

# REQUISITOS E REALIZAÇÃO DE UMA INSTALAÇÃO EXPERIMENTAL PARA ESTUDOS DE MODELIZAÇÃO E CONTROLO EM PROCESSOS DE FERMENTAÇÃO

Filomena OLIVEIRA<sup>1</sup>, Eugénio C. FERREIRA<sup>2</sup>, Sebastião FEYO DE AZEVEDO<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Electrónica Industrial, Universidade do Minho, Largo do Paço, 4719 Braga codex (fsoares@dei.uminho.pt)

<sup>2</sup> Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Largo do Paço, 4719 Braga codex (eugenio@ci.uminho.pt)

<sup>3</sup> Dep. de Eng<sup>a</sup> Química, Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto, Rua dos Bragas, 4099 Porto codex (sfeyo@fe.up.pt)

## RESUMO

O presente trabalho descreve a integração de técnicas de controlo automático em processos biotecnológicos. Faz-se uma análise dos requisitos específicos que uma instalação experimental (reactor biológico e sistema informático) deve apresentar para estudos de monitorização e controlo. É descrito um sistema de aquisição de dados e controlo por computador para processos de fermentação, com aplicação a um processo de produção de fermento de padeiro à escala laboratorial.

Palavras-chave: Controlo de Processos Biotecnológicos; Automação; Computação; Fermentação

## 1. INTRODUÇÃO

A operação assistida por computador de processos industriais representa hoje em dia uma metodologia de trabalho vital para a competitividade industrial. Desde as funções de aquisição de dados, passando pela interpretação dos mesmos, em-linha e em tempo-real, até ao controlo de processos propriamente dito, incluindo a utilização de sistemas periciais, o computador assume uma duplicidade de funções na operação de processos, não só como ferramenta de estudos, mas também na sua qualidade de meio fundamental de execução das estratégias desejadas.

As dificuldades de operação de processos biotecnológicos decorrem de vários factores, nomeadamente da não existência ou do custo proibitivo de sensores (particularmente para medição em-linha) e da complexidade dos sistemas biológicos. Este último aspecto tem como consequência o facto de os modelos matemáticos representativos dos processos serem eminentemente não lineares e variantes no tempo.

A preocupação actual de investigação na área da modelização [1] centra-se nos problemas de identificação de sistemas e planeamento de experiências, no necessário recurso a técnicas de redução de modelos e na aplicação de métodos alternativos, como sejam os

## ABSTRACT

This work concerns the integration of automatic control techniques in biotechnological processes. An analysis of the specific requirements of an experimental set up (biological reactor equipment plus hard- and software system) for monitoring and control studies is presented. A data acquisition and computer controlled system is described for fermentation processes, with particular application, in this instance, to baker's yeast production at laboratory scale.

Keywords: Bioprocess Control; Automation; Software, Computation; Fermentation Processes

estudos recentes explorando a utilização de redes neuronais. Na área de controlo tem-se vindo a desenvolver esforços significativos na procura de métodos de estimativa de estados e na concomitante utilização de estratégias de controlo também com base em modelos. Este panorama está sumarizado na Fig. 1.



Figura 1: Proposta de investigação na área de modelização e controlo em processos biotecnológicos

Uma instalação experimental, laboratorial ou piloto, deverá ter no seu projecto os meios instrumentais, computacionais e de programas que permitam de uma forma flexível, desenvolver e testar metodologias e soluções para os problemas acima mencionados que ainda hoje limitam os rendimentos de unidades industriais.

É certo que existem no mercado soluções informáticas que, na generalidade, satisfazem requisitos básicos de aquisição de dados e controlo. Mas num projecto de médio prazo que vise o desenvolvimento de estratégias de controlo de processos, a aquisição de programas comerciais revela-se frequentemente dispendiosa e/ou limitante - i) ou porque normalmente fechados, logo não passíveis de adaptações e expansão; ii) ou por se basearem em sistemas operativos menos frequentes (*e.g.* MicroMFCs, correndo em *Concurrent-DOS*, [2]); iii) ou por exigirem plataformas dispendiosas e não disponíveis com facilidade (*e.g.* CIF, em VAX/VMS, [3]); iv) ou ainda, e como último exemplo, por dificuldades habituais de portabilidade. Assim, entende-se que seja frequente encontrar nos vários grupos de investigação os seus próprios desenvolvimentos informáticos.

