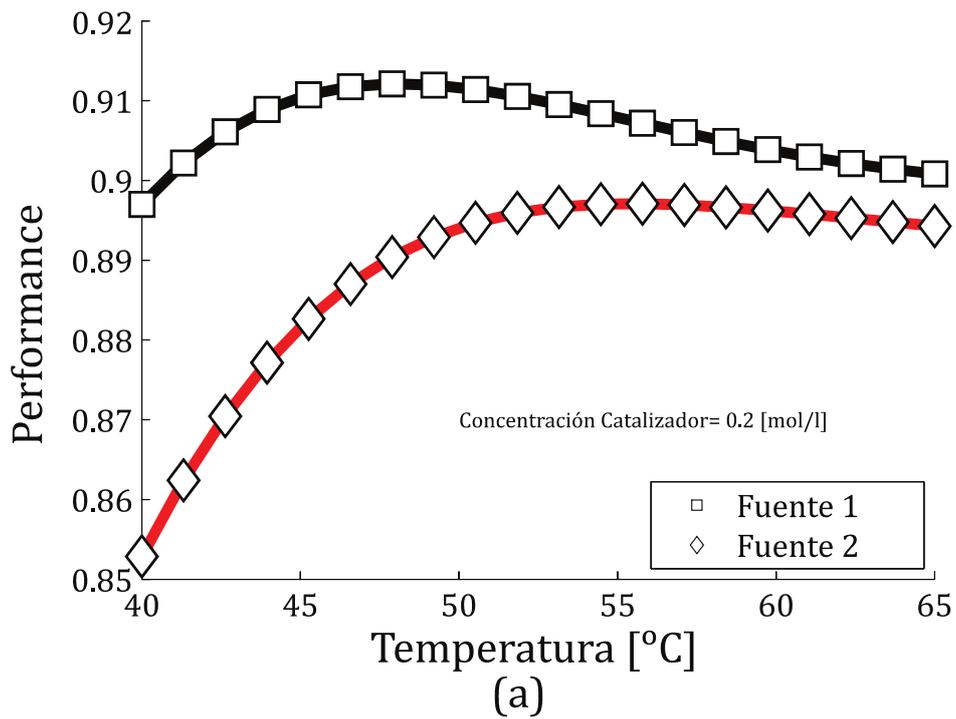


Figura 3.8 - Curvas de performance en función de (a) temperatura y (b) concentración de catalizador (dos fuentes distintas) para el Ejemplo 2 (temperatura constante en el experimento).

Estos gráficos son cortes de la superficie de respuesta, y puede verse que las dos parametrizaciones tienen distintos comportamientos, incluso cuando la estructura del modelo de simulación es la misma.

Para resolver el problema de optimización bajo incertidumbre, la metodología propuesta será implementada usando el siguiente modelo de tendencia de la tabla 3.6.

Modelo de Tendencia	
$TG + 3CH_3OH \rightarrow G + 3E$	$r_1 = k_1 [OH] [TG] [CH_3OH]$
$TG + 3OH \rightarrow G + 3S$	$r_2 = k_2 [OH] [TG]$
$E + OH \rightarrow S + CH_3OH$	$r_3 = k_3 [OH] [E]$

Tabla 3.6 - Modelo de tendencia para el ejemplo 2.

donde:

$$k_i = A_i e^{-B_i/T} \quad (3.23)$$

Los balances resultan:

$$\frac{d[TG]}{dt} = -r_1 - r_2$$

$$\frac{d[E]}{dt} = 3r_1 - r_3 \quad (3.24)$$

$$\frac{d[CH_3OH]}{dt} = -\frac{d[E]}{dt}$$

$$\frac{d[OH]}{dt} = -3r_2 - r_3$$

Se considera que la temperatura se ajusta instantáneamente, y las especies a medir son el éster y el oxhidrilo. Los parámetros a ajustar son A_i y B_i para las tres velocidades de reacción. Los hiper-parámetros usados para testear la metodología son: sf es 0.5 y m_{MAX} es 5. El número de muestreos a diseñar es 4, muestreándose además a tiempo final.

Para la primera fuente de materia prima, el proceso es iniciado con el experimento exploratorio $\mathbf{u}_0 = [0.1 \text{ mol.l}^{-1} \quad 30 \text{ min} \quad 40^\circ\text{C} \quad 60^\circ\text{C}]$. Los resultados se adjuntan en la tabla 3.7.

ITER #	EXP #	$[\text{OH}]_{\text{to}}$ [mol.l ⁻¹]	t_{sw} [min]	T_1 [°C]	T_2 [°C]	Performance
0	1	0.100	30.00	40.00	45.00	0.7862
1	2	0.118	7.11	65.00	65.00	0.8844
2	3	0.165	30.43	65.00	64.92	0.9088
3	4	0.171	17.24	64.68	40.35	0.9115
4	5	0.180	13.86	40.01	40.06	0.8881
	6	0.176	15.55	52.34	40.21	0.9062
	7	0.173	16.41	58.57	42.88	0.9115
	8	0.172	27.15	61.62	41.54	0.9120
5	9	0.169	26.77	40.13	57.84	0.9087
	10	0.181	49.84	50.88	49.64	0.9121
6	11	0.218	43.56	40.09	59.90	0.9091
	12	0.200	46.72	45.51	54.75	0.9111
	13	0.190	48.74	48.21	52.16	0.9117
	14	0.186	55.96	51.04	50.90	0.9121

Tabla 3.7 - Resultados de la implementación de la metodología para el

Ejemplo 2.

El óptimo es obtenido en el experimento #10, difiriendo la performance en menos de 1% del óptimo real. Se adjunta en la tabla 3.8.

$[\text{OH}]_{\text{to}}$ [mol.l ⁻¹]	t_{sw} [min]	T_1 [°C]	T_2 [°C]	Performance
0.193	31.71	53.26	40.00	0.9131

Tabla 3.8 - Óptimo real para el Ejemplo 2

Luego de dicho experimento, una nueva iteración se realiza en la zona de alta performance, sin lograr una mejora, por lo que la metodología se detiene. Cómo puede verse, la mayoría de los experimentos son realizados en la zona de alta performance. La figura 3.9 muestra la curva de aprendizaje de la metodología.

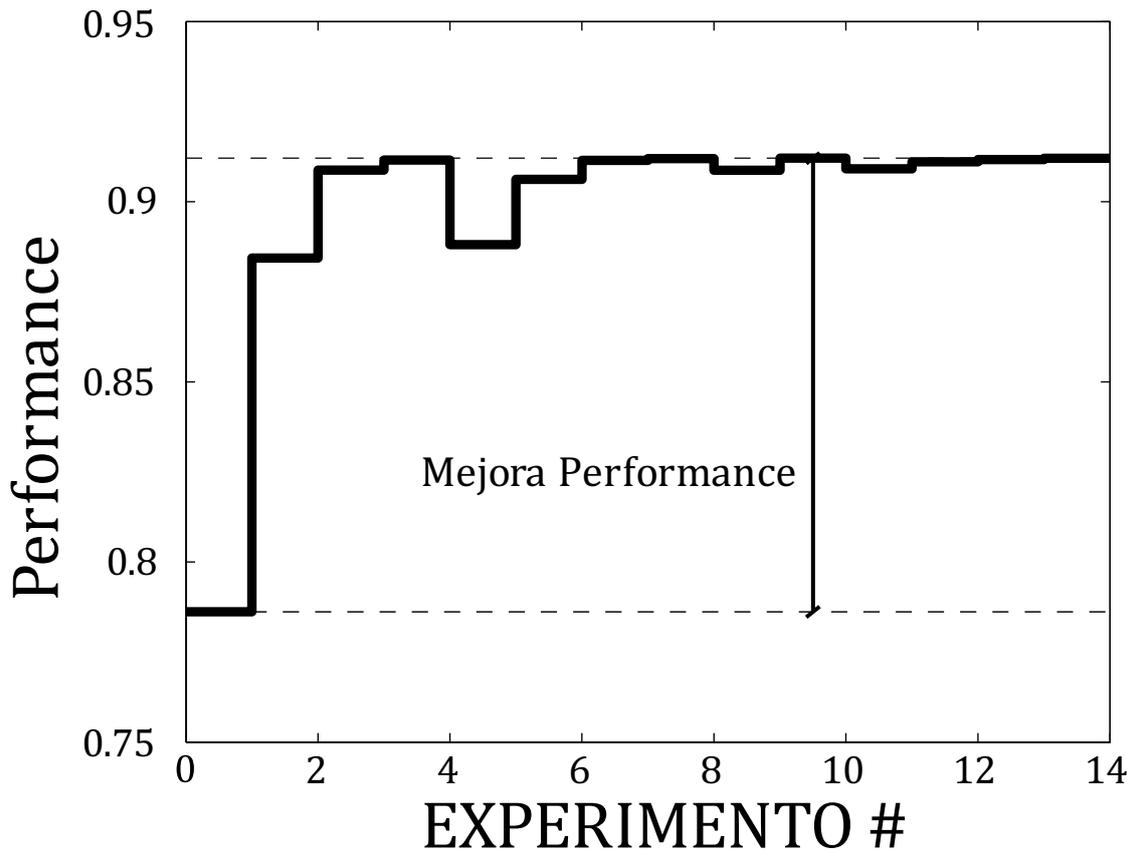


Figura 3.9 - Curva de aprendizaje para el Ejemplo 2.

Para mostrar cómo el cambio de materia prima puede afectar el rendimiento del proceso, se considera ahora que la materia prima cambia de la fuente 1 a la fuente 3. El experimento exploratorio es reemplazado por uno realizado con la política óptima encontrada para la fuente 1. Los resultados se adjuntan en la tabla 3.9.

ITER #	EXP #	$[\text{OH}]_{\text{to}}$ [mol.l ⁻¹]	t_{sw} [min]	T ₁ [°C]	T ₂ [°C]	Performance
0	1	0.181	49.84	50.88	49.64	0.7615
1	2	0.326	14.77	40.06	63.90	0.8336
2	3	0.315	4.00	40.69	65.00	0.8386
3	4	0.287	34.60	65.00	64.99	0.8416
4	5	0.293	52.00	65.00	40.77	0.8414
	6	0.290	43.24	65.00	64.98	0.8415
	7	0.288	17.64	65.00	64.99	0.8415
	8	0.288	30.38	65.00	64.99	0.8416

Tabla 3.9 - Resultados de la implementación de la metodología para un cambio de fuente de materia prima para el Ejemplo 2.

El óptimo es obtenido en el experimento #4, difiriendo la performance en menos de 1% del óptimo real, que se adjunta en la Tabla 3.10.

$[\text{OH}]_{\text{to}}$ [mol.l ⁻¹]	t_{sw} [min]	T ₁ [°C]	T ₂ [°C]	Performance
0.289	34.16	65.00	40.00	0.8417

Tabla 3.10 - Óptimo real para cambio de fuente de materia prima en el Ejemplo 2.

La mayoría de los experimentos son realizados en la zona de alta performance. La figura 3.10 muestra la curva de aprendizaje en estas condiciones.

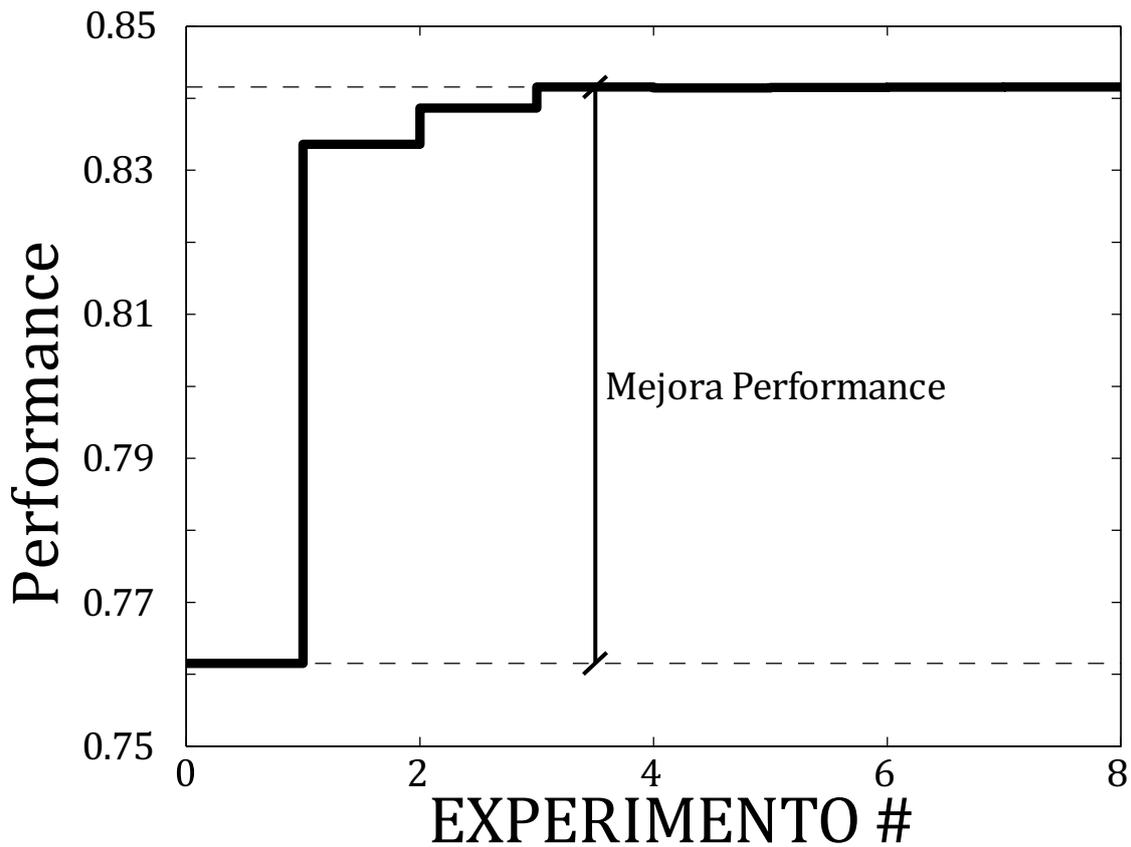


Figura 3.10 - Curva de aprendizaje para el cambio de fuente de materia prima en el Ejemplo 2.

Nuevamente puede observarse que la metodología logra obtener condiciones óptimas de operación sin conocimiento del mecanismo de reacción real. Además se muestra que la metodología es útil para el caso de cambio de operación del proceso (en este caso debido al cambio de materia prima).

3.6.3 Ejemplo 3: Producción de células animales

Dentro de la industria farmacéutica, la producción de biofármacos (principios activos generados mediante bioprocesos) resulta de gran interés tanto por su potencialidad como por los desafíos que presenta. Diferentes microorganismos pueden ser usados para la expresión de estos productos: bacterias (*Escherichia Coli*), levaduras (*Saccharomyces Cereviasie*) y células animales, entre otros. Estas últimas son ampliamente utilizadas para la producción de proteínas terapéuticas tales como los anticuerpos monoclonales, ya que poseen la capacidad de realizar las modificaciones post-translacionales que permiten expresar proteínas aptas para el uso humano. Dentro de las células animales de aplicación industrial, las células de ovario de hámster (células CHO) y las células hybridoma son las más usadas. Estas son modificadas con técnicas de ingeniería genética para producir la proteína deseada.

El principio de producción de biofármacos usando células animales es básicamente el mismo en ambos casos: las células animales son cultivadas en un medio que les aporte fuentes de carbono y otros nutrientes. Las células se reproducen y, en condiciones adecuadas, generan la proteína deseada como parte de su metabolismo, que luego es purificada del medio. Las células animales son en general más frágiles que otros microorganismos respecto de las condiciones de operación, por lo que requieren condiciones controladas para su cultivo. Si bien procesos continuos se han desarrollado exitosamente en escala industrial, los procesos batch y fed-batch son ampliamente utilizados. En general, el proceso se diseña en varias etapas, ya que no necesariamente las condiciones óptimas de

propagación (aumento de la cantidad de biomasa) son las mismas que las de producción de proteínas terapéuticas. Debido a que se requiere una masa considerable de células para que la productividad por unidad de volumen sea considerable, y que se parte pequeñas cantidades de inóculo, pueden requerirse varias etapas de propagación. Incluso biorreactores continuos pueden requerir biorreactores batch o fed-batch para la puesta en marcha o mantenimiento.

El metabolismo central de las células hybridomas para cultivos que usan glucosa como fuente de carbono y glutamina como fuente de nitrógeno se describe gráficamente en la figura 3.11, tomada de Geng et al. (2013). Las células utilizan distintos modos metabólicos dependiendo de las condiciones del cultivo. Las 4 vías fundamentales son la vía de la glicolisis, la vía de la pentosa-fosfato, la vía de glutaminolisis y el ciclo del TCA. Dependiendo de las condiciones del medio de cultivo las células utilizarán diferentes modos metabólicos (que incluyen varias vías usadas de distintas formas). Estas pueden consumir glucosa y glutamina al mismo tiempo, o solamente glucosa. La velocidad de crecimiento y el rendimiento dependerán de los modos usados. Por otro lado, un exceso en las concentraciones de glucosa y glutamina tienen un efecto inhibitor en el crecimiento celular, probablemente debido a la generación de lactato y amonio (Ozturk et al., 1991). La biomasa producida dependerá entonces de una adecuada operación del biorreactor.

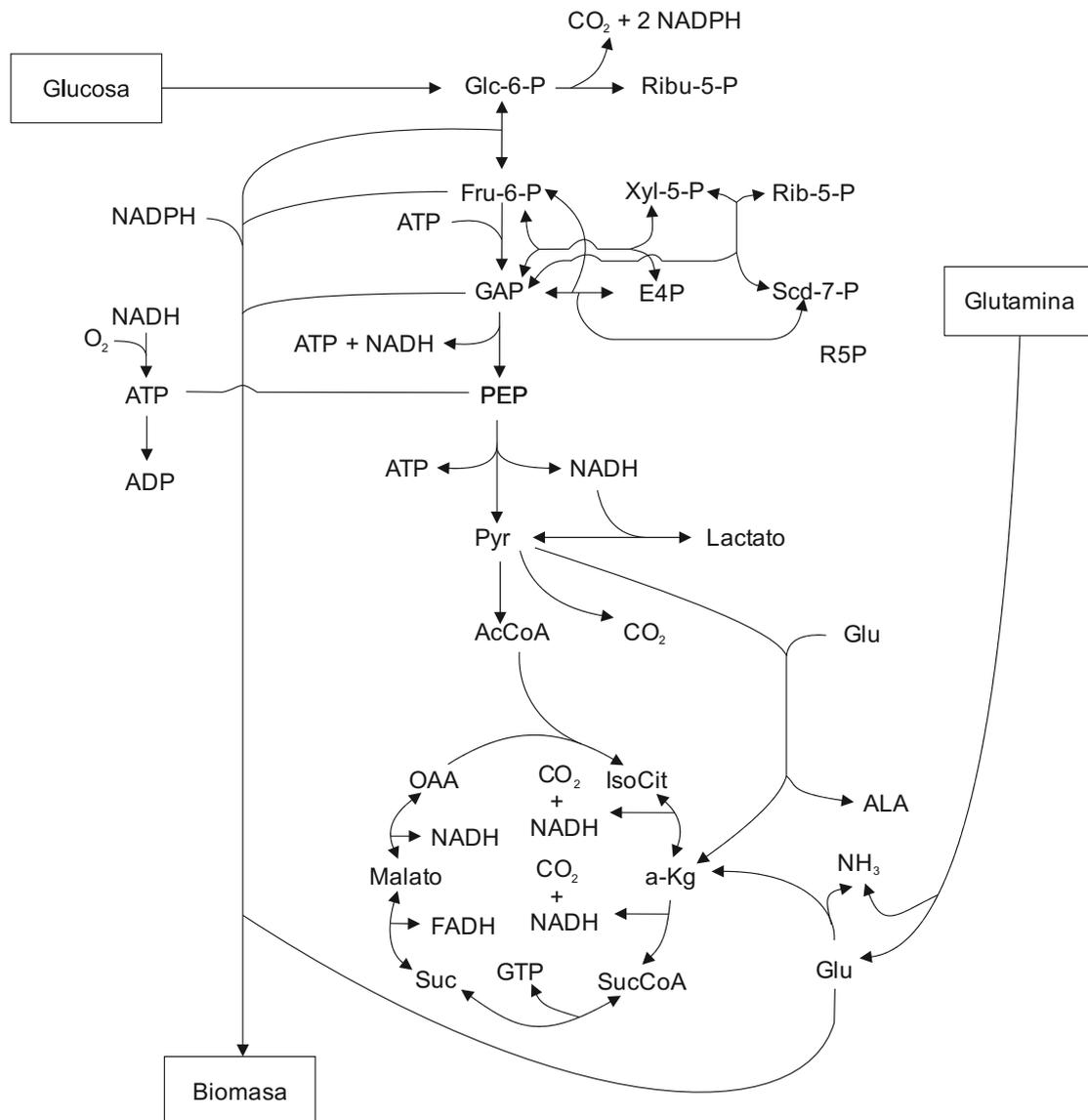


Figura 3.11 - Red metabólica para células animales

A partir de esta red metabólica, Geng et al. (2013) han desarrollado un modelo cibernético híbrido para la operación batch y fed-batch de reactores con células hybridoma. Este modelo de alta complejidad describe las concentraciones intracelulares de enzimas y permiten seguir el comportamiento metabólico de manera dinámica. Debido a que el comportamiento de cada cepa es particular, los parámetros del modelo y las condiciones óptimas de operación no pueden generalizarse y deben encontrarse para cada caso particular. Se usará en este

ejemplo una parametrización particular de dicho modelo para simular un proceso de generación de biomasa de células hybridoma (con el agregado del efecto de muerte celular, con una velocidad específica de 0.0043 h^{-1}).

Si bien estos modelos complejos son muy útiles para generar predicciones extrapolando a condiciones no exploradas, presentan una serie de cuestiones que lo hacen inadecuado para un esquema de optimización iterativo. Son difíciles de desarrollar (requieren mucho conocimiento *a priori*), tienen muchos parámetros (lo que requiere mucha información experimental) y dan lugar a sistemas de ecuaciones complejos (sistemas rígidos o *stiff*). Además, algunas de las especies simuladas no pueden ser medidas con facilidad, entre las que destacan las concentraciones intracelulares de metabolitos y enzimas. En vez de estos modelos complejos, se propone el uso de modelos de tendencia más simples, que se corrigen por el efecto de *feedback* de la información experimental usando la metodología propuesta para corregir los diferentes errores de predicción. Un modelo de tendencia adecuado debe ser suficientemente simple para ser ajustado con pocos datos experimentales pero al mismo tiempo debe ser capaz de predecir los efectos de los cambios en las condiciones de operación en el crecimiento de la biomasa.

