

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

Gabriel Deriggi Torresam

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA PARA MONITORAMENTO E
CONTROLE DE BIORREATOR *AIRLIFT* DE ESCALA DE BANCADA**

**São Carlos
2013**

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA PARA MONITORAMENTO E
CONTROLE DE BIORREATOR *AIRLIFT* DE ESCALA DE BANCADA**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

GABRIEL DERIGGI TORRESAM

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA PARA MONITORAMENTO E
CONTROLE DE BIORREATOR *AIRLIFT* DE ESCALA DE BANCADA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Pesquisa e desenvolvimento de software de controle para monitorar e controlar processo de fermentação.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Colli Badino Júnior

Co-orientador: Dr Victor Bertucci Neto

São Carlos

2013

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

T693ds

Torresam, Gabriel Deriggi.

Desenvolvimento de sistema para monitoramento e controle de biorreator *airlift* de escala de bancada / Gabriel Deriggi Torresam. -- São Carlos : UFSCar, 2013.
110 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2013.

1. Processos químicos. 2. Simulação. 3. Biorreatores. 4. Instrumentação eletrônica. I. Título.

CDD: 660.284 (20ª)

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE Mestrado DE
GABRIEL DERIGGI TORRESAM APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SÃO CARLOS, EM 22 DE JULHO DE 2013.

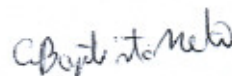
BANCA EXAMINADORA:



Alberto Colli Badino Junior
Orientador, UFSCar



Victor Bertucci Neto
Co-orientador, EMBRAPA



Alvaro de Baptista Neto
UNESP



Antonio José Gonçalves da Cruz
UFSCar

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus familiares e amigos pelo auxílio na conclusão do meu trabalho de mestrado.

Agradeço imensamente o Professor Dr Alberto Colli Badino Jr pela paciência e dedicação que proporcionaram todo o aprendizado adquirido durante sua orientação e mesmo diante de todas as dificuldades que eu apresentei ao longo do curso mostrou-me que perseverar exige muita paciência e dedicação.

Agradeço ao Dr. Victor Bertucci pela oportunidade de trabalhar na área de instrumentação eletrônica direcionada a engenharia de controle de processos bioquímicos, por disponibilizar as licenças dos softwares LabView e Matlab e ainda dispor dos recursos dos laboratórios da Embrapa instrumentação Eletrônica. Agradeço também pela confiança depositada e pelos ensinamentos ao longo desses anos.

Agradeço ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química por possibilitar o meu desenvolvimento profissional e pessoal.

Por fim, agradeço imensamente as amigas que longo do curso foram conquistadas, pois, sem seus incentivos eu jamais teria encerrado esta etapa.

RESUMO

No presente trabalho foi desenvolvido um sistema para monitoramento e controle de um biorreator airlift de cilindros concêntricos em escala de bancada com 5,0 L de volume útil. O software elaborado em linguagem G (Labview), proporcionando ao usuário monitorar importantes variáveis de processo como concentração de oxigênio dissolvido, pH, vazão volumétrica de alimentação do biorreator, diferença de pressão entre dois pontos ao longo da direção axial e temperatura em duas regiões de escoamento da fase líquida, sendo possível atuar na vazão volumétrica e na composição da corrente gasosa na entrada do biorreator. Foram aplicadas metodologias como da expansão volumétrica e da medida manométrica para determinação das retenções gasosas global (ε_G) e parciais nas regiões de subida (ε_R) e de descida (ε_D), de pulso térmico e de pH para avaliação dos tempos de mistura (t_m) e circulação (t_c), método dinâmico para avaliar a transferência de massa em sistema bifásico ar-água, visando obter importantes parâmetros de desempenho hidrodinâmico em função da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{GR}). Análises da dinâmica de transferência de oxigênio também foram utilizadas no desenvolvimento do sistema de controle automático para controlar a concentração de oxigênio dissolvido. Como resultado concreto, o presente trabalho disponibilizou um software para monitoramento e aquisição de dados de um conjunto de sensores instalados no biorreator airlift, oferecendo desse modo uma ferramenta para explorar o desempenho hidrodinâmico bem como controlar a concentração do oxigênio dissolvido em biorreator airlift de cilindros concêntricos durante cultivos aeróbios. A validação do sistema foi realizada comparando os resultados obtidos nos ensaios de hidrodinâmica com aqueles da literatura sendo a malha de controle avaliada nas simulações de um cultivo envolvendo um microrganismo estritamente aeróbio.