## 2. SISTEMA E INSTALAÇÃO EXPERIMENTAL

O processo em estudo é uma fermentação semi-contínua ("*fed-batch*") de produção de fermento de padeiro, utilizando como inóculo, uma cultura da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 32167). Esta fermentação utiliza como substrato (fonte de carbono) uma solução de glucose. Podem-se distinguir três vias metabólicas [4]: crescimento respirativo em glucose, crescimento fermentativo em glucose e crescimento respirativo em etanol. As etapas respirativas decorrem, naturalmente, em presença de oxigénio e a etapa fermentativa na sua ausência (com produção de etanol). Em todas as vias há produção de dióxido de carbono.

A instalação experimental projectada pelos autores e em funcionamento no Centro de Engenharia Biológica da Universidade do Minho utiliza um fermentador de 5 litros de capacidade máxima (Fig. 2), com camisa de controlo de temperatura, motor de agitação e arejamento. Está, também, equipado com sondas para as chamadas variáveis ambientais ou de cultura (temperatura, pH, concentração de oxigénio dissolvido, potencial de oxidação-redução, nível, detecção de espuma). Estas variáveis são monitorizadas e controladas através de uma unidade de controlo digital directo (DCU - *Digital Control Unit*) que faz a aquisição desses dados. Cada variável tem associado o seu ciclo de controlo, com parâmetros adequados, passíveis de serem alterados pelo operador ou pelo computador de supervisão. Tem, também, a seu cargo a actuação nos respectivos elementos finais de controlo, nomeadamente, as bombas de adição de ácido e/ou base no controlo de pH. O processo de calibração dos eléctrodos e das bombas é, também, da sua responsabilidade. O DCU pode ser visto como uma unidade local de monitorização e controlo.

A fermentação, iniciada com 2 litros de meio de cultura e um inóculo de 500 ml, decorre através da adição controlada de substrato com uma bomba peristáltica de velocidade variável (elemento final de controlo ou actuador). A adição de substrato é monitorizada numa balança, através da variação da massa do recipiente que contém a solução de glucose. A alimentação termina quando se atinge o volume máximo do fermentador (tempos de fermentação entre 15 a 20 horas). As trajectórias de adição de substratos representam as principais decisões do algoritmo de controlo.

O conhecimento da composição da fase líquida, em termos de variáveis de estado, é efectuado através da medição das seguintes variáveis: concentrações de glucose, etanol dissolvido, oxigénio dissolvido e dióxido de carbono dissolvido. O etanol é medido em-linha através de uma sonda colocada no fermentador e ligada ao respectivo medidor. O oxigénio dissolvido é medido em-linha com um eléctrodo polarográfico ligado ao DCU. A concentração de CO<sub>2</sub> dissolvido pode ser inferida pela composição do gás de saída.

No estado actual do conhecimento, as medidas, em-linha e em tempo-real, de biomassa e glucose são difíceis, dispendiosas e/ou pouco fiáveis, o que impede a completa descrição do estado do sistema e condiciona o controlo. Estas análises são efectuadas em tempo diferido. Periodicamente, são retiradas amostras através de um colector automático, as quais são analisadas em termos de concentrações de glucose (via cromatografia líquida) e leitura de absorvância num espectrofotómetro. Esta propriedade está correlacionada com a concentração de biomassa em suspensão (peso seco), a qual caracteriza a fase biológica.

A fase gasosa é analisada, em-linha, em termos do caudal mássico de gás produzido e da respectiva composição (percentagens de azoto, oxigénio, dióxido de carbono) via espectrómetro de massa.

## 3. MONITORIZAÇÃO E CONTROLO POR COMPUTADOR

### 3.1. Requisitos

Este trabalho enquadra-se numa linha de estudos de metodologias de identificação de modelos determinísticos e estocásticos de processos, da simulação destes, da estimativa de estados e de cinéticas em-linha através de estimadores-observadores [5-7].