En este ejemplo, el modelo adoptado es el siguiente:

$$\begin{aligned}\frac{dGlc}{dt} &= -\frac{\mu}{\theta_5}X + \frac{F_i}{V}(u_5 - Glc) \\ \frac{dGln}{dt} &= -\frac{\mu}{\theta_6}X + \frac{F_i}{V}(u_6 - Gln) \\ \frac{dX}{dt} &= \left(\mu - \theta_2 - \frac{F_i}{V} \right) X \\ \frac{dV}{dt} &= F_i \\ \mu &= \theta_1 \frac{Glc}{\theta_3 + Glc} \frac{Gln}{\theta_4 + Gln} \frac{1}{1 + \frac{Glc}{\theta_7}} \frac{1}{1 + \frac{Gln}{\theta_8}} \\ F_i &= \begin{cases} 0, & \text{if } t < u_7 \\ u_8, & \text{if } t \geq u_7 \end{cases}\end{aligned}\tag{3.24}$$

Este modelo utiliza la formulación Monod (Monod, 1949) para la velocidad crecimiento, teniendo en cuenta solamente un consumo complementario de glucosa y glutamina. Se hacen los balances para glucosa, glutamina, biomasa y para el volumen del biorreactor. El caudal de alimentación está parametrizado como un escalón único para un primer estudio. La política de optimización está formada por las condiciones iniciales de las variables estado: u_1 para Glc , u_2 para Gln , u_3 para X y u_4 para V . Además incluye las concentraciones de alimentación para Glc y Gln , u_5 y u_6 respectivamente. Como se mencionó anteriormente, el caudal de alimentación está parametrizado por u_7 y u_8 . El problema planteado es el siguiente: Para un biorreactor de células animales operando en modo fed-batch, se desea optimizar la producción de biomasa. El reactor comienza con una concentración inicial de

biomasa, glucosa y glutamina, y se alimentan estos dos últimos compuestos en el caudal de alimentación. El tiempo de cultivo está fijo en 96 horas. Una restricción sobre el volumen máximo del reactor (1 litro) es agregada por completitud. La performance del proceso se mide mediante el índice:

$$J = X_{(t_f)} \cdot V_{(t_f)} - X_{(t_0)} \cdot V_{(t_0)} \quad (3.25)$$

La metodología se aplica usando los siguientes hiper-parámetros: El número máximo de experimentos por iteración m_{MAX} se fija en 4 y el factor de reducciones sf en 0.25. Por cada experimento, se toman 6 muestras (incluido el tiempo final) y se miden glucosa, glutamina y biomasa. Los factores de peso w son 0.25 para las dos primeras y 0.5 para la tercera concentración. Los resultados de la implementación se adjuntan en la tabla 3.11. Se requieren 13 experimentos para llegar a la convergencia. La política óptima es la encontrada en el experimento #9, cuya performance 9,8192g es 1.55% menor a la de la política óptima real (9.974 g). Luego de este experimento, los siguientes no logran mejorar la performance del proceso y la metodología se detiene. El ajuste para el experimento exploratorio se muestra en la figura 3.12.

ITER	EXP	u_1	u_2	u_3	u_4	u_5	u_6	u_7	u_8	J
#	#	[mmol/l]	[mmol/l]	[g.l ⁻¹]	[ml]	[mmol/l]	[mmol/l]	[h]	[ml.h ⁻¹]	[g]
0	1	7,50	5,00	0,100	100	10,00	7,50	30,00	13,64	2,6759
1	2	11,24	5,60	0,095	339	39,94	34,64	51,38	14,91	9,2196
2	3	16,90	3,82	0,095	358	39,78	37,13	40,80	11,64	1,8597
	4	11,33	5,67	0,093	302	39,98	31,65	50,42	15,27	9,2044
	5	10,99	5,34	0,094	335	39,94	34,46	51,70	14,81	5,2595
	6	11,26	5,55	0,095	338	39,93	35,23	51,46	14,87	9,2583
3	7	16,90	4,01	0,094	372	39,91	36,86	42,99	11,85	4,7469
	8	11,62	6,28	0,099	298	40,00	32,28	52,87	16,27	9,5110
4	9	17,40	4,38	0,081	310	39,47	35,35	42,46	12,91	9,8192
5	10	17,31	4,29	0,094	308	39,92	36,33	40,08	12,39	1,7770
	11	18,93	4,72	0,067	325	39,41	35,44	47,42	14,01	0,4700
	12	17,68	4,38	0,081	310	39,56	34,87	43,54	13,14	2,1854
	13	17,45	4,40	0,083	309	39,49	35,34	42,71	12,94	4,0093

Tabla 3.11 - Resultados de la implementación de la metodología para el Ejemplo 3.

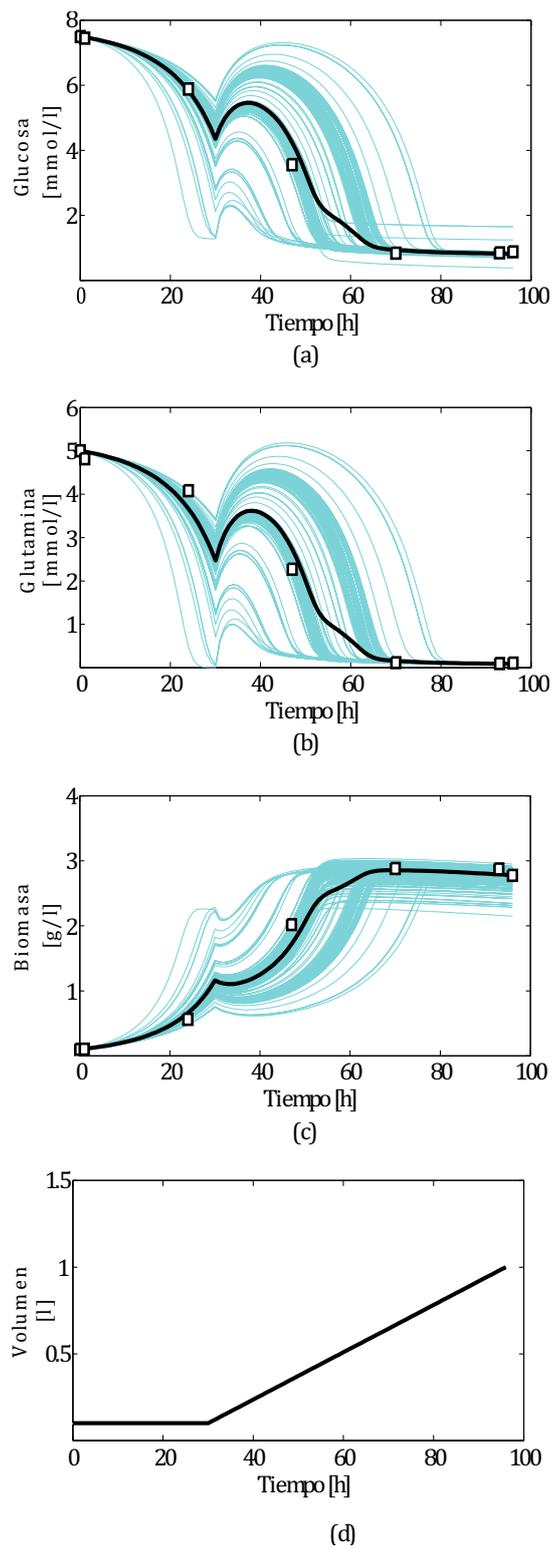


Figura 3.12 - Para el experimento exploratorio: Datos y predicciones para (a) glucosa, (b) glutamina, (c) biomasa. En (d) se muestra la predicción del volumen, no medido.

La metodología propuesta se compara con diferentes métodos de optimización iterativa. Los métodos a comparar son no probabilísticos: sólo una parametrización del modelo se usa en el paso de optimización (en vez de una distribución de parámetros). En el primer caso, no se usa el algoritmo de reducción y los muestreos se hacen de manera equidistantes en el tiempo (caso tradicional de optimización en dos pasos). La convergencia se da con respecto a los parámetros del modelo. Es bien sabido en el área de optimización que estos métodos no tienen una buena convergencia (Srinivasan & Bonvin, 2003). La mejor performance obtenida es 9.7677g, que no es mucho menor a la performance óptima obtenida con el método propuesto. Sin embargo, la curva de aprendizaje tiene valores mucho más aleatorios y el costo de aprendizaje es mayor. De hecho, el método no converge después de 25 experimentos. Esto puede verse en la figura 3.13. En la figura 3.13a se muestra la curva de aprendizaje de la metodología propuesta, mientras que en 3.13b se muestra la del método "tradicional". Una metodología donde no se usan modelos probabilísticos pero sí reducción de la región de operación se muestran en las figuras 3.13c y 3.13d. Los tiempos de muestreo están distribuidos uniformemente (ya que no se calculan los índices de sensibilidad necesarios para resolver el problema de muestreo). Ambas curvas corresponden al mismo método y sirven para mostrar variabilidad. Esto se debe a que los errores experimentales generan diferentes datos para el ajuste que da lugar a distintas parametrizaciones. Las implementaciones convergen en 12 experimentos y una performance de 9.0458g para la figura 3.13c y en 28 y 9.3765g para la figura 3.13d. Este método no logra la performance encontrada por el método propuesto, pero la reducción de la región de optimización resulta útil para la convergencia.

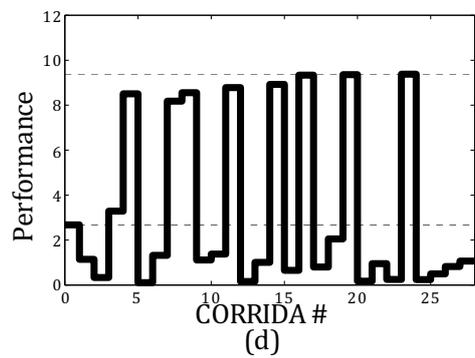
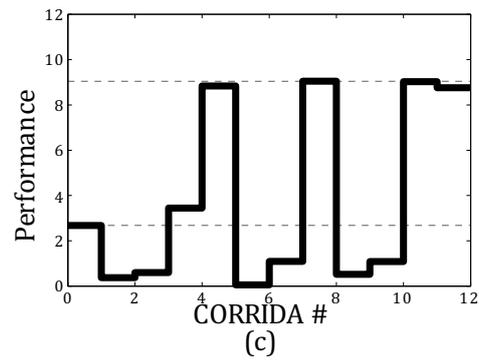
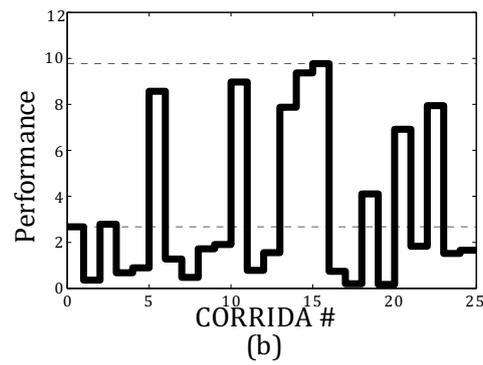
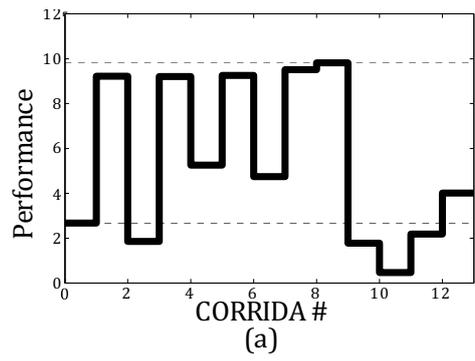


Figura 3.13 - Curvas de aprendizaje para los distintos métodos propuestos para el Ejemplo 3.

Una última comparación cualitativa resulta útil para mostrar las ventajas de los métodos de optimización basados en modelos de tendencias. El método propuesto resolvió el problema en 24 experimentos. Teniendo en cuenta que la política tiene 8 elementos, un método de diseño factorial tradicional requeriría 256(+1) experimentos para hacer el primer diseño. Incluso si se llegase al óptimo en el primer diseño (lo cual no está garantizado y en problemas altamente no lineales es poco probable), esto es mucho más de lo que requirió el método propuesto. Diseños factoriales incompletos pueden ser más eficientes que el diseño completo, pero de todos modos es de esperar que utilicen más experimentos que los métodos basados en modelos.

Como puede verse en este ejemplo, la metodología propuesta resulta de gran utilidad en la producción de biomasa en biorreactores de células animales. Un proceso similar se analizará en un biorreactor real en el capítulo 5.

3.7 Resumen del capítulo

En este capítulo, se presentó la metodología de optimización propuesta junto con los algoritmos necesarios para su implementación. La técnica de *bootstrapping* se utiliza para ajustar las distribuciones del modelo probabilístico. Dos distintos enfoques pueden aplicarse para el diseño de experimentos (dependiendo de si el problema particular posea restricciones o no). La reducción de la región de optimización propuesta en el esquema de optimización permite solucionar problemas de convergencia y aumentar la eficiencia de la metodología. Los diferentes criterios de parada y convergencia a disposición del técnico son también introducidos en este capítulo.

Tres distintos ejemplos se presentan para ilustrar la metodología. En el primer ejemplo, la producción de un API en un reactor fed-batch permite ver de manera simple la implementación del método en general y del enfoque I en particular. Este problema permite entender el funcionamiento del algoritmo de reducción de la región de operación y su influencia en la convergencia hacia el óptimo. El método permite encontrar una política con una performance muy cercana al óptimo absoluto, con alto grado de eficiencia (en esta implementación en particular ningún experimento termina fuera de especificación). Este problema se retomará en el siguiente capítulo para estudiar la convergencia del método

En el segundo ejemplo, se estudia el caso de un reactor batch de transesterificación utilizando distintas fuentes de materia prima. Este ejemplo sirve para ilustrar cómo el método permite la optimización y reoptimización de un proceso, en este caso usando el enfoque II. En ambas implementaciones, el método encuentra políticas con performances muy similares al óptimo real, realizando la mayoría de los experimentos en la zona de alta performance.

Finalmente, en el tercer ejemplo se propone el caso de un reactor fed-batch para la producción de biomasa para células animales. Este ejemplo propone una política más compleja, y se resuelve mediante el enfoque II. La política encontrada resulta muy cercana al óptimo real. El problema se resuelve también mediante métodos no probabilísticos. Esta comparación permite ver las ventajas de la metodología propuesta, ya que resulta o bien más eficiente (menor costo de desarrollo), más eficaz (mayor performance de la política encontrada) o ambas.

3.8 Bibliografía usada en este capítulo

Butler, M. Animal cell cultures: recent achievements and perspectives in the production of biopharmaceuticals. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2005**, 68, 283.

Eevera, T., Rajendran, K., Saradha, S., 2009. Biodiesel production process optimization and characterization to assess the suitability of the product for varied environmental conditions. *Renewable Energy* 34, 762–765.

Filippi, C., Bordet, J., Villermaux, J., Marchal-Brassey, S., Georgakis, C., 1989. Batch reactor optimisation by use of Tendency models. *Computers and Chemical Engineering* 13, 35-47.

Fotopoulos, J., Georgakis, C., Stenger Jr., H. G., 1998. Use of Tendency models and their uncertainty in the design of state estimators for batch reactors. *Chemical Engineering and Processing* 37, 545-558.

Geng, J., Bi, J. X., Zeng, A. P., & Yuan, J. Q., 2013. Application of hybrid cybernetic model in simulating myeloma cell culture co-consuming glucose and glutamine with mixed consumption patterns. *Process Biochemistry*, 48(5), 955-964.

Harris, M. Market-Leading Biotechnology Drugs 2009: Blockbuster Dynamics in an Ailing Economy; BioWorld: Atlanta, 2009.

Komers, K., Skopal, F., Stloukal, R., Machek, J., 2002. Kinetics and mechanism of the KOH -Catalyzed methanolysis of rapeseed oil for biodiesel production. *European Journal of Lipid Science and Technology* 104, 728–737.

Kontoravdi, C.; Samsatli, N.J.; Shah, N. Development and design of biopharmaceutical processes. *Current Opinion in Chemical Engineering.* **2013**, 2.4, 413.

Leung, D.Y.C., Wu, X., Leung, M.K.H., 2010. A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. *Applied Energy* 87, 1083–1095.

Ma, F., Hanna, M.A., 1999. Biodiesel production: a review. *Bioresource Technology* 70, 1-15.

Luna, M., & Martínez, E. (2014). A Bayesian approach to run-to-run optimization of animal cell bioreactors using probabilistic tendency models. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 53(44), 17252-17266.

Luna, M. F., & Martínez, E. C. (2015). Run-to-Run Optimization of Biodiesel Production using Probabilistic Tendency Models: A Simulation Study. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 93(9), 1613-1623.

Mandur, J. S., & Budman, H. M. (2015). Simultaneous model identification and optimization in presence of model-plant mismatch. *Chemical Engineering Science*, 129, 106-115.

Martínez, E. C., Cristaldi, M., Grau, R., (2009). Design of dynamic experiments in modeling for optimization of batch processes. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 48, 3453-3465.

Monod, J., (1949). The Growth of Bacterial Cultures. *Annual Review of Microbiology*.

Ozturk, S. S., Riley, M. R., & Palsson, B. Ø. (1992). Effects of ammonia and lactate on hybridoma growth, metabolism, and antibody production.

Quelhas, A. D., de Jesus, N. J. C., & Pinto, J. C. (2013). Common vulnerabilities of RTO implementations in real chemical processes. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 91(4), 652-668.

Sahinler, S., & Topuz, D. (2007). Bootstrap and jackknife resampling algorithms for estimation of regression parameters. *Journal of Applied Quantitative Methods*, 2(2), 188-199.

Srinivasan, B., & Bonvin, D. (2003, June). Convergence analysis of iterative identification and optimization schemes. In *American Control Conference, 2003. Proceedings of the 2003* (Vol. 3, pp. 1956-1960). IEEE.

CAPÍTULO 4

Análisis de Convergencia

CAPÍTULO 4: Análisis de Convergencia

En este capítulo, se analizará la convergencia del método de optimización experimental propuesto en el capítulo anterior. Primero, se profundizará en el concepto de tendencia de un modelo y cómo éste influye en la convergencia. Luego, se ilustrará lo expuesto mediante el análisis del caso de estudio presentado como ejemplo 1 del capítulo anterior.

4.1 Influencia de la Tendencia del Modelo en la Convergencia

Para analizar la convergencia del método, es útil primero definir el concepto de *entorno*. El entorno de un punto \mathbf{u}_o del dominio de optimización es el subdominio que cumple:

$$N_{(\mathbf{u}_o)} = \{ \mathbf{u} \mid \| \mathbf{u} - \mathbf{u}_o \| < \delta \} \quad (4.1)$$

donde δ es un número positivo suficientemente pequeño. En el marco de la metodología propuesta, el entorno de \mathbf{u}_o es el subdominio de las condiciones de operación cercanas a la usada para obtener el modelo. Uno de los supuestos fundamentales en optimización basada en modelos, es que el modelo ajusta bien en el entorno de los puntos usados para ajustarlo. Luego, en el entorno de \mathbf{u}_o , para cualquier \mathbf{u} :

$$\begin{aligned} J_{(\mathbf{u})} &\approx J_{R(\mathbf{u})} \\ \mathbf{C}_{(\mathbf{u})} &\approx \mathbf{C}_{R(\mathbf{u})} \\ \mathbf{D}_{(\mathbf{u})} &\approx \mathbf{D}_{R(\mathbf{u})} \end{aligned} \quad (4.2)$$

Y si esto se cumple, en el entorno de \mathbf{u}_0 es de esperar que también se cumpla:

$$J_{R(\mathbf{u}^*)} \approx J_{R(\mathbf{u}_R^*)}$$

$$\mathbf{u}^* = \mathbf{u}_R^*$$
(4.3)

Es decir, si el modelo predice de manera exacta en un dominio cercano a las condiciones de operación usadas para el ajuste (\mathbf{u}_0), el óptimo predicho por el modelo tendrá una performance igual al óptimo real. Si al ampliar el dominio a condiciones lejanas el modelo aún ajusta bien, (4.2) y (4.3) también se cumplen y la solución del problema de optimización usando el modelo ajustado en \mathbf{u}_0 permite encontrar el óptimo real.

Si esto es válido en el entorno de \mathbf{u}_0 pero no en todo el dominio, no hay garantía de que al resolver el problema de optimización usando el modelo se encuentre el óptimo real, ya que las predicciones para la performance de \mathbf{u}^* y el valor real no serán iguales. Incluso la performance real del óptimo propuesto respecto a \mathbf{u}_0 puede disminuir debido a la errónea predicción del modelo.

El paso de reducción de la región de operación tiene como objetivo eliminar regiones del dominio lejanas al punto \mathbf{u}_0 . Esto es, reduce la región de optimización en torno a dicho punto. Si el paso de reducción se realiza una cantidad suficiente de veces, la región de operación se convertirá en el entorno de \mathbf{u}_0 y, si el modelo ajusta bien en esa zona, en dicho dominio el óptimo real y el predicho serán prácticamente los mismos. Obviamente este óptimo es para una región reducida,

por lo que si bien se trataría de una mejora, podría no ser el óptimo real del proceso. En la metodología desarrollada en este trabajo, se propone usar la información del nuevo experimento como *feedback* experimental, tomándolo como nuevo valor de \mathbf{u}_0 para iniciar una nueva iteración. Si cada iteración genera una mejora en la performance del proceso, es de esperar que sucesivas iteraciones lleven al método hasta el óptimo real.

Es importante notar que la mejora en la performance puede darse incluso si la predicción del modelo y el valor real no son iguales. Por lo tanto, no es estrictamente necesario que el modelo *ajuste bien*, sino que es deseable que se cumpla, en el entorno de \mathbf{u}_0 :

$$J_{R(\mathbf{u}^*)} > J_{R(\mathbf{u}_0)} \quad (4.4)$$

o lo que es lo mismo:

$$\mathbf{u}^* \in ROI_{(\mathbf{u}_0)} \quad (4.5)$$

de acuerdo a lo definido en el capítulo 2, donde la región de mejora es:

$$ROI_{(\mathbf{u}_0)} = \left\{ \mathbf{u} \mid J_{R(\mathbf{u})} > J_{R(\mathbf{u}_0)} \right\} \quad (4.6)$$

Esta es la definición de *buena tendencia* introducida en el capítulo 2: un modelo tiene buena tendencia si puede predecir cualitativamente el cambio en la performance en la nueva condición de operación (\mathbf{u}) con respecto a la condición donde fue ajustado (\mathbf{u}_0). Obviamente, que la predicción sea buena cuantitativamente es también deseable ya que aumenta la eficiencia de la

metodología, pero no es una condición necesaria para la convergencia del método.