ABSTRACT

In the present work it was developed a system for monitoring and control of a bench scale concentric-tube airlift bioreactor of 5.0 L working volume. The software-based language G (Labview) provides the user monitor important process variables such as dissolved oxygen concentration, pH, volumetric flow rate of feed, pressure difference between two points along the axial direction and temperature in two regions of liquid phase flow phase, and it can act in the volumetric flow rate and gas stream composition at the input of bioreactor. Overall gas hold-up (ϵ_G) and gas hold-up in riser (ϵ_R) and downcomer (ϵ_D) regions were determined using volumetric expansion and gauge measurement methods. Mixing time (t_m) and circulation time (t_c) were determined by thermal and pH pulse methods. Dynamic pressure method was utilized for evaluating mass transfer measurement in air-water biphasic system. These methods were utilized in order to obtain significant hydrodynamic performance parameters as a function of superficial gas velocity in the riser (U_{GR}). Analyses of the oxygen transfer dynamics were also used in the development of automatic control loop to control the dissolved oxygen concentration. As a concrete result, this study provided software for data acquisition and monitoring of all sensors in pneumatic bioreactor, providing a tool to explore the hydrodynamic performance and control of the dissolved oxygen concentration in concentric-tube airlift bioreactor during aerobic cultivations. The system validation was performed by comparing the results obtained in the hydrodynamics tests with those of literature and control loop was tested in simulations involving a cultivation of a strictly aerobic microorganism.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1– Biorreatores airlift de circulação interna em diferentes configurações e aspersores: (a) coluna de bolhas ou tipo torre (b) airlift de cilindros concêntricos (b) e (c) airlift <i>split-cylinder</i>	20
Figura 3.2–Taxa de aeração em função da velocidade superficial do gás e o regime de escoamento gás líquido.	21
Figura 3.3– Determinação dos tempos de mistura (t_m) e de circulação (t_c).....	22
Figura 3.5–Interface gás-líquido com as películas estagnadas	33
Figura 3.6– Diagrama de blocos de sistema de controle em malha aberta	39
Figura 3.7– Diagrama de blocos de sistema de controle em malha fechada feedback (realimentação negativa).	39
Figura 3.8– Características de desempenho em sistemas de controle no domínio do tempo...	40
Figura 3.9– Resposta dinâmica de sistema de primeira ordem.	41
Figura 3.10– Resposta dinâmica de sistema de primeira ordem com tempo morto.....	41
Figura 3.11– Resposta dinâmica de sistema de segunda ordem.....	42
Figura 3.12– Resposta dinâmica de sistema de segunda ordem.....	43
Figura 3.13– Controlador proporcional integral derivativo.	43
Figura 3.14: Esquema de ajuste do controlador PID pelo método de curva de resposta	45
Figura 4.1 – Sensores e atuadores instalados na planta em estudo.	48
Figura 4.2– Esquema e medidas do biorreator utilizado.	50
Figura 4.3: Esquemas e medidas dos dispositivos utilizados para medir a pressão hidrostática e a temperatura em cada região do biorreator.....	50
Figura 4.4: Esquema de ajuste do controlador PID pelo método de curva de resposta.	53
Figura 4.5 – Limites das constantes de tempo no plano complexo.	54
Figura 4.6 – Diagrama de blocos do sistema realimentado.....	54
Figura 4.7 – Gráfico no plano complexo do lugar das raízes diante das restrições dos índices de desempenho, de máximo sobressinal e tempo de acomodação.....	55
Figura 5.1–Curvas de calibração dos sensores de temperatura.....	59
Figura 5.2– Dados utilizados para a calibração do sensor de pressão.....	60
Figura 5.3–Curva de calibração do sinal de pH.	61
Figura 5.4 – Curva de calibração do analisador de oxigênio dissolvido	62
Figura 5.5 – Interface de configuração do biorreator e outros dados necessários nos ensaios de hidrodinâmica.....	63
Figura 5.6: Interface da aba de monitoramento desenvolvida no sistema supervisório.....	64
Figura 5.7–Arquivo de dados gerado na aba de monitoramento e utilizando na aba de análise.	66
Figura 5.8 – Aba de análise de dado	67
Figura 5.9 – Obtenção do tempo de mistura $t_m= 12$ s para $U_{GR}=0,064$ m.s ⁻¹ pelo método de pulso de pH.....	70