Estudos de simulação revelam a possibilidade de estimativa em-linha das concentrações de biomassa e glucose a partir das variáveis de estado disponíveis em-

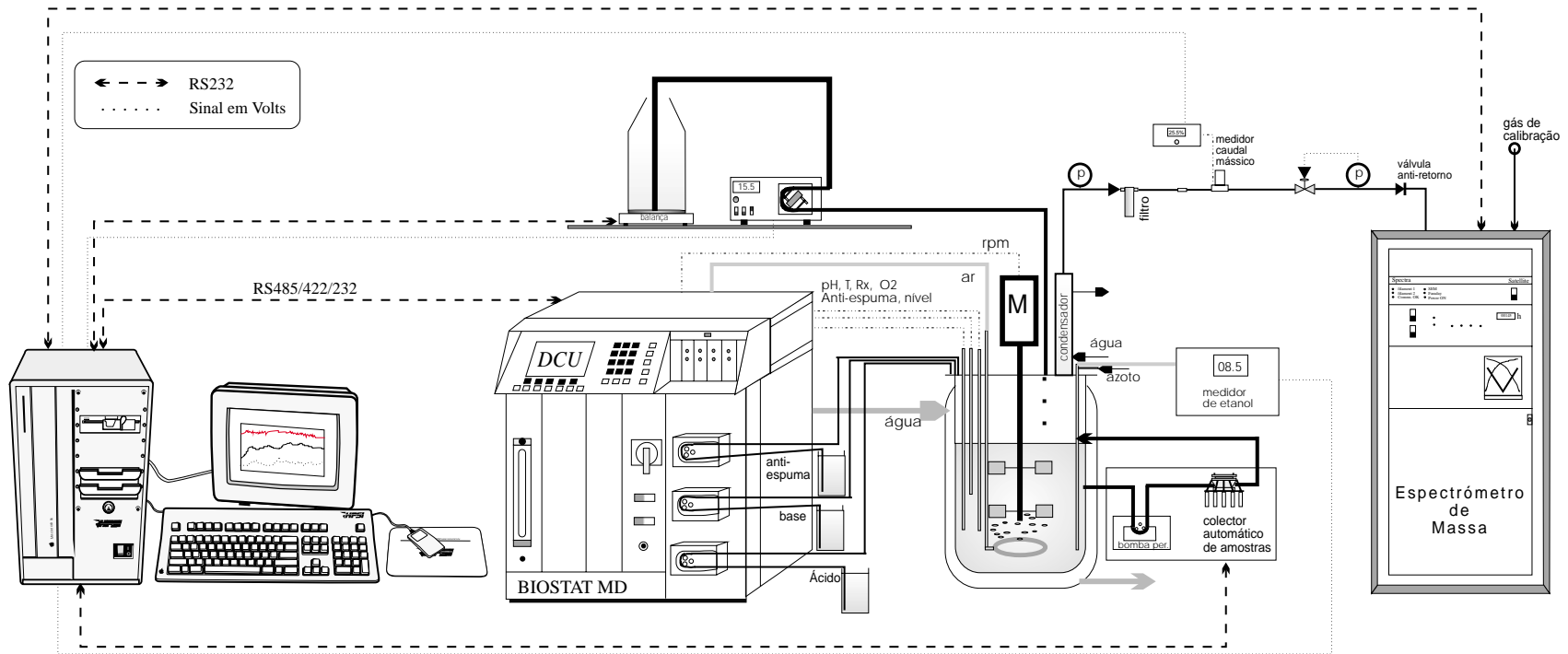


Figura 2: Configuração da instalação experimental

linha. A reconstrução do vector de estados permite o cálculo das taxas específicas de crescimento (cinéticas das reacções). O tempo de amostragem utilizado nas simulações, da ordem dos 5-6 minutos, mostra-se adequado aos tempos de resposta dos vários medidores.

A realização experimental é insubstituível, particularmente em estudos que envolvam meios nutricionais complexos, como os que são utilizados na produção industrial. A instalação experimental e o sistema informático devem utilizar equipamentos e técnicas transponíveis para a escala industrial.

### 3.2. Aplicação Informática

O sistema de controlo por computador apresentado engloba as seguintes funções tipo:

- . aquisição de dados,
- . interpretação de dados,
- . controlo do processo.