Si en el entorno de \mathbf{u}_0 el modelo *tiene buena tendencia* y la región de optimización se reduce suficientemente, finalmente dicha región estará dentro del entorno de \mathbf{u}_0 y el problema de optimización será resuelto dentro de la región de mejora.

Como se vio en el capítulo 2, si el modelo tiene *buena tendencia* en una determinada región, la solución del problema de optimización cumplirá entonces

$J_{R(\mathbf{u}^*)} > J_{R(\mathbf{u}_0)}$, generando una mejora con respecto a la performance

La sucesiva aplicación de la técnica de reducción puede generar una mejora en la performance del proceso incluso si la región de optimización no se redujo lo suficiente para ser completamente incluida por el entorno de \mathbf{u}_0 . Luego, dicho óptimo se toma como nuevo punto de ajuste y puede iniciarse una nueva iteración del método.

Como conclusión, el requerimiento para asegurar que el método converja hacia un óptimo es que el modelo tenga buena tendencia en el entorno de las condiciones de operación usadas para el ajuste, para cualquier condición de operación correspondiente al dominio completo de optimización. De este modo, en cada iteración se obtendrá una mejora y, al cabo de sucesivas iteraciones, se llegará a un valor óptimo de la performance. Por otro lado, esto no es condición necesaria para la optimización, ya que basta con que el método se mueva por condiciones de operación donde el modelo tenga buena tendencia (pero en este caso el éxito no está asegurado).

Para entender un poco mejor estas ideas, se analiza un ejemplo conceptual en el que se busca resolver un problema de optimización. En la figura 4.1a, se muestran las curvas de nivel para la performance de un proceso (en línea negra) y las curvas de nivel para la predicción del modelo ajustado con información del punto \mathbf{u}_0 (en línea de trazos blancos). El óptimo predicho por el modelo tiene una performance real menor que la del punto \mathbf{u}_0 , por lo tanto la reducción de la región de operación se aplica dando lugar al dominio reducido de la figura 4.1b. En este dominio, el óptimo propuesto tiene una performance superior a la de \mathbf{u}_0 , aunque el valor predicho y el real no son necesariamente iguales. El modelo se ajustará nuevamente en este punto en una nueva iteración y la metodología puede seguir en su búsqueda del óptimo en el dominio completo.

La región de mejora para el proceso real y la predicha por el modelo se comparan en la figura 4.2. En la figura 4.2a, la región de mejora del proceso real se muestra resaltada, mientras que la del modelo se muestra en línea de trazos blancos como referencia. En la figura 4.2b es la región de mejora predicha por el modelo la resaltada, mientras que la real se muestra con línea de trazos negros. Al comparar ambas figuras, se ve que la región de mejora predicha por el modelo contiene casi en su totalidad a la real, pero además se extiende a una zona donde la mejora real no existe. Es en esta última zona donde el modelo predice el óptimo, y es por eso que la performance se reduce. Al reducir la región de optimización, esta zona donde el modelo no tiene buena tendencia queda excluida y la metodología logra encontrar un óptimo.

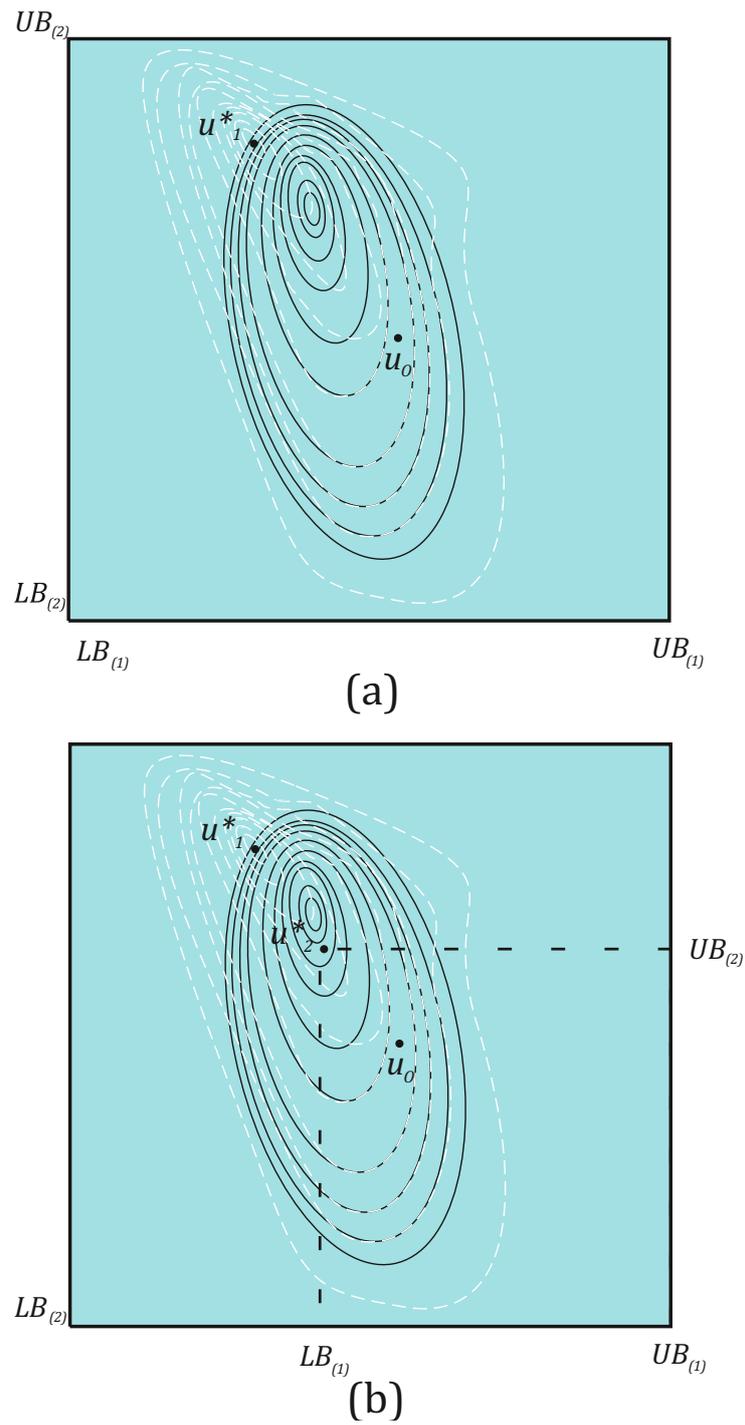
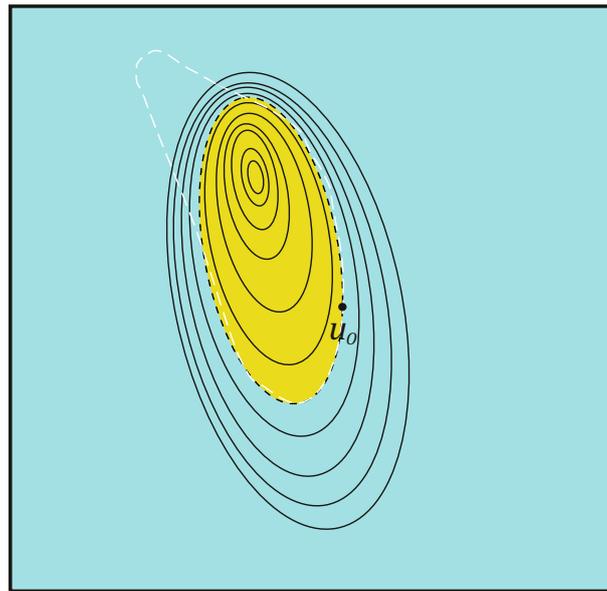
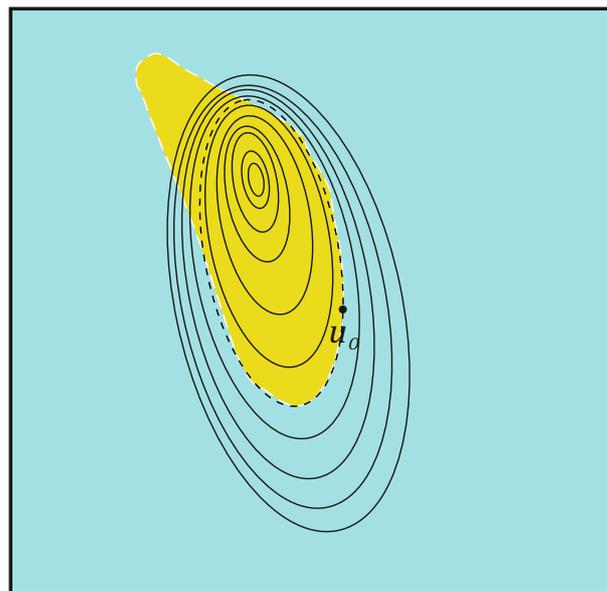


Figura 4.1 - (a) Superficie de respuesta real y aproximación del modelo para el ejemplo conceptual. (b) Reducción de la región de operación y resultado de la reoptimización.



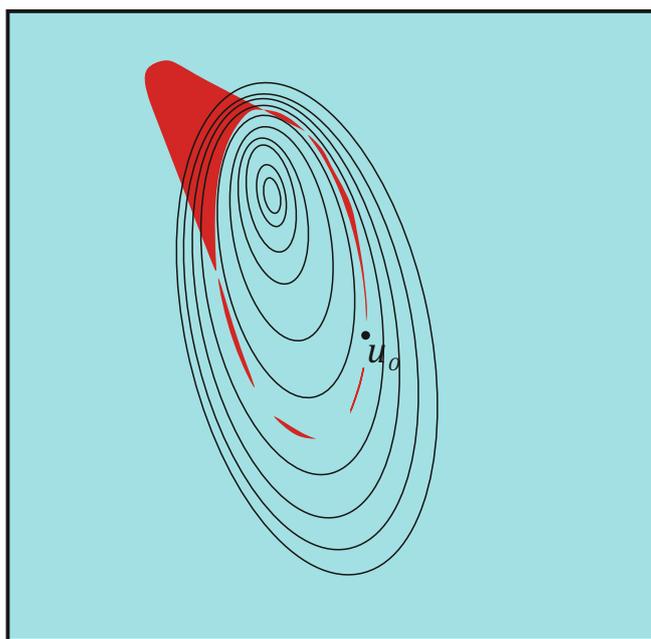
(a)



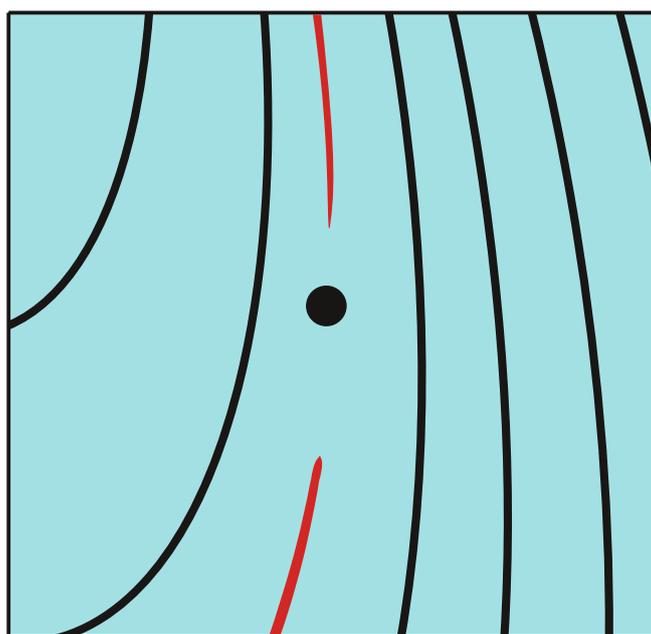
(b)

Figura 4.2 - (a) Región de mejora real para el ejemplo propuesto y (b) la predicha por el modelo.

La buena tendencia del modelo puede interpretarse en términos de la diferencia entre las regiones de mejora real y predicha. Donde una de estas regiones de mejora no se superponga con la otra, la tendencia no es buena, ya que o bien el modelo predice una mejora donde no la hay, o bien el modelo predice que la performance no mejorará en determinada condición operatoria cuando en realidad sí lo hace. Esto se ilustra en la figura 4.3a, donde la región donde el modelo no tiene buena tendencia se muestra resaltada. El óptimo \mathbf{u}^*_1 predicho inicialmente cae en esta zona, pero al reducir la región de optimización buena parte de la zona donde la tendencia no es buena queda excluida. Si bien esta eliminación no es total y aún hay regiones sin buena tendencia, estas son una fracción menor de la región de optimización, lo que es suficiente para que el modelo prediga el óptimo \mathbf{u}^*_2 que produce una mejora. En 4.3b se muestra una ampliación a la región cercana \mathbf{u}_0 , donde puede apreciarse que en el entorno de esta condición de operación el modelo tiene buena tendencia. Esto asegura una mejora en la performance del proceso para la presente iteración de la metodología que permitirá un nuevo ajuste del modelo y una nueva iteración.



(a)



(b)

Figura 4.3 - (a) Tendencia del modelo. (b) Ampliación de la región en torno de u_0 .

Para entender mejor el requisito de convergencia, es útil estudiar el caso en que el modelo no puede capturar la tendencia del proceso. En la figura 4.4, se muestra la misma superficie de respuesta real, pero ahora usando otro modelo (en trazo blanco). Como puede verse en la figura 4.4a, la predicción del óptimo no genera una mejora, por lo que la metodología reduce la región de optimización. La nueva región puede verse en la figura 4.4b, junto con el nuevo óptimo propuesto, que tampoco mejora la performance. Una tercera reducción seguida de una nueva reoptimización dan como resultado la figura 4.4c. La performance no mejora, y puede esperarse que, por la forma de las curvas de nivel que predice el modelo y la forma en que se reduce la región de optimización, no lo haga en las próximas reducciones. Esta conjetura puede confirmarse en la figura 4.5. En la figura 4.5a, se muestran conjuntamente las regiones de mejora real y predicha por el modelo. La región donde el modelo no tiene buena tendencia se analiza según lo propuesto anteriormente en este capítulo: aquellas regiones donde las mejoras predichas y reales no se superpongan, no tendrán buena tendencia. Esto puede verse en la figura 4.5b: el modelo no captura la tendencia en una gran parte del dominio, ni siquiera en el entorno de \mathbf{u}_0 . Una ampliación de la figura 4.5b puede verse en la figura 4.6. Debido a que la tendencia no mejora al reducir la región de optimización, la performance no aumenta y el método no converge hacia un óptimo.

Lo expuesto aquí sirve para remarcar la importancia de un buen modelo en el éxito de la metodología. Si bien la reducción de la región de optimización mejora la convergencia, la adopción y parametrización del modelo siguen siendo una etapa fundamental en el esquema de optimización.

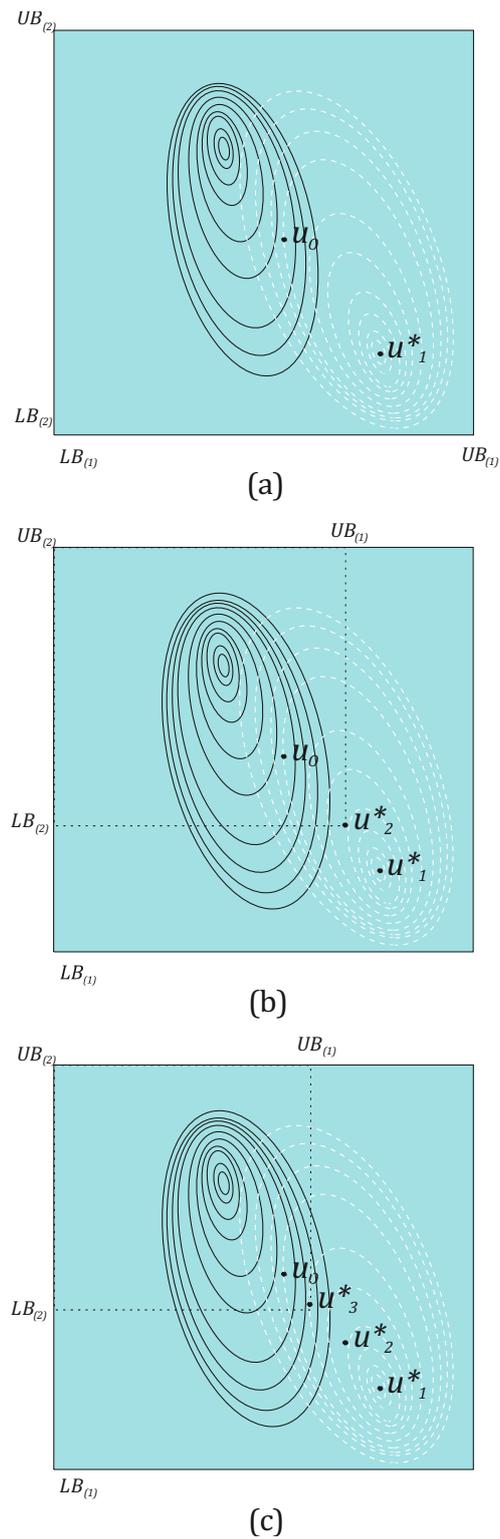
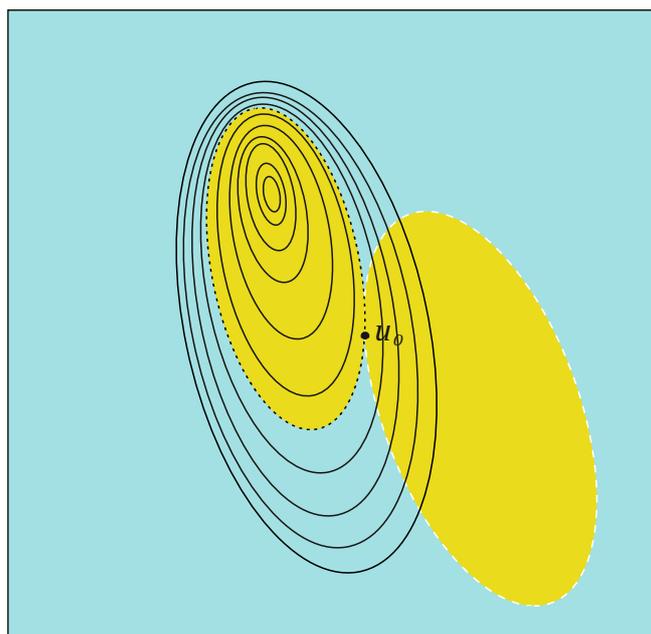
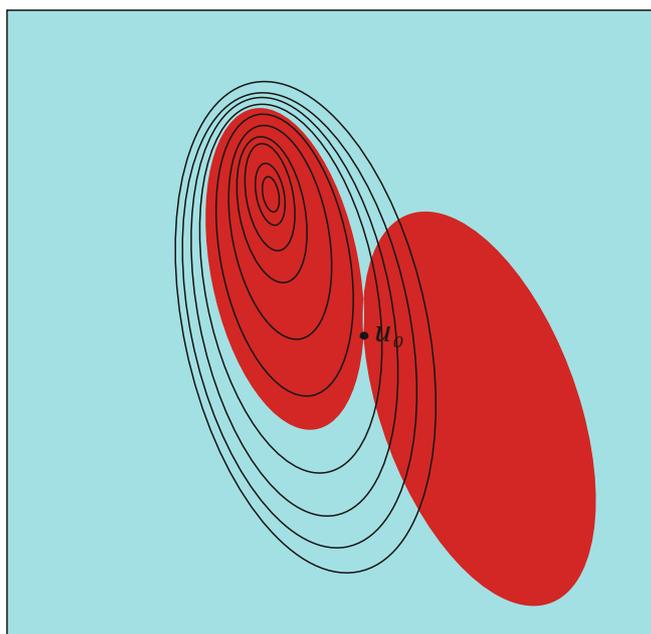


Figura 4.4 - (a) Superficie de respuesta real y aproximación del segundo modelo para el ejemplo conceptual. (b) Primera y (c) segunda reducciones de la región de operación.



(a)



(b)

Figura 4.5 - (a) Regiones de mejora real y predicha por el modelo. (b) Tendencia del modelo.

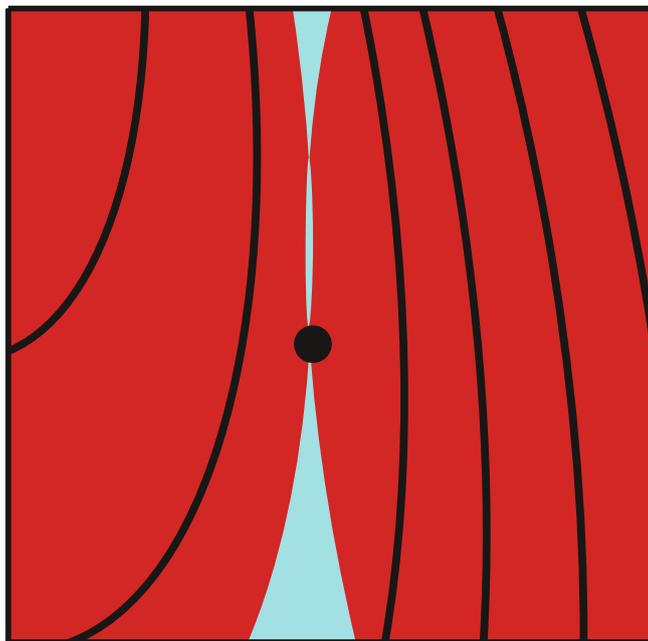


Figura 4.6 - Ampliación de la región en torno de u_0 mostrando la tendencia del modelo.

Antes de terminar esta sección, vale la pena analizar un nuevo ejemplo conceptual para mostrar el efecto de la reducción de la región en la convergencia del método. En la figura 4.7 se muestra la curva de respuesta para un proceso con variable de operación u y performance J . En la figura 4.7a, se muestra la política exploratoria utilizada para ajustar el modelo (marcada con un cuadrado blanco). Cabe recordar que la performance J no es la única respuesta que se obtiene al realizar un experimento en u . En 4.7b se muestra el modelo resultante del ajuste y el siguiente punto experimental, resultado de usar el modelo para optimizar el proceso. Este punto tiene una performance igual a la del experimento anterior, por lo tanto no hay mejora. Si la región de optimización no se reduce y, en vez de eso se utiliza el nuevo punto experimental para ajustar el modelo nuevamente, se obtiene el resultado de la figura 4.7c. Aquí, el punto experimental producto de optimizar usando el nuevo modelo resulta ser la política exploratoria inicial. La performance no mejora, y si se decidiera ajustar nuevamente el modelo usando estas condiciones experimentales, hay altas probabilidades de que la parametrización del modelo sea nuevamente la inicial, que predecirá el mismo óptimo, quedando atrapada la metodología en un bucle donde no hay mejora de la performance. En 4.7d se muestra que, si la región de optimización se reduce y se optimiza reusando el modelo sin actualizar, se produce una mejora a partir de la cual sí puede actualizarse la parametrización y continuar con la metodología. Obviamente este es sólo un caso particular, pero sirve de ejemplo para ilustrar uno de los problemas que presenta la optimización basada en modelos y como la reducción de la región de optimización ayuda a resolverlo.