Figura 5.10 – Obtenção do tempo de circulação pelo método de pulso térmico ($t_c = 2$ s) para $U_{GR} = 0,0645$ m.s ⁻¹ . Linha em preto: dados do sensor de temperatura 1 localizado na parte superior. Linha em roxo: dados do sensor de temperatura 2 localizado no fundo do biorreator.....	71
Figura 5.11 – Diferença de pressão medida na região de descida, onde a linha em preto é a medida da pressão e a linha em vermelho é a vazão de alimentação. A diferença de pressão sem aeração foi de 250,8 mmH ₂ O e com o sistema aerado em torno de 10 L.min ⁻¹ , a diferença de pressão foi de 243,9 mmH ₂ O.....	71
Figura 5.12 – Ajuste da Equação 4.5 aos pontos experimentais utilizando o algoritmo elaborado no software proposto para a estimativa do coeficiente de transferência de oxigênio ($k_L a = 0,031$ s ⁻¹) com sistema submetido a aeração de 5 L.min ⁻¹	72
Figura 5.13 – Retenções gasosas nas regiões de subida (ϵ_R), descida (ϵ_D) e retenção gasosa global (ϵ_G) em função de U_{GR} obtidas pelo método manométrico.....	72
Figura 5.14 – Comparação da entre os valores de retenção gasosa global (ϵ_G) obtidos pelos métodos manométrico (média ponderada) e visual.	73
Figura 5.15 – Ajuste do modelo (Equação 5.9) aos valores experimentais de ϵ_G	74
Figura 5.16 – Tempo de circulação (t_c) em função da velocidade superficial do gás (U_{GR}).....	74
Figura 5.17 – Obtenção do tempo de mistura (t_m) pelos métodos do pulso térmico e método do pulso de pH em função da velocidade superficial do gás (U_{GR}).....	75
Figura 5.18 – Variação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) em função da velocidade superficial do gás (U_{GR}).	75
Figura 5.19–Ajuste do modelo (Equação 5.10) aos valores experimentais de $k_L a$ e U_{GR}	76
Figura 5.20 – Velocidade linear média de líquido (V_L), velocidade linear de líquido na região de subida (V_{LR}) e velocidade linear de líquido na região de descida (V_{LD}) em função da velocidade superficial do gás (U_{GR}).....	77
Figura 5.21 – Velocidade de circulação média de líquido (U_{Lm}) em função da velocidade superficial do gás (U_{GR}).	77
Figura 5.21–Curva de resposta utilizando água destilada. Ensaio 1 a Vin igual a 5L.min ⁻¹ , ensaio 2 a Vin igual a 10L.min ⁻¹ , ensaio 3 a Vin igual a 15L.min ⁻¹ e ensaio 4 a Vin igual a 20L.min ⁻¹	79
Figura 5.22–Curva de resposta utilizando água destilada com 60% de glicerol. Ensaio 5 a Vin igual a 5L.min ⁻¹ , ensaio 6 a Vin igual a 10L.min ⁻¹ , ensaio 7 a Vin igual a 15L.min ⁻¹ e ensaio 8 a Vin igual a 20L.min ⁻¹	80
Figura 5.23–Estimativa dos valores de L e T diante da dinâmica mais rápida do sistema. A partir dos valores de L e T foram calculados os valores de k_p e T_i de acordo com a metodologia de Ziegler-Nichols. Para $k_p = 14,85$ % e $T_i = 6,66$ s	81
Figura 5.24–Estimativa dos valores de L e T diante da dinâmica mais lenta do sistema. A partir dos valores de L e T foram calculados os valores de k_p e T_i de acordo com a metodologia de Ziegler-Nichols. Para $k_p = 22,5$ % e $T_i = 96,66$ s	81