Sob a designação de aquisição de dados consideram-se as funções de entrada de dados em-linha e em diferido, aplicação de filtros, análise dos dados e armazenamento dos mesmos em ficheiro, monitorização da fermentação, em gráfico e/ou tabela, análise de históricos, registo de alarmes de erro, entre outros.

Por interpretação de dados entende-se o conjunto de metodologias que, no essencial, têm como objectivos a observabilidade do estado e a estimativa das cinéticas características dos processos biotecnológicos. Essas metodologias podem ter por base modelos determinísticos, modelos estocásticos ou, ainda estruturas neuronais. Em paralelo, permite-se a execução em tempo-real (e contínua validação) do simulador matemático representativo do processo.

No terceiro nível de funções encontram-se os módulos de controlo, em que devem estar incluídas as técnicas clássicas (PID), as estratégias avançadas de controlo baseadas em modelos (estratégias de controlo adaptativo e preditivo). Outras funções, particularmente controlo de supervisão, devem ser acomodadas através da comunicação do sistema informático com outros meios computacionais.

O programa de monitorização e controlo apresentado corre num computador PC486 compatível; foi desenvolvido em ambiente *Microsoft Windows* (com todas as vantagens inerentes), usando como linguagem de programação o *Microsoft Visual Basic 3.0* (versão profissional). É uma linguagem com estrutura modular baseada em acontecimentos e caracterizada por objectos. Possui diversas funções pré-definidas, que permitem elaborar, com um esforço moderado, programas de fácil interacção com o operador.

Na Fig. 2 e Tabela 1 apresentam-se de uma forma esquemática os requisitos de equipamento e instrumentação e respectivas ligações. Na Tabela 2 listam-se as interfaces instaladas no computador para aquisição e comunicação de dados. A placa PCL744 mencionada contém oito portas de comunicação RS232, seleccionadas por programa. A unidade de controlo do fermentador, DCU, comunica com o computador via interface RS 422/485 ou, opcionalmente, através de uma das portas série RS232. Os periféricos espectrómetro de massa, balança e colector automático de amostras comunicam igualmente via portas série. O medidor de caudal mássico e o medidor de etanol enviam um sinal 0-5 V, via conversores analógico-digital. O funcionamento e a velocidade da bomba peristáltica são impostos, respectivamente, através de um sinal digital e de um analógico. A placa de rede *Ethernet* tem em vista a ligação futura a um computador central de supervisão.

Tabela 1: Principais equipamentos

<i>Equipamento</i>	<i>Marca</i>	<i>Modelo</i>	<i>Comunicação</i>
Fermentador + DCU	B. Braun	Biostat MD5	Série
Computador	"PC compatível"	486	-----
Espectrómetro de massa	Spectramass	BIO-QUAD	Série
Analizador de etanol	Bionova	MGS-5	Analógico
Colector de amostras automático	New Brunswick Scientific	MX3 Biosampler	Série
Balança	Mettler	PM 4800	Série
Medidor de caudal mássico	Bronkhurst Hi-Tec	F111C-HA	Analógico
Bomba peristáltica	Watson-Marlow	503U	Analógico

Tabela 2: Interfaces de aquisição e comunicação de dados

<i>Placa</i>	<i>Marca</i>	<i>Modelo</i>
8 portas série RS-232C	Advantech	PCL744
8 An_Inp, 2 An_Out, 16 DIO	Advantech	PCL718
RS 422/485	Opto22	AC24AT
2 portas série (COM1 e COM2)	-----	-----
Rede Ethernet	Hewlett-Packard	EtherTwist

A configuração global do sistema é constituída por dois blocos de informação - i) o relacionado com os equipamentos, e ii) o bloco contendo a identificação e caracterização das variáveis de processo utilizadas. Foi preocupação dos autores que o programa desenvolvido não fosse específico de um sistema. Deste modo, a configuração global deve ser fornecida pelo operador, empregando-se o sistema de gestão de base de dados *Microsoft Access 1.1*. para armazenar a informação sob a forma de tabelas.

A configuração do equipamento consiste, no essencial, na identificação completa dos periféricos utilizados, caracterizando todos os canais de comunicação de cada interface (*e.g.* parâmetros do protocolo série; resolução e gamas dos canais A/D e D/A).