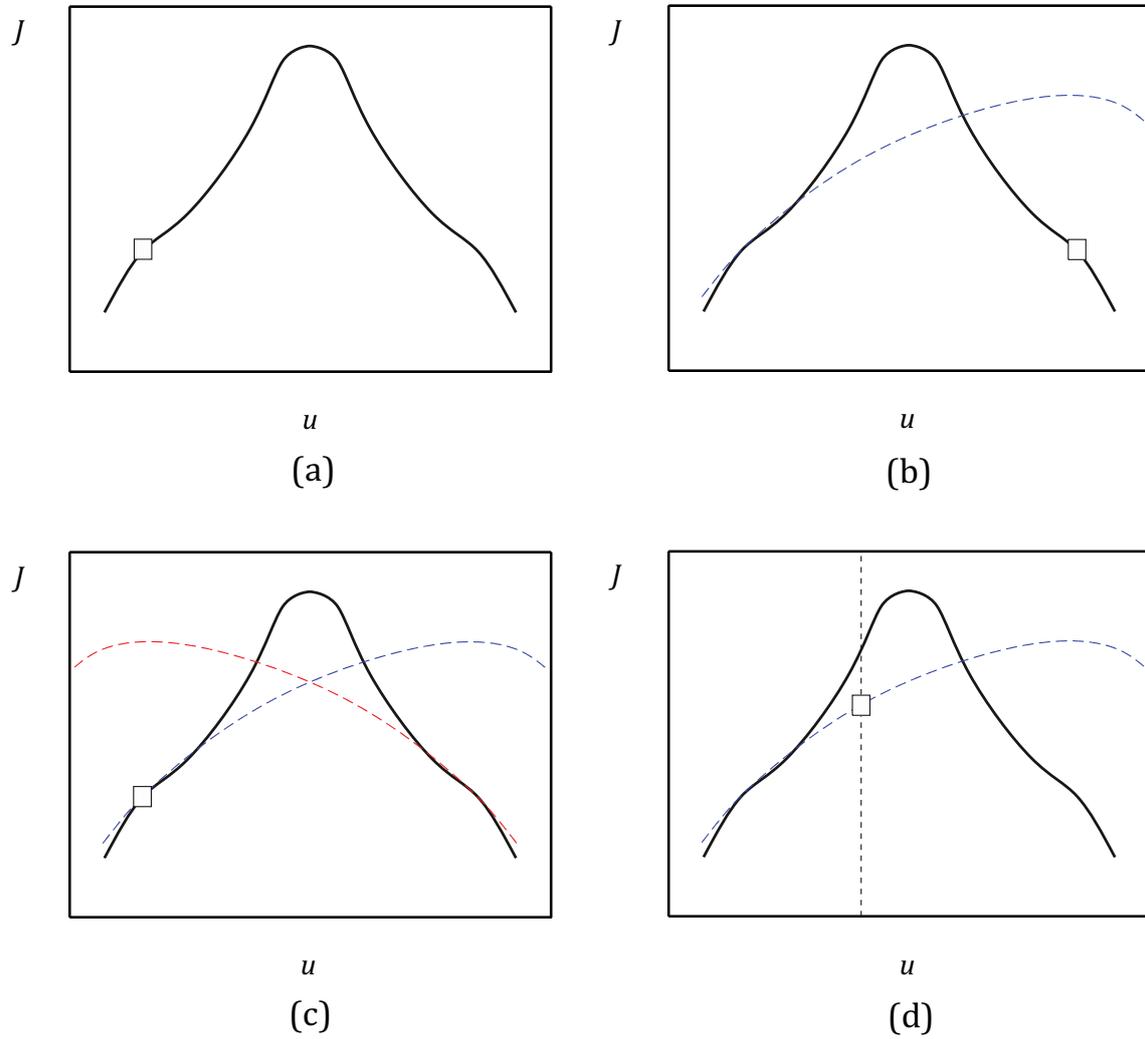


Figura 4.7 - Análisis del segundo ejemplo conceptual presentado en este capítulo.

4.2 Análisis experimental de la convergencia

Para mostrar la convergencia del método en la práctica, se utiliza el primer caso de estudio del capítulo anterior. Debido a que las mediciones son perturbadas con un error Gaussiano de 5%, las predicciones del modelo pueden verse afectadas y, dos experimentos en las mismas condiciones pueden dar lugar a distintos ajustes del modelo. La política exploratoria utilizada en el ejemplo 1 del capítulo 3 se denomina ahora \mathbf{u}_0^a , y la metodología se implementa 5 veces empezando desde ese punto. Los resultados se detallan en la tabla 4.1:

#	Número de experimentos	u_1^* [l/min]	u_2^* [min]	ϕ	$J_{R(u^*)}$
1	12	7,40E-03	154,22	5,9042	1,3972
2	17	8,28E-03	142,50	7,4093	1,4179
3	18	8,44E-03	130,28	1,2391	1,4220
4	25	8,40E-03	134,25	9,2045	1,4227
5	12	8,35E-03	140,41	1,0200	1,4168

Tabla 4.1 - Resultados de la implementación repetidas veces de la metodología propuesta desde la misma política exploratoria.

Para calcular el costo de desarrollo, el mismo número de experimentos debe ser tenido en cuenta para cada implementación de la metodología, y en este caso es tomado como igual a 26. Para implementaciones con menor número, la performance de los experimentos adicionales es igual al óptimo encontrado. Como puede verse, el método siempre llega a la zona de alta performance, aunque con diferente número de experimentos y costo experimental. Este último aumenta considerablemente cuando un lote no cumple la restricción C_1 .

La metodología se inicializa desde distintas políticas exploratorias para estudiar su robustez. En cada política exploratoria, el método se implementa 5 veces. Los resultados se adjuntan en la tabla 4.2, y la superficie de respuesta real junto con las políticas exploratorias ensayadas se muestra en la figura 4.8

#	Número de experimentos	u_1^* [l/min]	u_1^* [min]	φ	$J_{R(u^*)}$
$u_0^b = [1,8E-2 \text{ l/min}; 30 \text{ min }]$					
1	26	8,04E-03	142,64	7,6750	1,4152
2	15	1,29E-02	66,64	14,5298	1,3086
3	14	8,21E-03	149,94	8,9110	1,4084
4	21	7,45E-03	152,47	10,5095	1,4000
5	26	8,10E-03	143,29	12,0271	1,4166
$u_0^c = [3E-3 \text{ l/min}; 180 \text{ min }]$					
1	14	8,00E-03	141,40	1,6869	1,4157
2	18	8,03E-03	149,61	3,4263	1,4109
3	11	8,06E-03	146,66	1,3224	1,4150
4	16	7,50E-03	158,91	1,6974	1,3989
5	15	7,09E-03	165,13	2,5359	1,3832
$u_0^d = [7,5E-3 \text{ l/min}; 70 \text{ min }]$					
1	24	8,21E-03	139,96	2,8754	1,4188
2	10	8,01E-03	147,11	1,2351	1,4107
3	7	8,32E-03	137,67	1,0167	1,4197
4	9	8,23E-03	145,83	2,6493	1,4140
5	10	7,92E-03	144,53	3,0533	1,4136

Tabla 4.2 - Resultados de la implementación de la metodología sucesivas veces desde distintas políticas exploratorias.

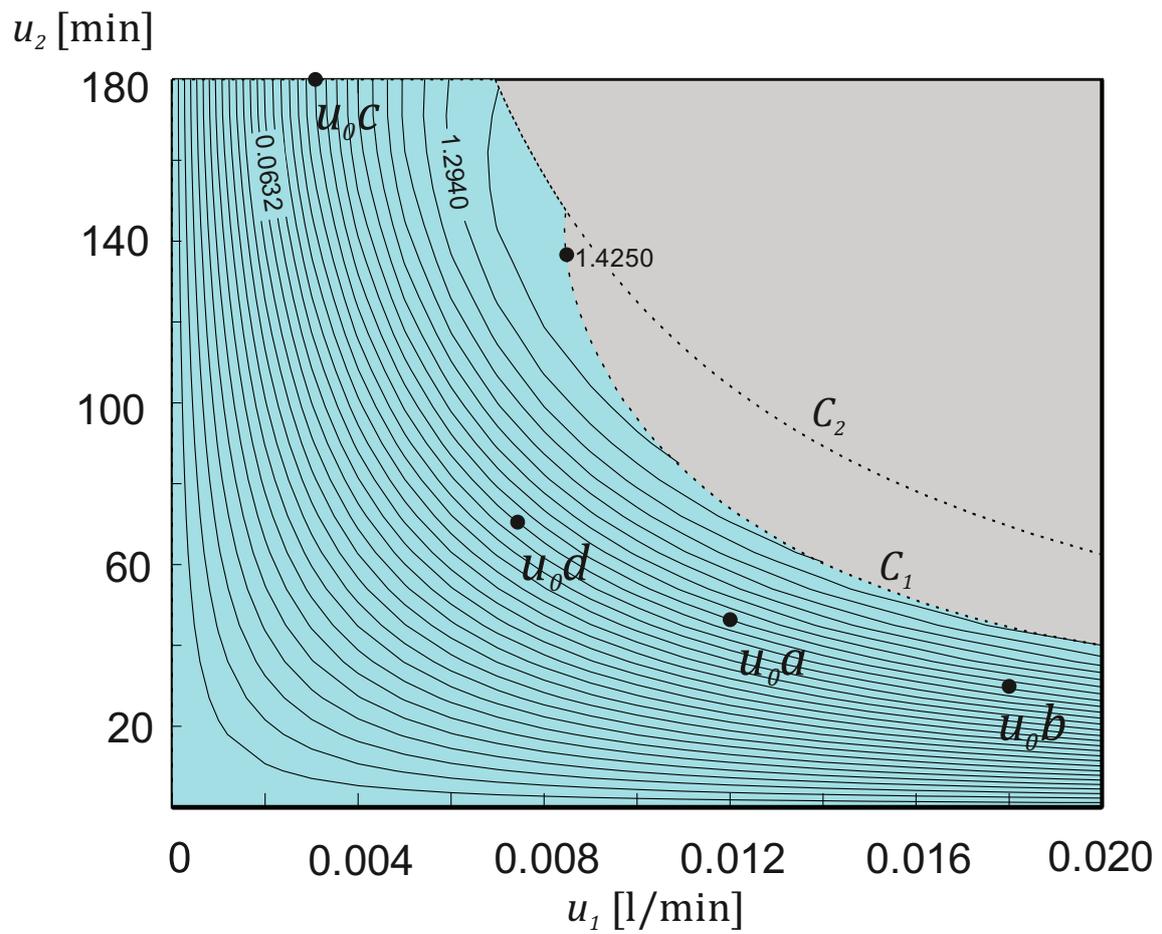


Figura 4.8 - Superficie de respuesta real para el ejemplo propuesto y las distintas condiciones de operación iniciales ensayadas.

Nuevamente, el método logra encontrar políticas con alta performance en la mayoría de las implementaciones. Las mayores diferencias se encuentran en el número de experimentos y en el costo de desarrollo. Un comentario especial merece el caso de \mathbf{u}_0^b , que tiene algunas dificultades para llegar al óptimo: altos costos de desarrollo, gran cantidad de experimentos y baja performance en uno de los casos (comparados con los resultados de otras implementaciones). Esto se debe principalmente a la ubicación de la política exploratoria, que está en las cercanías de la restricción C_1 . Como resultado, algunos experimentos son realizados en la región de no factibilidad, lo que aumenta considerablemente el costo de desarrollo e incluso detiene prematuramente la búsqueda de mejora de la performance. Desde el punto de vista práctico, esta política exploratoria no es una buena candidata a ser escogida, dado que implica una alimentación rápida de B en un corto período de tiempo, generando una alta concentración de este reactivo. Esto hace que sea más probable que se genere la impureza y que caiga el rendimiento, según el esquema de reacción. Sin embargo, fue incluida en este análisis para mostrar que incluso partiendo de estas condiciones, el método logra aumentar la performance del proceso.

4.3 Resumen del capítulo

En este capítulo se analizó la convergencia del método propuesto. Se retomaron los conceptos presentados anteriormente sobre *buen ajuste* y *buena tendencia* y se mostró que, si bien es deseable que el modelo cumpla con la primer condición, sólo es necesario que cumpla con la segunda en cada iteración para lograr sucesivas mejoras que lleven hacia el óptimo real del proceso. Se ilustró con ejemplos

conceptuales y se justificó la adición de un paso de reducción de la región de optimización al tradicional esquema de optimización en dos pasos.

El capítulo termina con un análisis de la convergencia del ejemplo presentado en la sección 3.6.1, donde puede verse que el método permite encontrar condiciones óptimas de operación de manera confiable partiendo desde diferentes políticas exploratorias.

3.7 Bibliografía usada en este capítulo

Quelhas, A. D., de Jesus, N. J. C., & Pinto, J. C. (2013). Common vulnerabilities of RTO implementations in real chemical processes. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 91(4), 652-668.

Srinivasan, B., & Bonvin, D. (2003, June). Convergence analysis of iterative identification and optimization schemes. In *American Control Conference, 2003. Proceedings of the 2003* (Vol. 3, pp. 1956-1960). IEEE.

CAPÍTULO 5

Verificación experimental

CAPÍTULO 5: Verificación experimental

La metodología presentada en esta tesis ha mostrado ser promisorio para la mejora de procesos innovadores. En capítulos anteriores, se utilizó simulación para generar los datos experimentales mediante modelos complejos. Sin embargo, la práctica industrial real es mucho más compleja que cualquier modelo computacional. Lograr una técnica operatoria que asegure repetibilidad de los resultados es un desafío en todas las escalas de proceso, cuya complejidad va en aumento al trabajar con mayores volúmenes. Incluso en el caso de procesos con alto nivel de automatización y control, los fenómenos fisicoquímicos son generalmente muy complejos para ser representados por modelos de decenas, cientos o incluso miles de ecuaciones. Esto es particularmente cierto para el caso de sistemas biológicos. Muchas interacciones inesperadas entre los distintos elementos del proceso pueden aparecer (por ejemplo, el efecto del sistema de agitación sobre las células de un biorreactor). Por lo tanto, es deseable testear la metodología con un ejemplo real a escala banco: la producción de biomasa a partir de la levadura de panadería o baker's yeast (de la especie *Saccharomyces cerevisiae*). Este ejemplo resulta útil para ver la implementación práctica del método y sirve de confirmación definitiva de su utilidad. Además, es de gran interés ya que resulta representativo del proceso de producción de biomasa de microorganismos en general, que forma parte de cualquier proceso biotecnológico.

5.1 Bioprocesos

Los bioprocesos son procesos productivos donde un organismo vivo (o alguno de sus componentes) es parte fundamental en la obtención del producto. Si bien son conocidos desde la antigüedad (un ejemplo es el proceso de fermentación de bebidas alcohólicas), es un área muy prometedora en la industria de procesos ya que, gracias a los avances en ingeniería genética y biotecnología, permite obtener productos complejos de otra manera imposibles de producir, o hacerlo de una manera más económica. Resultan de especial interés en el ámbito de la industria farmacéutica, de la química fina y de la alimenticia. Otro uso muy extendido y con gran potencial es en el procesamiento de efluentes: un organismo adecuado puede utilizarse para eliminar un contaminante con relativa facilidad y bajo costo (en comparación a otros procesos). Finalmente, otra aplicación bastante difundida y aún en desarrollo es la producción de fuentes de energía alternativa, a partir de materias primas renovables (un ejemplo es el caso de los biodigestores), que resulta no solamente económica sino también ambientalmente sustentable.

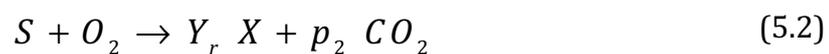
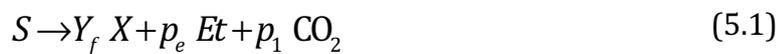
Por otra parte, los bioprocesos suelen presentar ciertos desafíos que es necesario afrontar para poder aprovechar su gran potencial. Obviamente, las condiciones de higiene y las buenas prácticas de manufactura son vitales en estos procesos, donde la contaminación (química o biológica) puede tener consecuencias negativas en el resultado. Desde el punto de vista operacional, presentan condiciones que deben ser cumplidas de un modo mucho más estricto para que el proceso funcione correctamente. Los valores de temperatura, pH, agitación, entre otros, deben estar controlados dentro de un rango mucho menor que en otros procesos. Esto hace

que puedan existir restricciones en las condiciones de operación que deben ser tenidas en cuenta. Aún más desafiante es la incertidumbre relacionada al comportamiento de los bioprocesos. Debido a la gran variedad de organismos disponibles y a su elevada complejidad, no es fácil desarrollar conocimiento general que describa cualquier proceso en particular. Sumado esto a la velocidad a la que se producen nuevas cepas y modificaciones, y al poco tiempo que suele tenerse para desarrollar un proceso innovador, la metodología propuesta en esta tesis resulta de interés para la optimización de bioprocesos innovadores.

5.2 Levadura

La levadura es un microorganismo usado ampliamente en la industria de procesos. Probablemente sus usos más notable sean en la industria de panadería (baker's yeast) y en la industria del alcohol y bebidas alcohólicas (brewer's yeast). Sin embargo, presenta otros usos muy prometedores a futuro, como la producción de biofármacos a partir de cepas modificadas genéticamente. En la actualidad, se estima que el 20% de los productos biotecnológicos son generados por levaduras (Nielsen et al., 2013). Excepto en el caso donde la levadura se utiliza como alimento (extracto de levadura y suplementos de proteína en dietas sin alimentos de origen animal), en general la función de la levadura es la de un biocatalizador: transforma una materia prima en una serie de productos a través de reacciones metabólicas. En el caso de la industria de panadería, el producto es dióxido de carbono, necesario para leudar el pan; en la industria del alcohol, el producto es el etanol y en la industria farmacéutica lo que se produce es un principio activo más complejo. Junto con el producto deseado, se generan además otros subproductos

metabólicos y puede generarse biomasa (las células de levadura se reproducen). El resultado del proceso depende tanto de la naturaleza de levadura como de las condiciones de operación. Es de especial importancia el denominado efecto Crabtree: dependiendo de las condiciones de operación (principalmente la concentración de oxígeno disuelto y la concentración de fuente de carbono), la levadura puede operar en distintos modos metabólicos, cada uno con sus productos y rendimientos particulares. En exceso de fuente de carbono o baja concentración de oxígeno el microorganismo fermenta, generando etanol y biomasa, pero esta última con un rendimiento biomasa/fuente de carbono baja. En condiciones de baja glucosa y suficiente oxígeno, la vía respiratoria prevalece, generando biomasa con alto rendimiento y sin generación de etanol. El balance macroscópico puede escribirse como sigue:



donde Y y p son rendimientos. El etanol generado por la fermentación puede ser oxidado totalmente a dióxido de carbono en presencia de oxígeno (es una fuente de carbono oxidable) y ausencia de otras fuentes de carbono:



En las industrias mencionadas anteriormente, es necesaria una etapa de generación de levadura. Si bien la cantidad de levadura puede aumentar durante distintas etapas del proceso y puede ser reutilizada en distintos lotes, es necesaria una etapa específica de generación de levadura que provea de una cantidad de masa considerable del microorganismo. Como se mencionó anteriormente, en este

ejemplo se trabajará en la propagación de la levadura de panadería o baker's yeast. Para poder suplir toda la demanda, la producción de baker's yeast se ha masificado y hoy existe una industria especializada en la generación de este microorganismo para su posterior uso en panadería. Es decir, la levadura se vende como intermediario o insumo. Para producir la biomasa, se necesita una fuente de carbono, nutrientes y oxígeno. En general se trabaja en un medio acuoso, donde la levadura se encuentra en suspensión. En las condiciones operativas adecuadas, la levadura se reproduce transformando la materia prima en más levadura, junto a otros subproductos. La suspensión es luego derivada a un sector de recuperación donde se separa la biomasa, se granula y se seca. Es necesario volver a hacer hincapié en las condiciones de operación para la etapa de reproducción. Cada modo metabólico tiene distintos rendimientos respecto a las fuentes de materia prima, y distintas velocidades de crecimiento. Como consecuencia, es necesario encontrar políticas óptimas para maximizar la performance del proceso. En el caso de la producción de biomasa, el modo deseado es la respiración, ya que su rendimiento con respecto a la fuente de carbono es mayor.

Las materias primas usadas como fuentes de carbono son carbohidratos: glucosa, sacarosa, fructosa o almidón hidrolizado son ejemplos típicos. Los nutrientes necesarios son nitrógeno (suministrado como amonio acuoso, sales de amonio o úrea), fósforo (ácido fosfórico) y otros minerales suministrados como sales (sodio, potasio, hierro, magnesio, etc). Algunas cepas necesitan una fuente de vitamina B. Las melazas (derivados de origen natural como la caña de azúcar) son fuentes de carbono y de nutrientes muy económicas, y resultan una de las más usadas en la industria. La fuente de oxígeno en general es aire (aunque puede usarse el gas

puro), que se burbujea en la mezcla líquida. Es importante resaltar la necesidad de un buen suministro de aire para garantizar la vía respiratoria.

El proceso batch tradicional sin entrada ni salida de reactivos y productos está claramente desfavorecido ya que, o bien trabaja con baja concentración inicial de carbohidratos, que implica poca materia prima alimentada y por ende baja productividad por unidad de volumen, o trabaja con alta concentración inicial de carbohidratos, lo que causará que el proceso sea conducido por la vía fermentativa, que tiene bajo rendimiento biomasa/fuente de carbono y genera además etanol, que en altas concentraciones inhibe el crecimiento. Para evitar estas condiciones adversas, se desarrolló en Alemania y Holanda, entre la década de 1910 y 1920, el proceso denominado *Zulauf-Verfahren*, que puede traducirse del alemán como "proceso con alimentación" y que es comúnmente referido en ingeniería de procesos por su nombre en inglés de proceso *fed-batch*. En este modo de operación del biorreactor, se alimenta una solución de carbohidrato de manera que se repone constantemente la fuente de carbono consumida por la levadura, manteniendo la concentración baja pero la productividad alta, ya que la cantidad de materia prima alimentada total es grande (con cuidado de no alimentar en exceso para no aumentar los niveles de glucosa y promover la vía fermentativa). Debido a que no hay remoción del medio durante el proceso (sólo alimentación), este proceso también es llamado semi-batch o semi-continuo.

El perfil de alimentación usado depende de varios factores. Uno de los principales es la naturaleza de la levadura. Diferentes cepas poseen diferentes comportamientos, y esto influye en la operación del biorreactor. Otras variables

operativas como temperatura, pH, composición del medio de cultivo, agitación y suministro de O₂ interactúan con el perfil de alimentación para afectar la productividad y el rendimiento del proceso. La política óptima de operación será la combinación de variables de proceso que permitan generar la mejor performance posible. Esta última puede ser diseñada de distintas formas, dependiendo del problema planteado y la definición de la performance adoptada (cantidad de biomasa generada, rendimiento respecto de la fuente de carbono para lograr una producción determinada de levadura, beneficio neto económico, etc).

5.3 Planteo del problema

Para ilustrar la aplicación del método propuesto en esta tesis para la industria de bioprocesos, se plantea un proceso de generación biomasa de baker's yeast basado en el proceso *Zulauf*. La levadura se producirá mediante operación fed-batch en un biorreactor a escala banco. La política de operación a ser optimizada es el caudal de alimentación de glucosa (fuente de carbono), manteniéndose controladas el resto de las variables de proceso. La formulación del problema es la siguiente:

En un biorreactor cargado con una solución de medio de cultivo e inoculado con levadura, se alimenta en modo fed-batch una solución de glucosa. Se mantienen controladas todas las condiciones de operación (temperatura, pH, agitación, etc.), y se desea optimizar el perfil de alimentación de modo de obtener la mayor performance posible. Esta se define como el beneficio producido en el experimento:

$$J = \Delta X - a \text{Glc}_{Add} \quad (5.4)$$

donde ΔX es la biomasa generada, Glc_{Add} es la glucosa total suministrada y a es un factor de peso relativo (la relación de precio entre ambos), cuyo valor es 0.3. Para esto, se usará la metodología propuesta en esta tesis, de manera de lograr el desarrollo del proceso a través de un adecuado número de experimentos. Las mediciones a ser tomadas son las concentraciones de glucosa y de biomasa. El perfil de alimentación será compuesto de escalones que pueden variar su valor en el tiempo.

En la industria biotecnológica, es común el uso de formas incrementales para los perfiles. Es decir, que el perfil vaya aumentando con el tiempo. Lo anterior es consecuencia de que un aumento en la cantidad biomasa requiere mayor suministro de fuentes de carbono para mantener condiciones operativas similares a medida que pasa el tiempo (por ejemplo: velocidad de crecimiento, cantidad residual de carbohidratos, estado metabólico, etc). Para facilitar la optimización del proceso, es conveniente forzar el perfil de alimentación usando la siguiente ecuación:

$$F_i = F_{i-1} + \Delta F_i \quad (5.5)$$

Donde F_i es el valor del escalón y ΔF_i es el incremento (siempre positivo) que debe hacerse en cada etapa. De este modo, se asegura que el caudal sea creciente (o cuanto menos constante).

Respecto de la función objetivo seleccionada, ésta está motivada en el beneficio económico que puede dar un lote. Por simplicidad, se excluyen gastos fijos como amortización del equipo, gastos operacionales, suministros secundarios y mano de

obra. Definiendo el beneficio como la diferencia entre el valor de la biomasa producida menos el costo de glucosa utilizada:

$$\text{Beneficio} = \text{precio biomasa} \times \text{biomasa generada} - \text{precio glucosa} \times \text{glucosa suministrada} \quad (5.6)$$

$$\frac{\text{Beneficio}}{\text{precio biomasa}} = \text{biomasa generada} - \frac{\text{precio glucosa}}{\text{precio biomasa}} \times \text{glucosa suministrada} \quad (5.7)$$

$$\text{Beneficio relativo} = \text{biomasa generada} - \text{precio glucosa relativo} \times \text{glucosa suministrada} \quad (5.8)$$

Es decir, la función objetivo se escribe en función del precio de la materia prima. La biomasa generada es la cantidad de biomasa al final del lote (a tiempo final, t_f) menos la que había inicialmente (a tiempo inicial, t_o):

$$\Delta X = X_{(t_f)} V_{(t_f)} - X_{(t_o)} V_{(t_o)} \quad (5.9)$$

La glucosa suministrada es la alimentada desde que comienza el proceso hasta el final:

$$Glc_{Add} = Glc_{in} \int_{t_o}^{t_f} F_i dt + Glc_{(t_o)} V_{(t_o)} \quad (5.10)$$

Aquí Glc_{in} es la concentración de glucosa en la alimentación, y el segundo sumando tiene en cuenta un agregado inicial de glucosa. Vale la pena notar que tanto Glc_{Add} como ΔX se miden en gramos, no en unidades de concentración. El rendimiento efectivo de biomasa puede definirse como la cantidad de biomasa generada por gramo de glucosa suministrada:

$$Y = \frac{\Delta X}{Glc_{Add}} \quad (5.11)$$

Reemplazando en la función objetivo y reordenando:

$$J = Glc_{Add} (Y - a) \quad (5.12)$$

En esta última ecuación puede verse la relación entre el rendimiento efectivo del proceso y el precio relativo de la glucosa. El rendimiento debe ser mayor al precio relativo para que el beneficio sea positivo. Además, el beneficio depende tanto de la cantidad alimentada de glucosa como del rendimiento. Como se analizó anteriormente, es necesaria una óptima alimentación para poder suministrar una cantidad elevada de glucosa y a la vez tener un alto rendimiento (asociado a concentraciones bajas de glucosa).

Para finalizar esta sección, es necesario destacar que la estrategia elegida para la resolución del problema no es la única posible. Otros de los métodos ya explicados en esta tesis pueden ser aplicados, pero quizás el que merece una mención especial por su aplicación industrial es el control automático con *feedback*. En este método, se sigue alguna variable que indique el modo metabólico en el que se encuentra el proceso y con esto se ajusta la alimentación de glucosa. Este procedimiento implica una mayor inversión en equipamiento, ya que requiere sensores online y control en lazo cerrado. El método propuesto en esta tesis utiliza medidas offline para optimizar el proceso, por lo que es útil incluso en la ausencia de sensores y automatismo. Además, debido a la alta no linealidad del proceso, estrategias de control lineal no son adecuadas para resolver el problema. Es útil tener un perfil *a priori* del perfil de alimentación sobre el cual realizar las correcciones. En este sentido, la metodología propuesta puede ser utilizada para obtener dicho perfil para luego combinarlo con control automático *feedback*, que puede servir tanto

para realizar las correcciones finales y para responder a perturbaciones externas que afecten negativamente la repetibilidad del proceso.

5.4 Modelo para el biorreactor

Existen diferentes dificultades en la formulación de modelos para biorreactores. Debido a que la levadura es un organismo vivo, en su interior ocurren miles de reacciones bioquímicas en las que toman parte gran cantidad de compuestos, desde moléculas orgánicas simples hasta complejos enzimáticos. Sumado a esto, la interacción entre la levadura y su medio está dominada por fenómenos de transporte tanto en la membrana celular como en el resto del biorreactor. Estas características hacen que sea muy difícil modelar el sistema, debido a la complejidad matemática y a las mediciones necesarias para ajustar los parámetros (éstas pueden requerir procedimientos muy complicados o costosos, y será mayor su cantidad mientras más parámetros deban ajustarse). Finalmente, una dificultad adicional es la diversidad de cepas existentes, cada una con un comportamiento distinto. Por lo tanto, resulta difícil usar datos de la bibliografía u obtenidos en desarrollos de procesos con otras cepas.

Los modelos de tendencia permiten reducir la complejidad, basándose en el efecto correctivo del *feedback* experimental. Existen diferentes niveles de simplicidad, pero las predicciones de los modelos deben representar ciertos aspectos del proceso, en especial la caída de la performance por un exceso en la concentración de glucosa. Los modelos más simples consideran a la levadura como una especie homogénea en solución, y resultan análogos a los modelos de reacción química homogénea. La principal diferencia está en el modelado de la velocidad de

crecimiento, para la cual se adopta en este trabajo una cinética de tipo Monod (Monod, 1949). Para tener en cuenta el cambio metabólico, que depende de la concentración de glucosa en el medio (se asume que se trabaja siempre en condiciones aeróbicas), se definen dos sets de ecuaciones para cada modo (fermentativo y respiratorio) y una concentración de glucosa de cambio metabólico (Glc_{MS}), que combina ambos modos para dar el modelo resultante. Los balances macroscópicos resultan:

$$\begin{aligned}\frac{dX}{dt} &= \mu X - \frac{F}{V} X \\ \frac{dGlc}{dt} &= -\frac{\mu}{Y} X + \frac{F}{V} (Glc_{IN} - Glc) \\ \frac{dV}{dt} &= F\end{aligned}\tag{5.13}$$

Y la cinética y rendimiento para los modos:

$$\begin{aligned}\mu_f &= \mu_{f,MAX} \frac{Glc}{Glc + K_f} \\ \mu_r &= \mu_{r,MAX} \frac{Glc}{Glc + K_r} \\ \mu &= \mu_r + \frac{(\mu_f - \mu_r)}{1 + \exp\left(\frac{Glc_{MS} - Glc}{5 \cdot 10^{-4}}\right)} \\ Y &= Y_r + \frac{(Y_f - Y_r)}{1 + \exp\left(\frac{Glc_{MS} - Glc}{5 \cdot 10^{-4}}\right)}\end{aligned}\tag{5.14}$$

Aquí, X representa la concentración de biomasa, Glc la de glucosa y E la de etanol, todos medidos en g/l. V es el volumen, medido en litros, y μ es la velocidad de reacción (los subíndices f y r representan los distintos modos). El parámetro Y representa el rendimiento de consumo de la glucosa. Como puede verse, el parámetro Glc_{MS} sirve para combinar tanto la velocidad de reacción como el rendimiento de la glucosa. Los parámetros del modelo a ser ajustados en cada experimento son: $\mu_{f,MAX}$, K_f , $\mu_{r,MAX}$, K_r , Glc_{MS} , Y_f y Y_r .

A continuación, se adjunta un breve análisis del efecto de la concentración de glucosa en la velocidad de crecimiento y en el rendimiento. En la figura 5.1, puede verse una representación para la ecuación de combinación del rendimiento utilizando valores para Y_f , Y_r y Glc_{MS} de 0.15, 0.5 y 0.0375 g/l respectivamente. Si bien la curva es suave, el salto en el valor de Y está concentrado en los valores cercanos a Glc_{MS} .

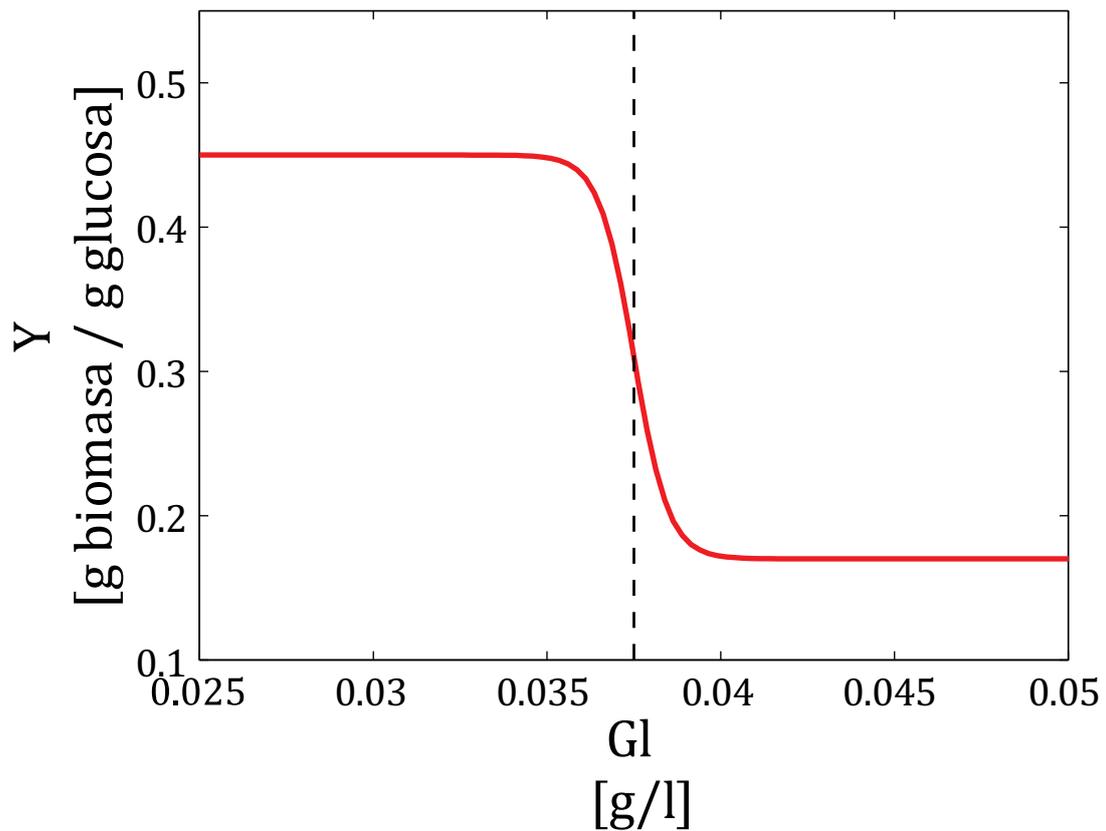


Figura 5.1 - Rendimiento de biomasa en función de glucosa residual.

Del mismo modo, la velocidad de crecimiento puede verse en la figura 5.2, para condiciones de operación similares a las que se utilizarán en este capítulo. El comportamiento tiene una forma similar, pero la tendencia es contraria: al crecer la concentración de glucosa, la velocidad también crece.

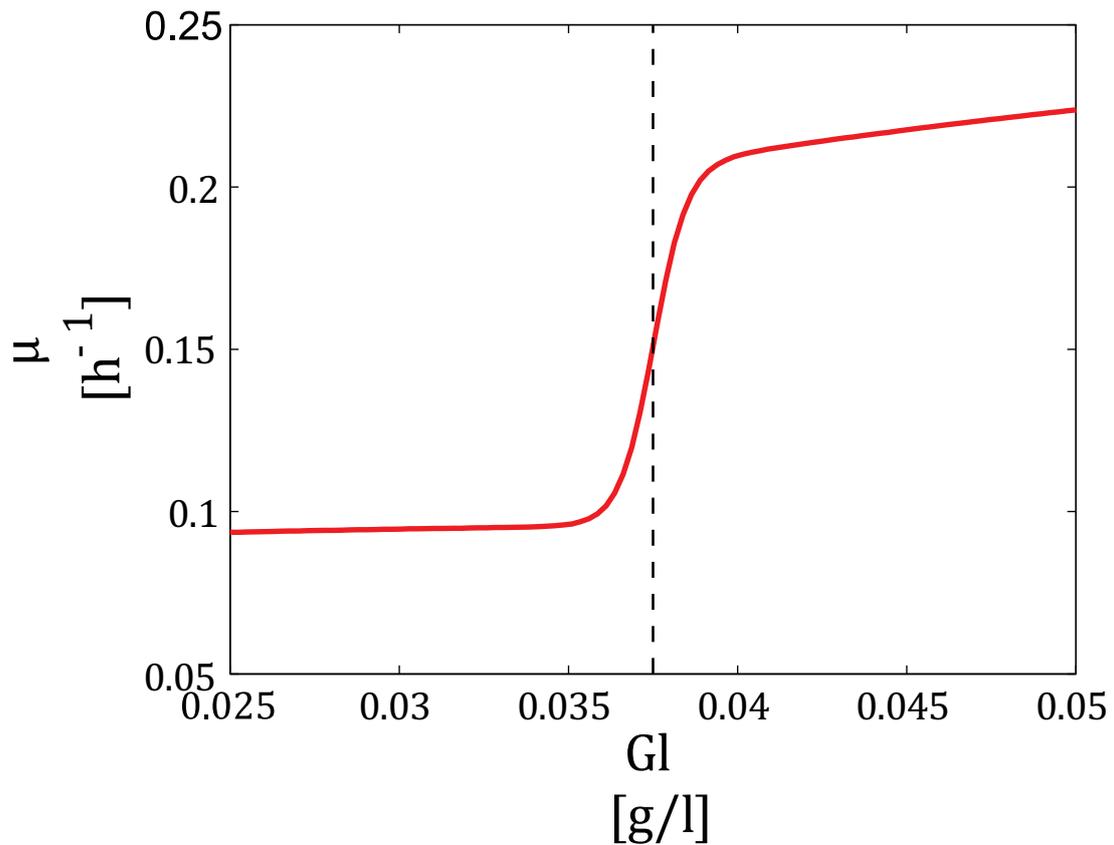


Figura 5.2 - Velocidad de crecimiento en función de glucosa residual.

La velocidad de crecimiento y el rendimiento pueden combinarse en la velocidad de consumo específica de glucosa:

$$\frac{\mu}{Y} \quad (5.15)$$

Por otro lado, la alimentación de glucosa específica (glucosa alimentada por unidad de tiempo y de biomasa) puede definirse:

$$\frac{F (Glc_{IN} - Glc)}{X V} \quad (5.16)$$

La relación entre alimentación específica y consumo específico da una idea del comportamiento dinámico del proceso. En la figura 5.3 se presenta la velocidad de consumo usando los parámetros ya especificados (curva sólida) y la alimentación de glucosa específica (curvas de trazos). Los puntos de corte de ambas curvas implican que todo lo que se alimenta en un determinado instante se consume. Tomando como punto de partida el punto 1, si la alimentación permanece constante, tanto la concentración de biomasa como el volumen del reactor aumentarán (suponiendo que la velocidad de crecimiento es mayor al factor de dilución), por lo tanto la curva de alimentación se desplazará hacia abajo a medida que pasa el tiempo. Luego, el punto de operación seguirá la intersección de las curvas, pasando después de un tiempo al punto 2 y luego al punto 3 (el movimiento es diferencial, es decir suave, a lo largo de la curva). De esto se puede intuir que, a caudal constante, el sistema tenderá a moverse hacia la zona de alto rendimiento. Por otro lado, ante un aumento de caudal, el sistema se desbalancea y hay acumulación de glucosa. Suponiendo que el aumento es un escalón (cambio de un nivel de alimentación constante a otro), el nuevo punto de equilibrio debería ser 4. Debido a que el cambio de punto de operación no es instantáneo, el consumo crecerá (por ejemplo, hasta el punto 5) pero no lo suficientemente rápido para equilibrar la alimentación y habrá acumulación de glucosa. La biomasa también crecerá, disminuyendo la alimentación específica. En un momento, la alimentación específica y el consumo específico se igualarán y a ambos comenzarán a disminuir (ya no habrá acumulación de glucosa). Sin embargo, debido al exceso de glucosa ya producido, el consumo decrecerá más lentamente hasta que dicho exceso desaparezca y ambas velocidades se equilibren (punto 6), momento a partir del

cual ambas disminuyen de manera conjunta. De este análisis podemos intuir que un aumento de la velocidad de alimentación puede desplazar temporalmente la operación a zonas de menor rendimiento a la del equilibrio. Esto es válido para aumentos del tipo escalón. Para aumentos graduales puede minimizarse la acumulación de glucosa. Cabe destacar que una vez alcanzado el punto de equilibrio, por el aumento de biomasa y volumen, el sistema tenderá a moverse hacia la izquierda (mayor rendimiento) como se analizó anteriormente.

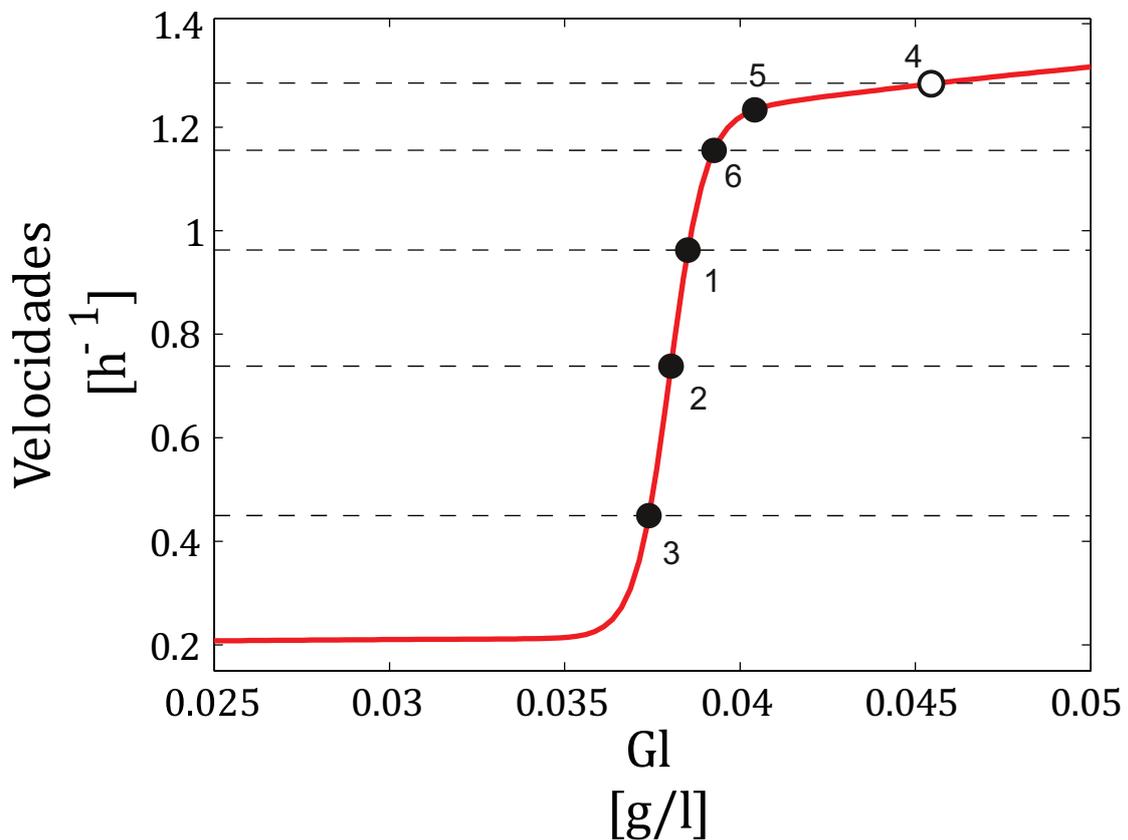


Figura 5.3 - Velocidades específicas de crecimiento y consumo en función de glucosa residual.