A configuração das variáveis abrange um número diverso de parâmetros, dependendo do tipo de variável (medidas, calculadas internamente ou de controlo). Refere-se, particularmente - i) o nome; ii) o tipo; iii) a gama de trabalho; iv) níveis de alarmes; v) calibração sinal/propriedade; vi) especificação de visualização por traçado gráfico; vii) tipo de fórmula de cálculo nas variáveis internas.

Os procedimentos desenvolvidos para cada uma das tarefas que constituem a essência da aplicação informática (observadores, algoritmos de controlo, simuladores) têm vindo a ser incorporados de uma forma modular, e em articulação com os módulos utilitários (visualização em tabela e/ou gráfica, armazenamento em disco, impressão, entre outros).

#### 4. CONCLUSÕES

A realização de uma instalação experimental para estudos de modelização e controlo de processos de fermentação é dispendiosa e complexa, requerendo a conjugação de competências das áreas de engenharia de processos químicos e biológicos e da engenharia de controlo. A solução descrita reúne os requisitos necessários em equipamento de biotecnologia e de informática para os fins mencionados. Em particular, está estruturalmente preparada para a instalação de

novos instrumentos e interfaces de aquisição de dados, bem como para a operação de diferentes processos de fermentação.

Adoptou-se a utilização de computadores de baixo custo, sistema operativo DOS, ambiente *Windows* e programação em *Visual Basic 3.0*. O ambiente de programação escolhido tem vindo a revelar-se bastante adequado para um desenvolvimento modular. Permite a criação fácil de interfaces gráficas com o utilizador e revela-se simples na actualização dos programas (inserção de novos módulos). Criticamente, pode apontar-se o facto de o modelo de multi-tarefa cooperativo característico do *Windows* não constituir um verdadeiro ambiente multitarefa. Esta questão pode ser resolvida utilizando o *Windows NT* com a implementação preemptiva da multi-tarefa.

Prevê-se, num futuro próximo, a ligação *Ethernet* do computador PC ao um computador supervisor (possivelmente em ambiente *UNIX* ou *Windows NT*) com funções de optimização do processo e gestão centralizada de bases de dados.

#### REFERÊNCIAS

- [1] Bastin G.; Morris, A.J. Proposal for a Research Programme in Bioprocess Science, Part 2: Modelling and Control. *Biotech Forum Europe*, 9:11/12, pp. 763-764, 1991.
- [2] Kappel, W.; Diehl, U.; Lauterbach, U.; Haß, V.C.; Munack, A. Implementation of Applications-specific Programs in a Standard Software-Package, *Biotech Forum Europe*, 8:10, pp. 608-611, 1991.
- [3] Dors, M.; Behrendt, J.; Kreibaum, U.; Havlik, I.; Wingelsdorf, R.; Lübbert, A. CIF, a User Friendly Process Management System of a New Software Generation, *Biotech Forum Europe*, 8:10, pp. 612-620, 1991.
- [4] Sonnleitner, B.; Käppeli, O. Growth of *Saccharomyces cerevisiae* is Controlled by its Limited Respiratory Capacity: Formulation and Verification of a Hypothesis, *Biotechnology & Bioengineering*, 28, pp. 927-937, 1986.
- [5] Ferreira, E.C.; Oliveira, F.; Pimenta, P.; Feye de Azevedo, S. Model-Based Identification and Control on Baker's Yeast Fed-Batch Fermentation, *6th European Congress on Biotechnology*, Florença, pp. TU022, 1993.

[6] Feye de Azevedo, S; Pimenta, P.; Oliveira, F. e Ferreira, E.C. Studies on On-line State and Parameter Estimation through a Real-time Process Simulator, in M. Nazmul Karim and G. Stephanopoulos (eds.) *Modeling and Control of Biotechnical Processes 1992*, IFAC Symp. Series, Pergamon Press, Oxford, pp. 453-458, 1992.

[7] Oliveira, R.; Ferreira E.C.; Oliveira, F., S. Feye de Azevedo A Study on the Convergence of Observer-Based Kinetic Estimators in Fed-Batch Fermentations, Proc. *5th International Symposium on Process Systems Engineering, PSE'94*, Kyongju, Korea, pp. 683-687, 1994.