En la figura 5.4 se muestra la velocidad de consumo específica y la alimentación específica para un experimento dinámico. En esta puede verse cómo evolucionan temporalmente ambos indicadores, primero frente a una alimentación constante y luego ante el cambio de alimentación de tipo escalón.

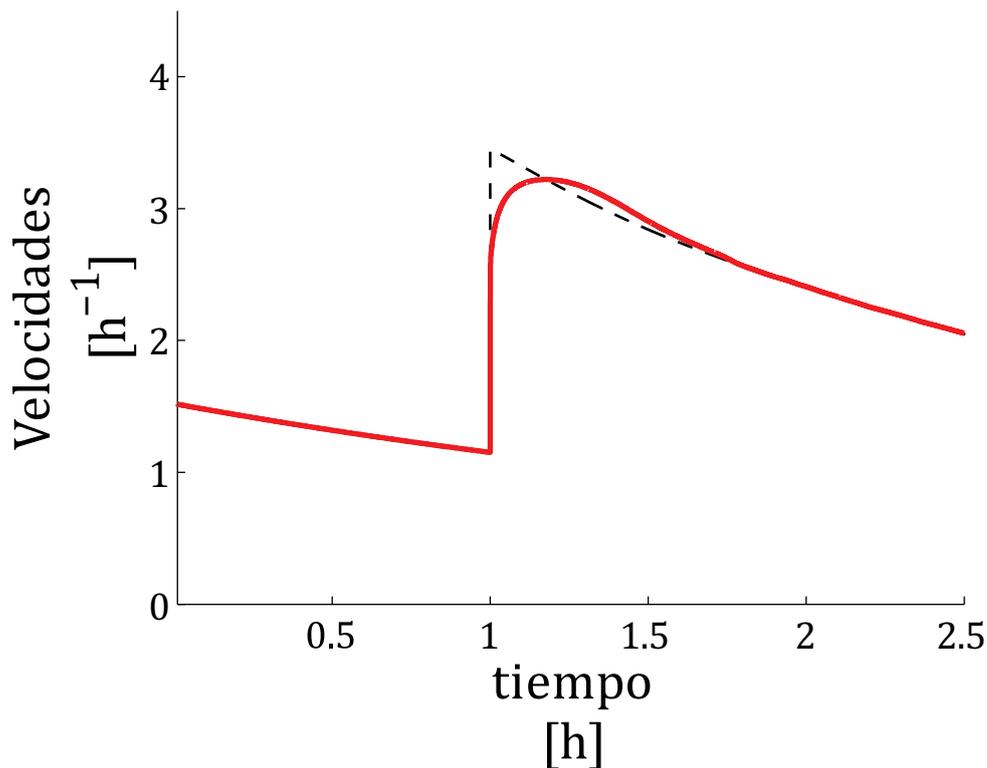


Figura 5.4 - Velocidades específicas de crecimiento y consumo en función del tiempo para un experimento.

Para finalizar esta sección, es necesario hablar sobre las limitaciones del modelo. Si bien el modelo Monod para la velocidad de crecimiento es ampliamente utilizado en bioprosos, se basa en simplificaciones que lo hacen útil en determinadas condiciones de operación. El modelo original se basa en la dependencia de una enzima (o grupo de enzimas) principal para el crecimiento, de ahí la similitud con la cinética enzimática. Esta enzima estará en los niveles óptimos en todo instante

de tiempo y su concentración no se incluye en el modelo. En el caso particular aquí desarrollado, el cambio entre dos modo de operación es instantáneo, cuando en realidad puede no ser así: puede haber un transiente debido al tiempo necesario para el desarrollo de nuevas enzimas. Esto también aplica para el cambio de modo metabólico: es posible que no se trate únicamente de un valor de la concentración de glucosa, sino también del estado del sistema enzimático. Una limitación impuesta *a priori* al modelo es la deliberada exclusión del modo de consumo oxidativo de etanol. Esta decisión se basa en que es esperable que este modo no se manifieste en las condiciones de trabajo donde se optimizará el proceso . De esta manera, se mantiene el modelo simple y fácil de ajustar. Por argumentos similares se omite el factor inhibitorio del etanol en la velocidad de crecimiento. Todos estos supuestos hacen que el modelo pierda capacidad de extrapolación al operar en condiciones distintas a las cuales fueron usados para ajustarlo. Quizás la principal limitación esté en la capacidad para representar la denominada fase *lag* de los biorreactores. En esta fase inicial del cultivo, la levadura se aclimata al medio y prepara su sistema interno para el crecimiento. No hay crecimiento de la biomasa aunque se alimente nutrientes y carbohidratos, por lo que un agregado de los mismos resulta en acumulación en el medio. La duración de esta fase depende de muchas variables, como la composición del medio, la historia previa del inóculo, la temperatura y el pH. El modelo Monod tradicional no puede representa estas condiciones, por lo que es necesario tenerlo en cuenta a la hora de su utilización. Modelos más complejos como los modelos estructurales y los modelos cibernéticos pueden describir estos comportamientos, pero ajustar estos modelos requiere mucha información experimental, e incluso así no garantizan un descripción

completa del proceso. Una correcta utilización de los modelos Monod combinados con *feedback* experimental en condiciones de operación adecuadas es la opción elegida en este trabajo para la optimización del proceso estudiado.

5.5 Procedimiento experimental

En esta sección se describirán los procedimientos experimentales y el equipamiento utilizado en los experimentos. Las mediciones realizadas son de la concentración de biomasa (turbidimetría) y de glucosa (espectrofotometría). El equipamiento a utilizar es:

- Biorreactor: BioFlo 110 Benchtop Fermenter, New Brunswick Scientific. El equipo cuenta con un recipiente de 2 litros de volumen de trabajo, con sensores y automatismos necesarios para la correcta operación del mismo. Cuenta con sonda para determinar la concentración de O₂ disuelto, pHmetro y termocupla. Para controlar la temperatura, cuenta con camisa calefactora eléctrica y con serpentín interno por el cual puede circularse agua de enfriamiento. La agitación es provista por un agitador mecánica con doble hélice y el O₂ se alimenta con una bomba de aire de 2500 cm³/minutos. La alimentación líquida se realiza con bombas dosificadoras de tipo peristáltico. Una foto del equipo se muestra en la figura 5.5.

- Espectrofotómetro: SPECTRO 20D Plus SPECTROPHOTOMETER. Labomed Inc.

- Centrífuga: Multi Purpose Centrifuge. Combi - 514R. Hanil Science Industrial Co., Ltd.



Figura 5.5 - Biorreactor BioFlo 110 usado en los experimentos de este capítulo.

El procedimiento para un experimento es el siguiente: Se carga en el biorreactor 1.25 l de solución de medio de cultivo y se fija el set point para la temperatura de reacción y la velocidad de agitación. Alcanzado el set point, se adiciona la levadura y se realiza una primera adición de glucosa (15 ml de solución 100 g/l). Se espera durante dos horas a que la levadura se aclimate al medio y se comienza la alimentación de glucosa a través de bomba peristáltica, siguiendo un perfil determinado. El caudal máximo de la bomba es 1.3 l/h. Luego de 7 horas, se corta la alimentación y se espera una hora más, para que se consuma toda la glucosa residual y se terminen los últimos ciclos de duplicación de la levadura. Se toman muestras de la mezcla líquida durante todo el experimento, siguiendo un esquema

de muestreo, que son analizadas para determinar concentraciones de biomasa y glucosa. Con esta información se implementa la metodología propuesta, diseñando el siguiente experimento (perfil de alimentación y muestreo).

La muestra líquida tomada debe tratarse previamente a ser analizada. Una parte se destina a análisis de biomasa y otra a glucosa. La parte destinada a biomasa se diluye para llevarla a un rango adecuado de absorbancia en el espectrofotómetro (1:50 o 1:100). La parte destinada a glucosa se centrifuga a 10000 rpm durante 5 minutos, para separar la biomasa en suspensión y poder analizar el líquido limpio.

Determinación de biomasa: La biomasa suspendida se determina por turbidimetría. La dispersión de un haz de luz por la materia sólida suspendida tiene, a adecuada dilución, una relación lineal con la concentración de la misma. Esta dispersión puede medirse en un espectrofotómetro para determinar la concentración de una muestra incógnita, usando un método de curva de calibrado. La longitud de onda utilizada para las mediciones es 600 nanómetros. El blanco utilizado es agua destilada.

Determinación de glucosa: La concentración de glucosa se determina por espectrofotometría. Las especies en solución absorben luz a determinada longitud de onda. La cantidad de luz absorbida tiene, a adecuada dilución, relación lineal con la concentración de la especie. La glucosa debe ser tratada químicamente para transformarse en un compuesto que absorba más intensamente. Para eso se usa un método enzimático, donde la glucosa se trata con glucosa oxidasa para generar peróxido de hidrógeno, que al reaccionar con 4-aminofenazona y fenol en presencia de peroxidasa da lugar a quinoneimina, un compuesto fuertemente

absorbente. Esta reacción debe llevarse a cabo a 37°C, durante 15 minutos (para lo que se usa un baño termostatzado). La determinación de una muestra incógnita se realiza mediante curva de calibrado. Las mediciones se realizan a 505 nanómetros. El blanco utilizado es reactivo analítico (enzimas, 4-aminofenazona y fenol, cultivado a 37°C por 15 minutos, sin adición de glucosa).

Preparación de medio de cultivo: El medio de cultivo debe suministrar los nutrientes necesarios para el crecimiento de la levadura. El más usado en la práctica (para escala laboratorio o escala banco) es el extracto de levadura, que proviene de la lisis de células de levadura. Este suele suplementarse con una fuente de nitrógeno, en este caso, peptona de carne. Las cantidades para un litro de medio de cultivo figuran en la tabla 5.1.

Componente	Cantidad
Extracto de levadura	10 g
Peptona de carne	20 g
Antiespumante	0.1 ml

Tabla 5.1 - Medio de cultivo para levaduras

La fuente de carbono a ser alimentada es una solución concentrada de glucosa en agua destilada. La concentración de dicha solución es 100 g/l. Tanto la solución de glucosa como el medio de cultivo son debidamente esterilizados en autoclave. La levadura utilizada es comercial, y la concentración inicial en el biorreactor es 6 g/l.

La agitación se controla de manera que la saturación de O₂ no baje del 60%. El equipo usado para suministrar aire al cultivo se opera a la máxima potencia durante todo el experimento. El agitador aumenta su velocidad debido a que una mayor concentración de biomasa requiere una mayor cantidad de O₂. La

temperatura se controla inicialmente con camisa calefactora, hasta el momento que la propia actividad biológica empieza a generar calor. En este momento, se desconecta la camisa y se inicia la circulación de agua de enfriamiento por el serpentín interno del equipo.

El perfil de alimentación, como se enunció anteriormente, es una serie de 5 escalones incrementales. Los elementos de la política son la altura del primer escalón y los incrementos de los cuatro siguientes, siendo la duración de los escalones fijos. La alimentación comienza dos horas después de comenzado el experimento y termina a las 9 horas, momento a partir del que se deja una hora más sin alimentación. Por simplicidad, los caudales se expresan como porcentaje del máximo (1.3 l/h). En la figura 5.6 se muestra un esquema del perfil de alimentación y en la tabla 5.2 se muestra como se calcula el caudal en relación con los elementos de la política.

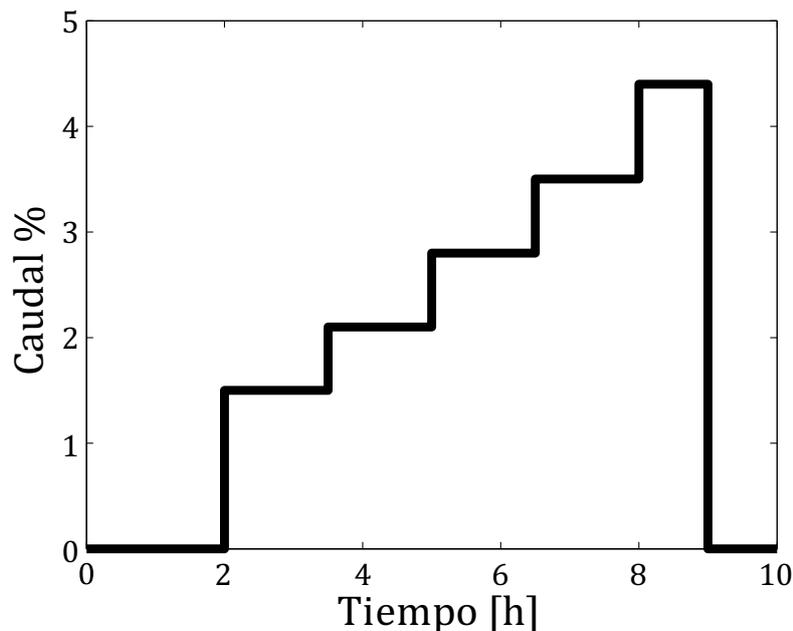


Figura 5.6 - Esquema de perfil de alimentación utilizado (5 escalones).

Tiempo	Caudal	Cálculo
0	0	0
2	F_1	$F_1 = u_1$
3.5	F_2	$F_2 = F_1 + u_2$
5	F_3	$F_3 = F_2 + u_3$
6.5	F_4	$F_4 = F_3 + u_4$
8	F_5	$F_5 = F_4 + u_5$
9	0	0
10	0	0

Tabla 5.2 - Perfil de alimentación y su funcionalidad con los parámetros de la política.

5.6 Resultados

Los hiper-parámetros usados para testear la metodología son los siguientes: sf es 0.5 y m_{MAX} es 2. Los límites originales para la política son 1% y 3% para el escalón inicial, y 0% y 3% para el incremento en los escalones sucesivos. Para el muestreo, los valores máximos y mínimos son 2 y 9 h, y el tiempo entre muestras es 0.5 h.

El experimento exploratorio se realiza con la política de la tabla 5.3:

Variable	u_1	u_2	u_3	u_4	u_5
Valor %	1,7	0,2	0,4	0,5	0,5

Tabla 5.3 - Política para el experimento #1

El primer muestreo es diseñado arbitrariamente y se muestra en la tabla 5.4 (además, el punto final también se muestrea en todos los experimentos):

Muestreo	tsp_1	tsp_2	tsp_3	tsp_4	tsp_5	tsp_6
Tiempo [h]	2	3,5	5	6,5	8	9

Tabla 5.4 - Esquema de muestreo para el experimento #1

Esto permite obtener los resultados mostrados en la tabla 5.5:

Tiempo [h]	X [g/l]	Glc [g/l]	V [l]
0,00	6,00	1,200	1,265
2,00	6,50	0,000	1,265
3,50	7,03	0,005	1,298
5,00	8,40	0,000	1,335
6,50	9,50	0,000	1,365
8,00	10,73	0,000	1,438
9,00	11,64	0,000	1,481
10,00	11,87	0,000	1,481
$J = 2,977$ [g]			

Tabla 5.5 - Resultados del experimento #1

Con los datos de X y Glc , se ajusta el modelo propuesto. Las distribuciones de parámetros se presentan en la figura 5.7, y el ajuste de las mismas se adjunta en la figura 5.8.

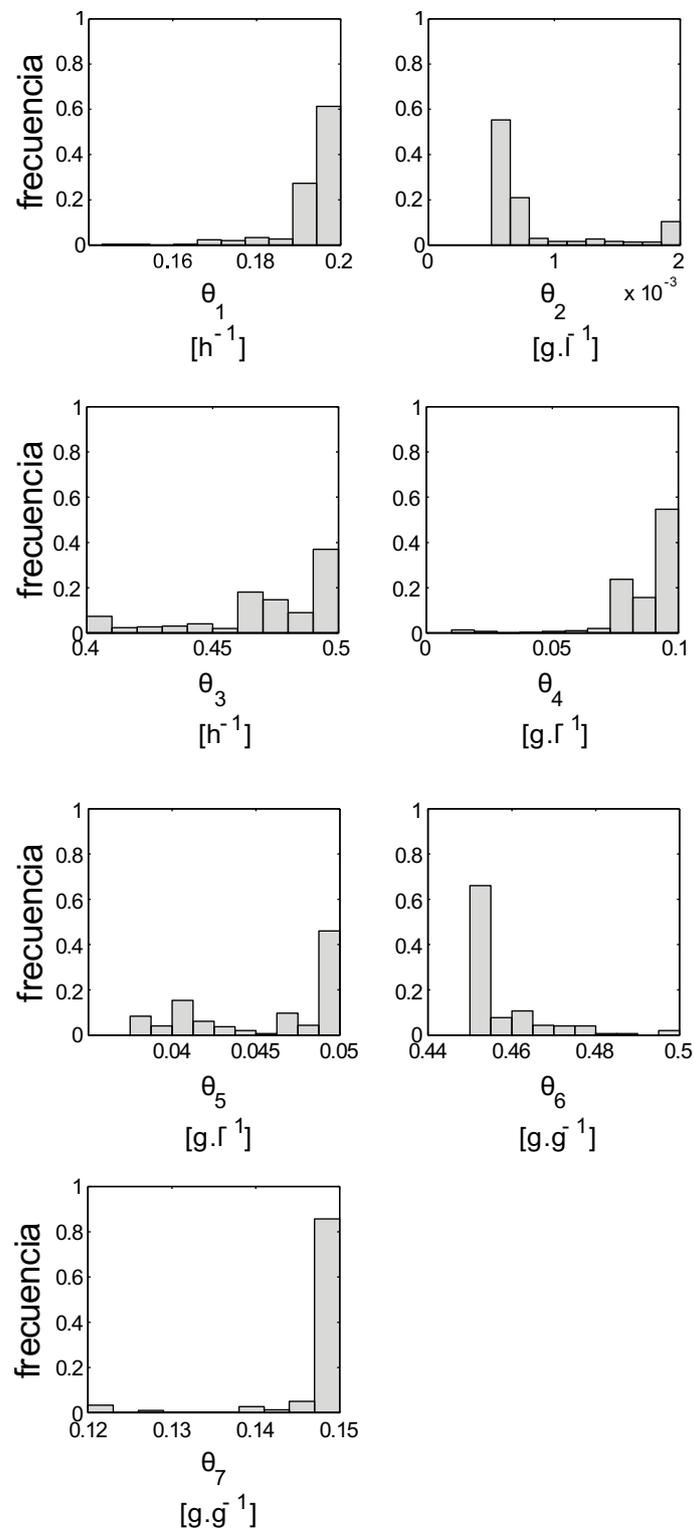


Figura 5.7 -Distribuciones de parámetros ajustados con datos del experimento #1.

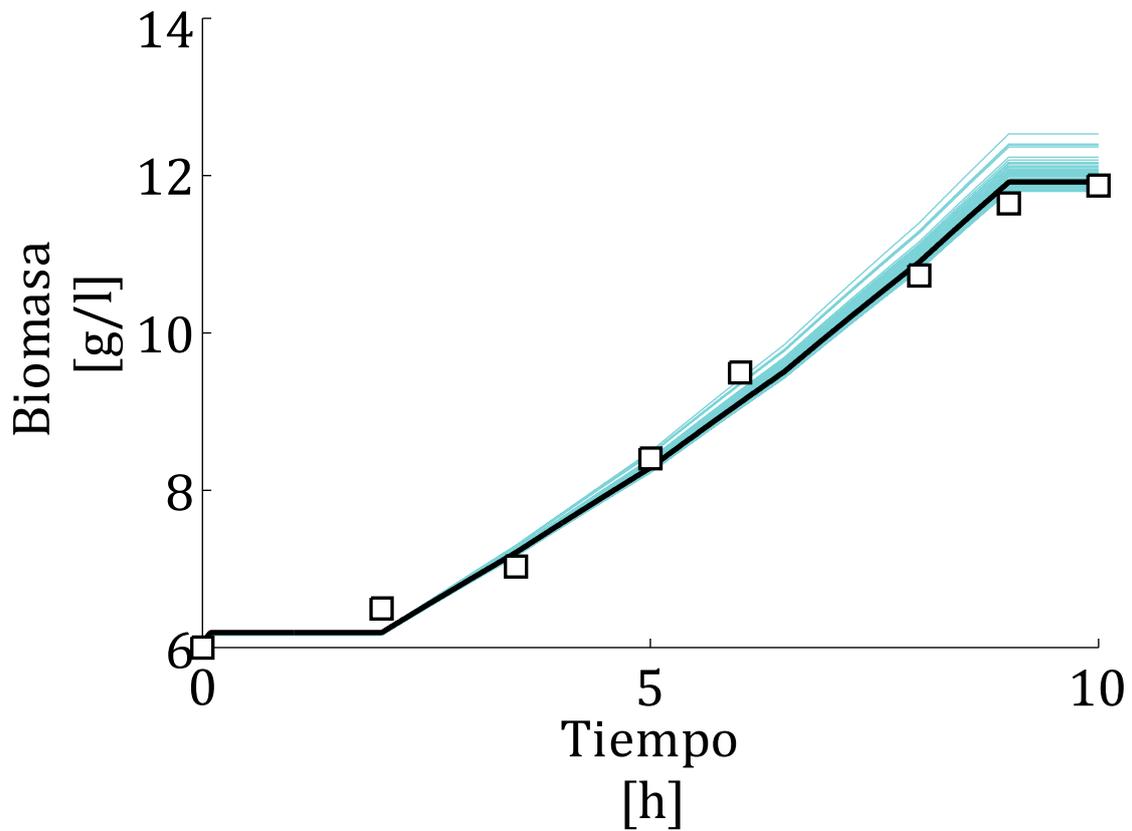


Figura 5.8 - Datos y ajuste del modelo para el experimento #1.

Utilizando el modelo, se diseña un nuevo experimento, cuya política y esquema de muestreo se presentan en la tabla 5.6 y 5.7, respectivamente:

Variable	u_1	u_2	u_3	u_4	u_5
Valor %	2,4	1,2	0,9	1,4	1,6

Tabla 5.6 - Política para el experimento #2

Muestreo	tsp_1	tsp_2	tsp_3	tsp_4	tsp_5	tsp_6
Tiempo [h]	2,49	2,99	4,66	6,56	7,82	9

Tabla 5.7 - Esquema de muestreo para el experimento #2

Este diseño se evalúa experimentalmente dando los resultados que se presentan en la tabla 5.8:

Tiempo [h]	X [g/l]	Glc [g/l]	V [l]
0,00	6,00	1,200	1,265
2,49	6,52	0,263	1,280
2,99	6,47	0,130	1,296
4,66	7,66	0,060	1,366
6,56	9,69	0,040	1,474
7,82	11,49	0,057	1,571
9,00	12,77	0,063	1,682
10,00	13,79	0,010	1,682
$J = 2,635$ [g]			

Tabla 5.8 - Resultados del experimento #2

Debido a la disminución en la función objetivo respecto a la del primer experimento, en vez de ajustar el modelo se procede a reducir la región de operación. Los valores para los límites superior e inferior resultan los mostrados en la tabla 5.9:

	u_1	u_2	u_3	u_4	u_5
$LB \%$	1	0	0	0	0
$UB \%$	2	0,7	0,7	0,9	1,1

Tabla 5.9 - Nuevos límites para el experimento #3

Luego, se optimiza usando el mismo modelo en esta región reducida. Los resultados son los que se presentan en la tabla 5.10 y 5.11, respectivamente:

Variable	u_1	u_2	u_3	u_4	u_5
Valor %	2	0,7	0,7	0,9	1,1

Tabla 5.10 - Política para el experimento #3

Muestreo	tsp_1	tsp_2	tsp_3	tsp_4	tsp_5	tsp_6
Tiempo [h]	2,5	3	4,8	6,56	7,82	9

Tabla 5.11 - Esquema de muestreo para el experimento #3

La evaluación experimental da los resultados presentados en la tabla 5.12:

Tiempo [h]	X [g/l]	Glc [g/l]	V [l]
0,00	6,00	1,200	1,265
2,50	6,78	0,165	1,278
3,00	6,80	0,110	1,291
4,80	8,18	0,032	1,350
6,56	10,63	0,037	1,426
7,82	12,58	0,025	1,497
9,00	13,61	0,023	1,577
10,00	14,50	0,002	1,577
$J = 5,557$ [g]			

Tabla 5.12 - Resultados del experimento #3

En esta ocasión la función objetivo aumentó, por lo que estos datos se usan como punto de partida para un nuevo ajuste del modelo. Los resultados se juntan en las figuras 5.9 y 5.10.

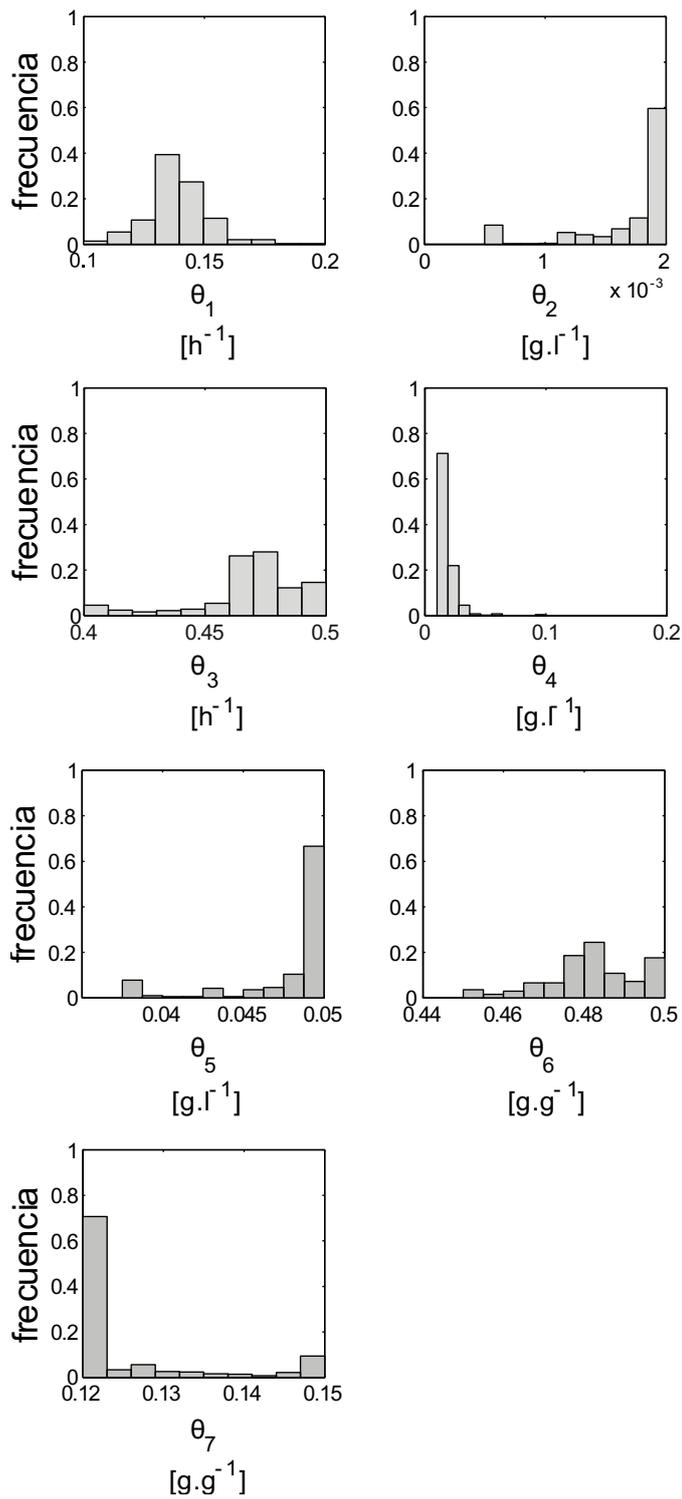


Figura 5.9 -Distribuciones de parámetros ajustados con datos del experimento #3.

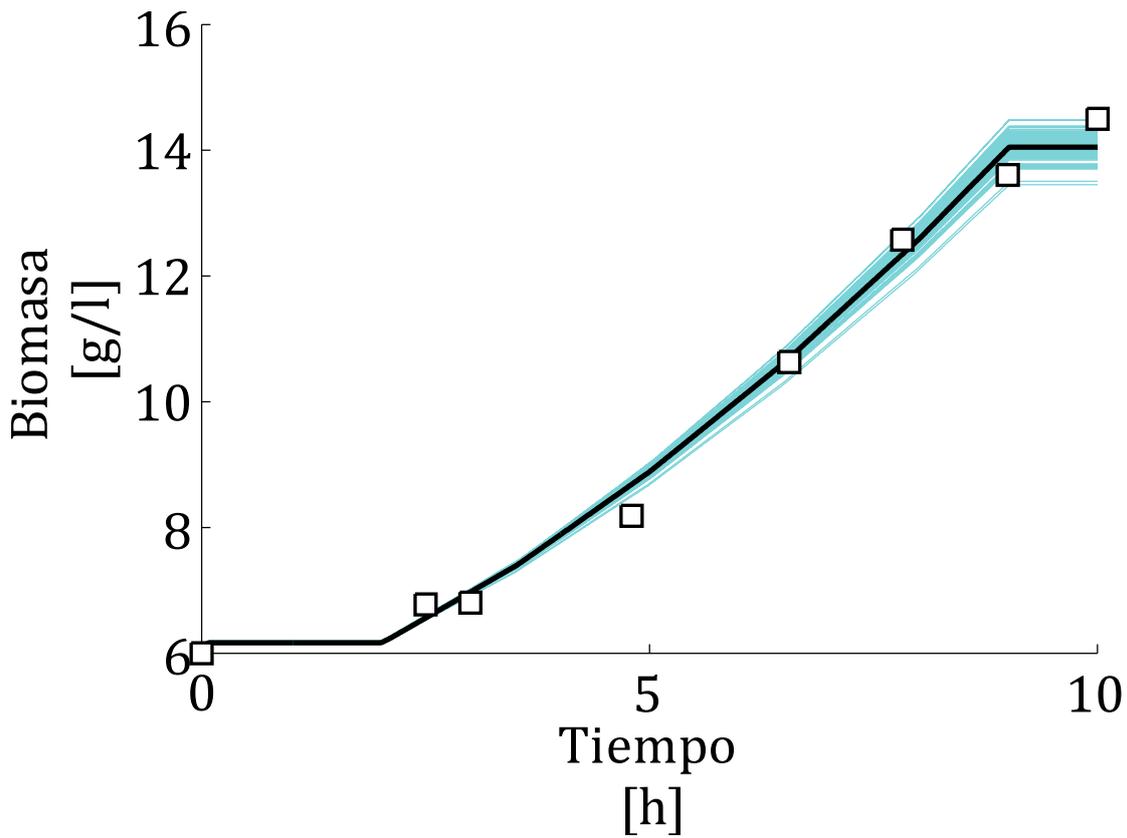


Figura 5.10 -Datos y ajuste del modelo para el experimento #3.

Los límites para los parámetros de la política se resetean a los valores originales y se vuelve a optimizar el proceso. El nuevo diseño experimental es el presentado en las tablas 5.13 y 5.14:

Variable	u_1	u_2	u_3	u_4	u_5
Valor %	2,4	1,7	0,7	0,7	0,8

Tabla 5.13 - Política para el experimento #4

Muestreo	tsp_1	tsp_2	tsp_3	tsp_4	tsp_5	tsp_6
Tiempo [h]	2	2,90	4,78	6,63	7,98	9

Tabla 5.14 - Esquema de muestreo para el experimento #4

Aplicando este diseño se obtienen los resultados de la tabla 5.15:

Tiempo [h]	X [g/l]	Glc [g/l]	V [l]
0,00	6,00	1,200	1,265
2,00	6,90	0,014	1,265
2,90	6,84	0,099	1,293
4,78	8,23	0,018	1,380
6,63	11,35	0,018	1,495
7,98	12,73	0,011	1,591
9,00	13,36	0,007	1,675
10,00	14,04	0,028	1,675
$J = 3,276$ [g]			

Tabla 5.15 - Resultados del experimento #4

La función objetivo no aumentó con respecto al experimento #3, por lo tanto no se ajusta el modelo y se reduce la región de operación, según lo presentado en la tabla 5.16:

	u_1	u_2	u_3	u_4	u_5
$LB\%$	1	0	0	0,8	0,9
$UB\%$	2,2	1,2	0,7	3	3

Tabla 5.16 - Nuevos límites para el experimento #5

En esta nueva región se diseña el próximo experimento, presentado en las tablas 5.17 y 5.18:

Variable	u_1	u_2	u_3	u_4	u_5
Valor %	2,1	1,1	0,6	1,1	1

Tabla 5.17 - Política para el experimento #5

Muestreo	tsp_1	tsp_2	tsp_3	tsp_4	tsp_5	tsp_6
Tiempo [h]	2	2.9	4.35	6	7.6	8.11

Tabla 5.18 - Esquema de muestreo para el experimento #5

Se realiza el nuevo experimento, cuyos resultados se presentan en la tabla 5.19:

Tiempo [h]	X [g/l]	Glc [g/l]	V [l]
0,00	6,00	1,200	1,265
2,00	6,78	0,000	1,265
2,90	6,50	0,137	1,290
4,35	7,55	0,049	1,341
6,00	10,15	0,014	1,418
7,60	12,21	0,035	1,513
8,11	12,37	0,021	1,546
10,00	14,25	0,000	1,615
$J = 4,563$ [g]			

Tabla 5.19 - Resultados del experimento #5

El valor de la función objetivo para este experimento es mayor que la del experimento anterior, pero menor que la mejor obtenida en toda la implementación de la metodología. Dado que se ha llegado al máximo de experimentos por iteración, (se han realizado dos experimentos usando la misma parametrización) y no se ha logrado una mejora, se da por terminada la implementación y se asume como política óptima de operación la del experimento #3.

Un resumen de las políticas ensayadas se adjunta en la tabla 5.20. Junto a la política con valores porcentuales del perfil y la función objetivo de cada experimento, se adjunta la cantidad total de glucosa suministrada y el rendimiento de biomasa.

ITER #	EXP #	F_1 %	F_2 %	F_3 %	F_4 %	F_5 %	Glc_{ag} [g]	Y	J [g]
0	1	1,7	1,9	2,3	2,8	3,3	23,08	0,429	2,977
1	2	2,4	3,6	4,5	5,9	7,5	43,23	0,361	2,635
	3	2,0	2,7	3,4	4,3	5,4	32,70	0,470	5,557
2	4	2,4	4,1	4,8	5,5	6,3	42,45	0,377	3,276
	5	2,1	3,2	3,8	4,9	5,9	36,47	0,425	4,563

Tabla 5.20 - Resumen de los resultados

Si bien una misma cantidad de glucosa puede ser alimentada de distintas maneras (distintas formas del perfil), sirve como indicador unidimensional de una determinada política. En la figura 5.11 se adjunta la relación entre cantidad de glucosa suministrada y el beneficio del proceso, y en la figura 5.12 se muestra la curva de aprendizaje del proceso.

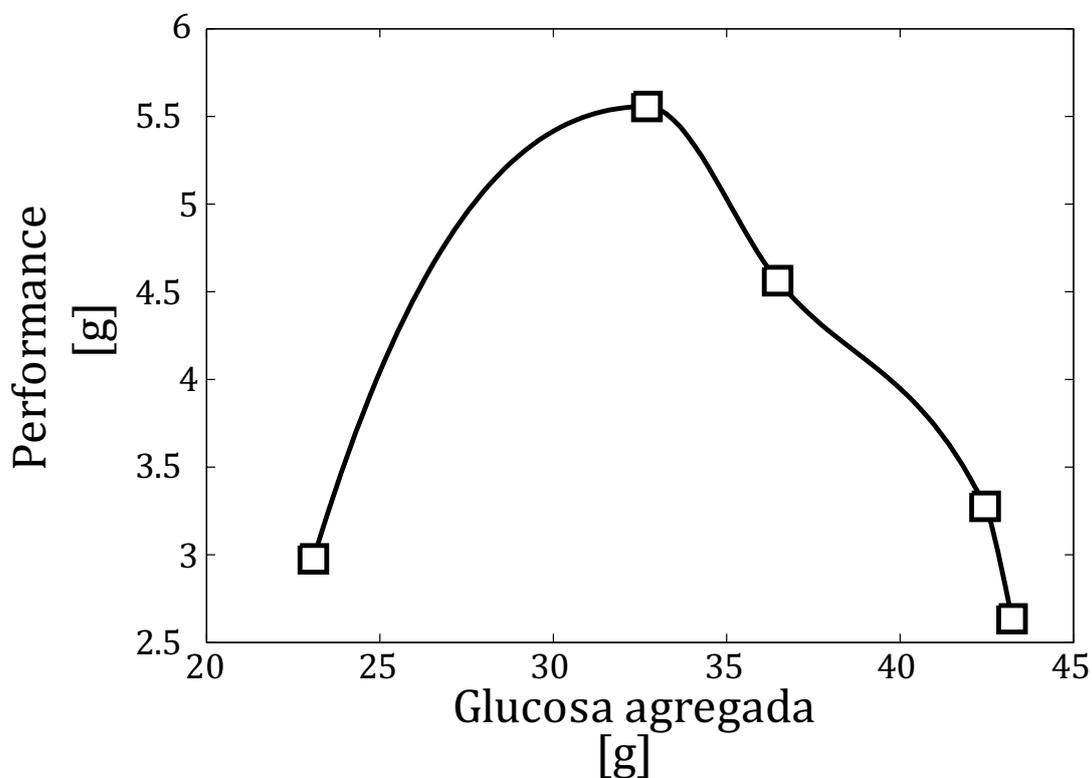


Figura 5.11 - Performance de los experimentos en función de la cantidad de glucosa agregada.

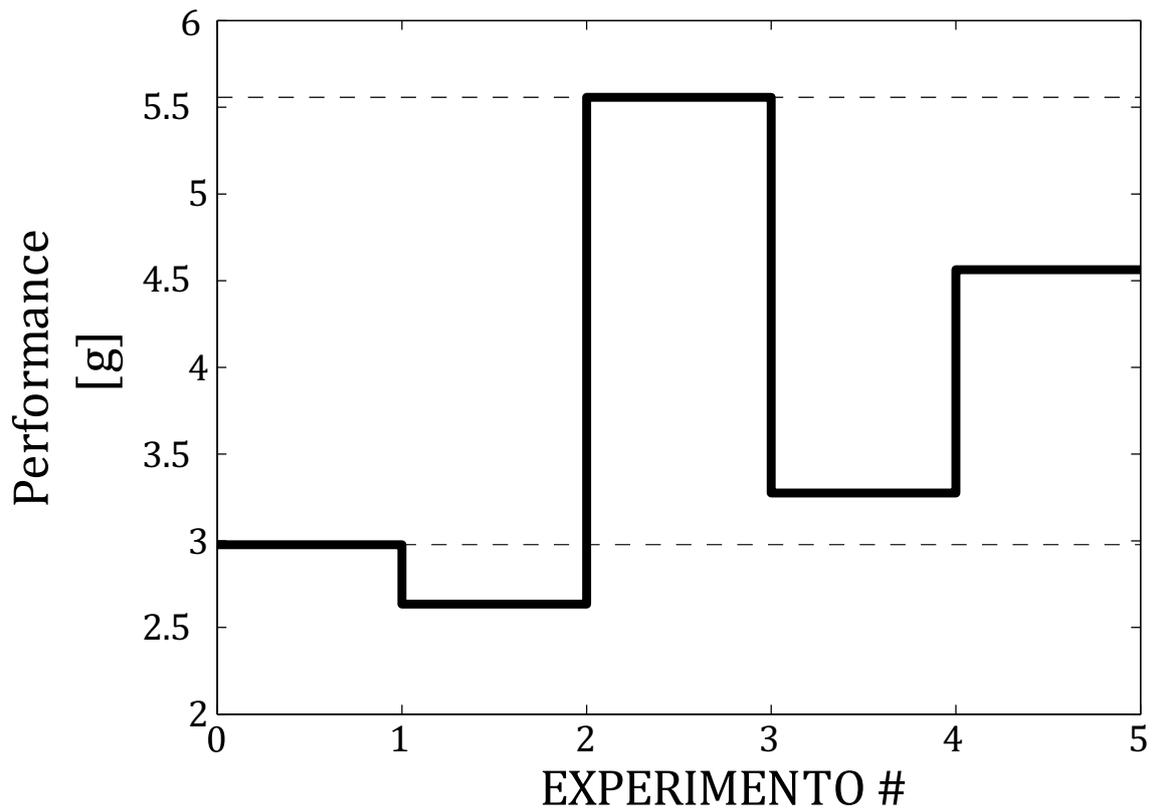


Figura 5.12 - Curva de aprendizaje para el ejemplo presentad en este capítulo.

Como puede verse, el procedimiento genera una mejora considerable con respecto a la política exploratoria, aumentando en un 87%. La reducción de la región de optimización permite corregir los errores de extrapolación luego de un experimento (#2) poco exitoso. El criterio de parada seleccionado fue el número de experimentos no exitosos en una iteración, basado en el presupuesto y en los plazos de tiempo disponibles para el proceso. Sin embargo, puede observarse en la figura 5.12 que, para la segunda iteración, la performance tiende hacia la performance del experimento #3 a medida que se reduce la región de optimización. Esto no verifica que el óptimo encontrado sea el óptimo real (que es desconocido), pero da una noción de que, si no lo es, puede encontrarse en una

condición de operación próxima a la del experimento #3, y con una performance similar, de acuerdo a lo visto en la figura 5.11. Obviamente, estas son conjeturas y se necesitarían más experimentos para verificarlas. Sin embargo, el ejemplo presentado no deja dudas respecto de la utilidad de la metodología propuesta en esta tesis.

5.7 Resumen del capítulo

En este capítulo se implementó la metodología de optimización experimental propuesta en un bioproceso a escala banco. Los resultados demuestran la utilidad del procedimiento para lograr mejoras mediante un esquema iterativo con *feedback* experimental.

El proceso elegido es la producción de biomasa de levadura. La producción de biomasa es parte fundamental de la industria biotecnológica, ya que por definición un bioproceso requiere de microorganismos (o sus derivados, en el caso de enzimas) para funcionar. La levadura requiere de condiciones particulares para que su metabolismo trabaje en modo respiratorio, que tiene un mayor rendimiento por gramo de carbohidrato. Un exceso de carbohidratos causa que el metabolismo sea fermentativo (con menor rendimiento), mientras que una baja alimentación disminuye la productividad por lote. Por este motivo, el modo de operación fed-batch o proceso Zulauf es adoptado, ya que permite controlar la alimentación de carbohidratos al biorreactor. La performance del bioproceso es definida como el beneficio relativo de un lote con respecto a la materia prima utilizada.

El perfil de alimentación es optimizado utilizando la metodología propuesta. El modelo de tendencia es ajustado con mediciones simples (concentración de biomasa y glucosa en el medio), y es luego usado para diseñar los experimentos (perfil de alimentación y esquema de muestreo). Para los experimentos que no logran mejorar la performance, se utiliza el método de reducción de la región de optimización, seguido de una reoptimización.

La metodología logra mejorar la performance en un 87% realizando 5 experimentos. El criterio de parada se logra luego de que dos experimentos sucesivos no logran una mejora de la performance en la misma iteración. El ejemplo confirma la utilidad de la metodología trabajando con un caso real a escala banco.

5.8 Bibliografía usada en este capítulo

Di Serio, M., Aramo, P., De Alteriis, E., Tesser, R., & Santacesaria, E. (2003).

Quantitative analysis of the key factors affecting yeast growth. *Industrial & engineering chemistry research*, 42(21), 5109-5116.

Diderich, J. A., Schepper, M., van Hoek, P., Luttkik, M. A., van Dijken, J. P., Pronk, J. T., & Kruckeberg, A. L. (1999). Glucose uptake kinetics and transcription of HXTgenes in chemostat cultures of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biological Chemistry*, 274(22), 15350-15359.

Gómez-Pastor, R., Garre, E., Matallana, E., & Pérez-Torrado, R. (2011). *Recent advances in yeast biomass production*. INTECH Open Access Publisher.

Monod, J., (1949). The Growth of Bacterial Cultures. *Annual Review of Microbiology*.

Nielsen, J. (2013). Production of biopharmaceutical proteins by yeast: advances through metabolic engineering. *Bioengineered*, 4(4), 207-211.

Richelle, A., Fickers, P., & Bogaerts, P. (2014). Macroscopic modelling of baker's yeast production in fed-batch cultures and its link with trehalose production. *Computers & chemical engineering*, 61, 220-233.

Rodrigues, F., Ludovico, P., & Leão, C. (2006). Sugar metabolism in yeasts: an overview of aerobic and anaerobic glucose catabolism. In *Biodiversity and ecophysiology of yeasts* (pp. 101-121). Springer Berlin Heidelberg.

Zakheartsev, M., Yang, X., Reuss, M., & Pörtner, H. O. (2015). Metabolic efficiency in yeast *Saccharomyces cerevisiae* in relation to temperature dependent growth and biomass yield. *Journal of thermal biology*, 52, 117-129.

CAPÍTULO 6

Conclusiones

CAPÍTULO 6: Conclusiones

En este trabajo se ha estudiado el problema de optimización de procesos innovadores que presentan un alto grado de incertidumbre. La filosofía adoptada para esta tarea es el modelado para optimización, de carácter esencialmente práctico, donde el modelo es usado como una herramienta para encontrar el óptimo del proceso. Esto va en contraposición a la tradicional escuela de modelado "para descripción", donde el modelo es el objetivo fundamental (independientemente de su posterior aplicación). Una vez descrito el marco teórico se introdujo inmediatamente una metodología para la resolución del problema de desarrollo de un proceso. Los diferentes pasos de la metodología fueron descritos y analizados. La metodología se ilustró con tres ejemplos simulados en computadora. Se analizó la convergencia del método y se argumentó acerca de por qué el método mejora la performance en cada iteración cuando las condiciones necesarias están dadas. Finalmente, se ilustró la metodología con un ejemplo en escala banco para mostrar la implementación en la práctica.

Como puede observarse en los ejemplos desarrollados, la metodología es efectiva y eficiente para llegar a condiciones óptimas de operación. Uno de los elementos centrales de la metodología es planificar el desarrollo del proceso a través del Diseño de Experimentos, lo que permite formalizar la tarea (en vez de usar métodos de prueba y error de manera desordenada). Estos experimentos son diseñados con el objetivo de aumentar la performance del proceso, lo que resulta en una mayor economía en el desarrollo, en contraposición con métodos clásicos de diseño de experimento que buscan la mejora de la precisión paramétrica del

modelo. El problema de la incertidumbre se resuelve a través del uso de modelos de tendencia con *feedback* experimental. Los modelos de tendencia permiten introducir conocimiento externo al problema específico basado en principios y leyes fundamentales de la ingeniería de procesos (balances de masa y energía, por ejemplo), mientras que el *feedback* experimental corrige sus predicciones con la información del proceso real. Esta combinación permite usar tanto el conocimiento general (teórico) como el específico (experimental), siendo esta integración la base de la metodología propuesta. Como resultado, se cuenta con la velocidad de convergencia de los métodos basados en modelos y con la robustez de los métodos con *feedback* experimental, prescindiendo de la necesidad de un modelo de elevada complejidad y reduciendo el esfuerzo experimental.

6.1 Principales características del método

Cómo principales características de la metodología propuesta, se destacan:

- La metodología permite optimizar procesos que se caracterizan por un alto grado de incertidumbre, ya que genera conocimiento mientras se mejora la performance de la performance en el marco del *modelado para optimización*.
- La combinación de modelado matemático con *feedback* experimental permite trabajar de manera eficaz (mejora en la performance) y eficiente (menor costo de desarrollo del proceso).
- Los modelos de tendencia utilizados requieren menor información teórica y experimental que modelos complejos, lo que facilita su formulación y disminuye el esfuerzo necesario para ajustarlos (ej: menor cantidad de

muestreos o muestreos más simples). Además, la metodología no requiere que el modelo haga buenas predicciones sobre el resultado del proceso, sino sobre su tendencia (si la performance va a mejorar o no), lo cual es un relajamiento importante en los requerimientos del modelo.

- El uso de formulaciones probabilísticas para los modelos, generadas a partir de *bootstrapping*, permite hacer frente a la incertidumbre producto de la poca información sobre el proceso. El usuario puede elegir los hiper-parámetros de manera que el desarrollo sea más o menos conservador. Por otro lado, la formulación probabilística permite mejorar el mecanismo de elección de la política óptima al utilizar diferentes parametrizaciones del modelo, lo que minimiza el efecto de los errores sobre el modelo.
- El *feedback* experimental de los experimentos se utiliza de dos maneras: primero, para actualizar el modelo en torno a condiciones de operación con mejor performance, desechando datos experimentales poco representativos del óptimo operacional; segundo, en casos donde el modelo no logra predecir una mejora en la performance del proceso, se reduce la región de optimización y se realiza una reoptimización en un entorno reducido.
- La convergencia de la metodología se basa en los resultados experimentales y en las condiciones de operación ensayadas, y no en cuestiones relativas a los parámetros del modelo. La reducción de la región de optimización mejora la convergencia, ya que elimina regiones donde el modelo no predice bien la tendencia del proceso.
- Los hiper-parámetros del modelo son variables intuitivas, lo que permite una familiarización rápida y una fácil interpretación de los mismos. Por

ejemplo, algunos de los hiper-parámetros son máximo número de experimentos (por iteración o en total), factor de reducción de la región de optimización, y probabilidad mínima de cumplir una restricción.

La metodología presenta, sin embargo, ciertos desafíos. En primer lugar, está orientada a un usuario que cuente con conocimientos de ingeniería de procesos, ya que es necesario desarrollar (o adoptar) un modelo de tendencia del proceso. En segundo lugar, cierto conocimiento del método es necesario para ajustar los hiper-parámetros (número máximo de experimentos, factor de reducción, etc). Estos conocimientos son comunes a los problemas de desarrollo y uno de los objetivos futuros es desarrollar herramientas para facilitar su implementación (en la forma, por ejemplo, de sistemas expertos o de aplicaciones de software). El último desafío es la presencia de variabilidad entre lotes. La metodología en su implementación actual está enfocada a solucionar problemas relacionados a procesos repetibles. Un proceso estocástico cuyas respuestas varíen frente a un mismo estímulo en dos experimentos aislados pertenece a otra clase de problemas.

6.2 Propuestas para futuros trabajos

A partir de lo expuesto respecto de las características y desafíos, pueden trazarse los lineamientos generales para continuar con el desarrollo de la metodología. Quizás el primer tema a abordar es la formulación de criterios para la adopción de los hiper-parámetros. Este es un problema general de cualquier método de optimización experimental y existen diferentes formas de abordarlo. La idea central es utilizar la información generada en desarrollos anteriores de procesos similares para elegir o estimar los hiper-parámetros. A medida que más procesos

son desarrollados, la información se acumula en una base de datos y a partir de esta puede diseñarse una herramienta que, dada las características de un proceso, pueda sugerir como llevar a cabo la implementación de la metodología. Esto facilita enormemente la tarea del usuario.

Otro tema interesante es el del uso eficiente de la información generada durante el desarrollo. En la formulación actual, el método usa solamente información generada en un experimento (el que genero la mayor performance) para ajustar el modelo, y utiliza el *feedback* de los experimentos no exitosos (que no mejoraron la performance) para reducir la región de optimización. Como se explicó anteriormente, esto se justifica en que este mecanismo mejora sensiblemente la convergencia del método, al excluir datos y regiones de operación de baja performance. Sin embargo, hay información que no es reutilizada, como por ejemplo aquella de experimentos pertenecientes a iteraciones anteriores (con menor performance a la del mejor experimento actual). Dicha información resultaría útil para, por ejemplo, evitar realizar experimentos en condiciones de operación similares a las ya ensayadas en estos experimentos (cabe recordar que la región de optimización se restablece en cada iteración). Para esto, se requiere una combinación de las predicciones del modelo de tendencia (ajustado con los datos del último experimento exitoso) y datos de la performance de experimentos anteriores (que pueden también usarse para generar un nuevo modelo, posiblemente del tipo *black-box*, que relacione directamente condiciones experimentales y performance). Esta nueva herramienta permitiría aumentar la eficiencia del método, evitando realizar experimentos en condiciones que *a priori* se saben que no mejoraran el proceso. Sin embargo, debido a que esta propuesta

limita la capacidad de exploración de la metodología, debe tenerse cuidado de no eliminar condiciones que operación que incluyan al óptimo real.

Haciendo referencia a aspectos más prácticos, es deseable contar con programas computacionales y aplicaciones que permiten al usuario implementar el método con facilidad. En la actualidad, los programas están desarrollados en lenguaje Matlab pero no se cuenta con una interfaz amigable para el usuario. Estos desarrollos, si bien suelen ser considerados poco importantes en el ámbito académico, en la práctica industrial pueden ser muy útiles, ya que permiten que el método sea usado más fácilmente, y por usuarios que no necesariamente tengan un conocimiento detallado de todas las herramientas matemáticas utilizadas.

Por último, es necesario seguir estudiando el método mediante su aplicación a problemas reales en distintas escalas. Esto permite validar la utilidad, eficiencia y eficacia de la metodología y a su vez encontrar dificultades particulares en el desarrollo que pueden no haber sido enfrentadas hasta el momento. Además, si los casos de estudios son procesos innovadores de interés industrial, se genera conocimiento tecnológico que trae un beneficio económico y académico adicional.

ANEXO

Programas de Matlab

ANEXO: Programas de Matlab

Es este anexo se presentan los archivos de Matlab usados para la implementación de la metodología para el ejemplo del capítulo 5. Luego de realizado un experimento, los datos se procesan con los siguientes programas.

Nombre del archivo	Descripción
odeTM tenM	Modelo de tendencia del proceso
jTM jTM_gsa	Evaluador de la performance usando el modelo a tiempo final (jTM) y durante el experimento (jTM_gsa, usado en GSA)
profileF	Descripción del perfil de alimentación
Par_est par_error	Ajuste del modelo
Bootstrapping	Generación de las distribuciones
P_Optimizador_SQP	Optimizador del modelo de tendencia para la parametrización de referencia
GSA_p_xcosi	Análisis de sensibilidad de los elementos de la política
Sampling_ts	Diseño del esquema de muestreo
Resize_LUb	Reducción de la región de optimización

Si está por comenzar una iteración, debe ajustarse el modelo. En ese caso, se ejecutan los siguientes programas:

RTR_0	Panel de control general del método
RTR_1	Ejecuta todos los programas

Si se debe reducir la región de optimización y reoptimizar, se usan los programas:

RTR_0_reopt	Panel de control general del método
RTR_1_reopt	Ejecuta todos los programas

Adicionalmente a estos programas, se requiere el programa xcosi, desarrollado por Plischke: elmar.plischke@tu-clausthal.de

E. Plischke, "An Effective Algorithm for Computing Global Sensitivity Indices (EASI)", *Reliability Engineering & Systems Safety*, 95(4), 354-360, 2010

E. Plischke, "How to compute variance-based sensitivity indicators with your spreadsheet software", *Environmental Modelling & Software*, In Press, 2012

En el archivo RTR_0 deben ingresarse los siguientes datos:

$P=[]$; Valores de la política utilizada en el experimento, en unidades l/h.

$ts=[]$; Tiempos a los que se tomaron las muestras, en h.

$CS=[;]$; En el primer renglón, datos de concentración de biomasa y en el segundo renglón datos de la concentración de glucosa, en g/l.

En el archivo RTR_0 deben ingresarse los siguientes datos:

$P=[]$; Valores de la política utilizada en el último experimento de la iteración anterior (o la política exploratoria en el caso de la primer iteración), en l/h.

$ts=[]$; Tiempos a los que se tomaron las muestras para el último experimento de la iteración anterior (o del experimento exploratorio), en h.

$P_nom=[]$; Política ensayada que no logró una mejora en la performance, en l/h.

$KA_bts=[; ; ; ;]$; Distribuciones de los parámetros producidas por el algoritmo Bootstrapping en el último experimento de la iteración anterior (o del experimento exploratorio). Cada columna representa la distribución de uno de los parámetros, con las unidades correspondientes.

RTR_0

```

clear all,clear global, close all, clc

global ts CS i_th i_CS i_CStm P CI CIis Ka_nom w_CS w_bts Ka_bts
global KA_bts LBp UBp pps n_p const_Mod Paux0 TH

RUN=0;

n_th=7;
n_max=4;
tf=10;
n_ts=6
ts_min=2;
del_ts=0.5;
ts_max=9;
i_CS=[1 2]+1;
i_CStm=[1 2]+1
w_CS=[25 1];

LBo=[.1 5e-4 .4 1e-2 .0375 .45 .12];
UBo=[ .2 0.002 .5 0.1 .05 .5 .15];

LBp0=[1 0 0 0 0]/100*1.3;
UBp0=[3 3 3 3 3]/100*1.3;

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%DATOS A INGRESAR
P=[];
ts=[];
CS=[ ; ];
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

CS=CS';
CI=[ 6 1.2 0 1.25 ];

CC{RUN}=CS;
TTS{RUN}=ts;
PP{RUN}=P;

Ka_nom=[LBo+UBo]/2
i_th=1:n_th;
n_p=length(P);
w_bts=ones(1,n_ts+1);

```

RTR_0_reopt

```

clear all,clear global, close all, clc

global ts CS i_th i_CS i_CStm P CI CIis Ka_nom w_CS w_bts Ka_bts
global KA_bts LBp UBp pps n_p const_Mod Paux0 TH

n_th=7;
n_max=4;
tf=10;
n_ts=6;
ts_min=2;
del_ts=0.5;
ts_max=9;
i_CS=[1 2]+1;
i_CStm=[1 2]+1;
w_CS=[25 1];

LBo=[.1 5e-4 .4 1e-2 .0375 .45 .12];
UBo=[.2 0.002 .5 0.1 .05 .5 .15];

LBp0=[1 0 0 0 0]/100*1.3;
UBp0=[3 3 3 3 3]/100*1.3;

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%DATOS A INGRESAR
P=[];
ts=[];
P_nom=[];
KA_bts=[];
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

CI=[ 6 1.2 0 1.25 ];

CC{RUN}=CS;
TTS{RUN}=ts;
PP{RUN}=P;

Ka_nom=mean(KA_bts);
i_th=1:n_th;
n_p=length(P);
w_bts=ones(1,n_ts+1);

```

odeTM

```

function f=odeIS(t,x)

global Pi TH

x=x';

X=x(1);
S=x(2); E=x(3);
V=x(4);

Fi=profileF(t,Pi);
Si=100;
D=Fi/V;

mu1=TH(1);
Ks1=TH(2);

rg1=mu1*S/(Ks1+S);

mu2=TH(3);
Ks2=TH(4);

rg2=mu2*S/(Ks2+S);

Seq=TH(5);
Y1=TH(6);
Y2=TH(7);
Yx=Y1+(Y2-Y1)./(1+exp((Seq-S)/.0005));

rg=(rg1+(rg2-rg1)./(1+exp((Seq-S)/.0005)));
dX=(rg-D)*X;
dS=D*(Si-S)-rg/Yx*X;
dV=Fi;

f=[dX dS dE dV ]';
end

```

tenM

```
function y=tenM(t_s,CI,P,Kx)
global TH Pi
TH=Kx;
Pi=P;
options1=optimset('TolFun',1e-3,'TolX',1e-3);
[Tb,Yb]=ode15s('odeTM',[0 2],CI,options1);
T=Tb;Y=Yb;

tsb=[ 2 3.5 5 6.5 8 9 t_s(end)];

for ntb=1:length(tsb)-1
CIb=Y(end,:);
[Tb,Yb]=ode15s('odeTM',[tsb(ntb) tsb(ntb+1)],CIb,options1);
T=[T;Tb(2:end)];Y=[Y;Yb(2:end,:)];
end

Y((Y<1e-9))=1e-9;
y=[t_s',interp1(T,Y,t_s','linear')];

end
```

profileF

```
function f=profileF(t,Px)

tsb=[0 2 3.5 5 6.5 8 9 10];
Px1=[0 cumsum(Px) 0 0];
for ntb=1:length(tsb)
    if t>=tsb(ntb)
        f=Px1(ntb);
    end
end

end
```

jTM

```
function y=jTM(x)

global ts CI KA_bts Ka_bts

ytm=tenM([0 ts(end)],CI,x,Ka_bts);
y=-((ytm(end,2)*ytm(end,5)-ytm(1,2)*ytm(1,5))-...
0.3*100*(.015+(ytm(end,5)-ytm(1,5))));

end
```

jTM_gsa

```
function y=jTM_gsa(tx, x)

global CI Ka_bts

ytm=tenM(tx,CI,x,Ka_bts);
y=((ytm(:,2).*ytm(:,5)-ytm(1,2)*ytm(1,5))-0.3*(ytm(:,5)-ytm(1,5))*100);

end
```

Par_est

```

tic
Ka_nom=(LBo+UBo)/2
errorKa0=0;
is_Ko=sobolset(length(i_th));
is_Ko=net(is_Ko,20001);

for nn=1:20001;
Kao=LBo+is_Ko(nn,:).*(UBo-LBo);
Ka_nom0(nn,i_th)=Kao;
errorKa0(nn)=par_error(Ka_nom0(nn,i_th));
at=toc;
if at>(60*5)
break
end
end
[sort_k,isk]=sort(errorKa0);

Ka_nom00=zeros(1,n_th);
errorKa00=0;

for n_isk=1:length(errorKa0)
Ka_nom00(n_isk,:)=Ka_nom0(isk(n_isk),:);
options1=optimset('TolFun',1e-3,'TolX',1e-3,'MaxFunEvals',200);%
Ka_nom00(n_isk,i_th)=fmincon(@par_error,Ka_nom00(n_isk,i_th),[],[],[],
[],LBo,UBo,[],options1);
errorKa00(n_isk)=par_error(Ka_nom00(n_isk,:));
at2=toc
if at2>(60*10)
break
end
end
toc

[minError,i_Error]=min(errorKa00);
Ka_nom=Ka_nom00(i_Error,:);
KKa_nom{RUN}=Ka_nom;

[minError,i_Error]=min(errorKa00);
Ka_nom=Ka_nom00(i_Error,:);

```

par_error

```
function y=par_error(x)

global ts CS P CI w_bts w_CS Ka_nom i_th i_CStm

Kx=x;

ytm=tenM(ts,CI,P,Kx);

if size(ytm,1)<size(CS,1)
    ytm=zeros(size(CS,1),8);
end

yer=[];

for ii_CS=1:length(i_CStm)
    yer=[yer;w_CS(ii_CS)*(ytm(2:end,i_CStm(ii_CS))-...
        CS(2:end,ii_CS)).*w_bts'./max(CS(2:end,ii_CS))];
end

y=norm(yer)^2;

end
```

Bootstrapping

```

s_BTS=[];

N_BTS=2000;
n_muest=n_ts+1;

while size(s_BTS,1)<N_BTS
    num_rep=0;
    s_BTS_candidato=sort((unidrnd(n_muest,1,n_muest))');
    for n_sbts=1:n_muest
        num_rep=length(find(diff(s_BTS_candidato)==0))
    end
    if (n_muest-num_rep)*length(i_CS)>=n_th
        s_BTS=[s_BTS;s_BTS_candidato];
    end
end

cnt_rep=0;
BTS=zeros(N_BTS,n_muest+n_th);
BTS(1,:)= [1:n_muest,Ka_nom];

for nt=2:size(s_BTS,1)
    i_bts=s_BTS(nt,:);
    check=strmatch(i_bts,BTS(:,1:n_muest));
    check_empty=isempty(check)
    if check_empty==1
        w_bts=0;
        for i_w_bts=1:n_muest
            w_bts(i_w_bts)=sum(i_bts==i_w_bts);
        end

        Ka_sol=Ka_nom;
        options_bts=optimset('TolFun',1e-6,'TolX',1e-6);
        Ka_sol(i_th)=fmincon('par_error',Ka_nom(i_th),...
            [],[],[],[],LBo,UBo,[],options_bts);
        K_bts=Ka_sol;
        BTS(nt,:)=[i_bts,K_bts];
    else
        BTS(nt,:)=BTS(check(1),:);
        cnt_rep=cnt_rep+1
    end
end

if abs(P(3)-P(4))<2
    BTS(:,end-2:end)=BTS_prev(:,end-2:end);
end

BTS_prev=BTS;
KA_bts=BTS(:,(n_muest+1):end);
BBTS{RUN}=BTS;
KKABTS{RUN}=KA_bts;

```

P_Optimizador_SQP

```
P_bts=zeros(100,n_p);

for nop=1:size(P_bts,1)
    l_bts=size(KA_bts,1);
    n_bts=unidrnd(l_bts,1,n_th);

    for n=1:n_th
        Ka_bts(n)=KA_bts(n_bts(n),n);
    end

    Pm1=fmincon(@jTM,P,[],[],[],[],LBp0,UBp0);
    P_bts(nop,:)=Pm1;

end

PP_BTS{RUN}=P_bts;
P_opt=mean(P_bts);
```

GSA_p_xcosi

```

tic
ts_splines=linspace(0,tf,10);
nsp=length(ts_splines);

N=5e3;
A=zeros(N,n_p);

is=sobolset(n_p,'Skip',1);
is=net(is,N);

P_bts_is=[P_bts];
Ka_bts=Ka_nom;

for si=1:n_p
    a=P_bts_is(:,si);
    ab=norminv(is(:,si)+eps,mean(a),std(a)+1e-10);
    A(:,si)=abs(ab);
end

YA=zeros(N,nsp);
for n=1:N
    P_gsa=A(n,:);
    YA(n,:)=jTM_gsa(ts_splines, P_gsa);
end

SS=[];
for i_np=1:n_p
    St=zeros(1,nsp);
    for nn=2:nsp
        for ii_np=1:n_p
            if ii_np==i_np
                Si=xcosi(A,YA(:,nn),[i_np]);
            else
                Si=xcosi(A,YA(:,nn),[ii_np i_np]);
            end
            St(nn)=St(nn)+Si;
        end
    end
    SS=[SS;St];
end

PS=[];
for ssi=1:n_p
    pps{ssi}=spline(ts_splines(2:end),SS(ssi,2:end));
    PS=[PS;ppval(pps{ssi},ts_min:.1:tf)];
end
PPS{RUN}=PS;

```

Sampling_ts

```

A=[];
for i_n_ts=1:n_ts-1
    A(i_n_ts,i_n_ts)=1;
    A(i_n_ts,i_n_ts+1)=-1;
end

b=-del_ts*ones(n_ts-1,1);

LBts=ts_min*ones(1,n_ts);
UBts=ts_max*ones(1,n_ts);

options_ga=gaoptimset('TolFun',1e-60);
options_fm=optimset('TolFun',1e-60);

ts_opt0=linspace(ts_min,ts_max,n_ts);
ts_opt=patternsearch(@detM,ts_opt0,A,b,[],[],LBts,UBts,[],options_fm);

```

Resize_LUb

```

Paux0=P;
LBp=LBp0;
UBp=UBp0;
for nlu=1:length(P)
    if P_nom(nlu)>Paux0(nlu)
        LBp(nlu)=LBp(nlu);
        UBp(nlu)=Paux0(nlu)+(P_nom(nlu)-Paux0(nlu))*s_factor;
    else
        UBp(nlu)=UBp(nlu);
        LBp(nlu)=Paux0(nlu)+(P_nom(nlu)-Paux0(nlu))*s_factor;
    end
end

UBp(find((UBp-LBp)<1e-5))=LBp(find((UBp-LBp)<1e-5))+1e-5;

```

RTR_1

RTR_0
Par_est
Bootstrapping
P_Optimizer_BTS
GSA_p_xcosi
Sampling_ts

RTR_1_reopt

RTR_0_reopt
Resize_LUb
P_Optimizer_BTS
GSA_p_xcosi
Sampling_ts