Figura 5.26-A Figura (a) ilustra a região do plano complexo em que são satisfeitas as especificações de máximo sobressinal (MP%) igual a 10% e tempo de acomodação (t_s) igual a 1000 s. A Figura (b) ilustra os limites de robustez do sistema.	84
Figura 5.27 - Fluxograma do algoritmo utilizado para simulação do cultivo aeróbio de <i>S. clavuligerus</i> sem controle da C_{O_2}	85
Figura 5.28 - Simulação de C_{O_2} ao longo de um cultivo aeróbio de <i>S. clavuligerus</i> sob diferentes vazões de alimentação de ar (Q_{ar}). Curva em vermelho: $Q_{ar}=5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, curva azul claro: $Q_{ar}=10 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, curva roxa: $Q_{ar}=15 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ e curva amarela: $Q_{ar}=20 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$	86
Figura 5.29 - Fluxograma da estratégia primeira estratégia de controle (variando Q_{ar})	86
Figura 5.31 - Simulação baseada na primeira estratégia de controle utilizando o controlador PI. Os parâmetros K_p e T_i foram obtidos pelo método de Ziegler-Nichols utilizando a curva de resposta do ensaio 4.	89
Figura 5.32 - Simulação baseada na primeira estratégia de controle utilizando o controlador PI. Os parâmetros K_p e T_i foram obtidos pelo método de Ziegler-Nichols utilizando a curva de resposta do ensaio 5.	89
Figura 5.33 - Simulação baseada na primeira estratégia de controle utilizando o controlador PI. Os parâmetros K_p e T_i foram obtidos pelo método Robusto utilizando as constantes de tempo τ_1 e τ_2	90
Figura 5.34 - Simulação baseada na segunda estratégia de controle utilizando o controlador PI. Os parâmetros K_p e T_i foram obtidos pelo método de Ziegler-Nichols utilizando a curva de resposta do ensaio 4.	90
Figura 5.35 - Simulação baseada na segunda estratégia de controle utilizando o controlador PI. Os parâmetros K_p e T_i foram obtidos pelo método de Ziegler-Nichols utilizando a curva de resposta do ensaio 5.	91
Figura 5.36 - Simulação baseada na segunda estratégia de controle utilizando o controlador PI. Os parâmetros K_p e T_i foram obtidos pelo método Robusto utilizando as constantes de tempo t_1 e t_2	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1– Concentração crítica de alguns microrganismos.	31
Tabela 3.2– Influência dos parâmetros do controlador no critério de tempo de subida e do máximo sobressinal.	44
Tabela 3.3: Aproximação dos parâmetros do controlador PID proposto por Ziegler-Nichols.	45
Tabela 4.1– Equipamentos utilizados para monitorar e controlar as variáveis do processo	47
Tabela 4.1: Aproximação dos parâmetros do controlador PID proposto por Ziegler-Nichols.	53
Figura 5.1 – Dados utilizados para a obtenção das curvas de calibração dos sensores de temperatura	59
Tabela 5.2 – Dados utilizados para a calibração do sensor de pressão	60
Tabela 5.3 – Dados utilizados para calibração do medidor de pH	61
Tabela 5.4 - Descrição dos itens na aba de monitoramento disponível no sistema supervisório	65
Tabela 5.5 – Descrição dos itens na aba de análise dedados.	68
Tabela 5.6 – Parâmetros determinados em função da vazão de alimentação para validação do sistema de aquisição de dados	70
Tabela 5.7–Dados obtidos da constante de tempo em cada ensaio degrau:	80
Tabela 5.8–Parâmetros do controlador PI obtidos pelos dois métodos utilizados:	84
Tabela 5.9 – Parâmetros utilizados na simulação do cultivo aeróbio de <i>S. clavuligerus</i>	86

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	OBJETIVOS	16
	2.1. Objetivo geral	16
	2.2. Objetivos específicos	16
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
	3.1. Biorreatores	17
	3.1.1. Biorreatores convencionais tipo tanque agitado e aerado.....	17
	3.1.2. Biorreatores pneumáticos	18
	3.2. Parâmetros hidrodinâmicos	20
	3.2.1. Velocidade superficial do gás (U_{GR}).....	21
	3.2.2. Tempo de mistura (t_m) e circulação (t_c)	22
	3.2.3. Retenção gasosa (ϵ)	23
	3.2.4. Velocidade superficial (U_L) e velocidade linear de líquido (V_L).....	25
	3.3. Oxigênio em bioprocessos	28
	3.3.1. Respiração microbiana-Demanda de oxigênio	29
	3.3.2. Transferência de Oxigênio	32
	3.4. Aquisição de Dados.....	37
	3.4.1. Entrada Analógica e Dispositivos Daq.....	37
	3.5. Fundamentos de controle	38
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	47
	4.1. Materiais.....	47
	4.1.1. Equipamentos e dispositivos utilizados na instrumentação eletrônica do biorreator	47
	4.1.2. Sensor de temperatura	48
	4.1.3. Medidor de pH.....	48
	4.1.4. Medidor de pressão	49
	4.1.5. Eletrodo/Analisador de oxigênio dissolvido	49
	4.1.6. Biorreator Airlift de Cilindros Concêntricos	49
	4.1.7. Fluidos.....	51
	4.2. Métodos	51
	4.2.1. Determinação do tempo de mistura (t_m) e tempo de circulação (t_c).....	51
	4.2.2. Retenção gasosa (ϵ)	52
	4.2.3. Velocidade superficial (U_L) e linear da fase líquida (V_L)	52

4.2.4.	Coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{La}).....	52
4.2.5.	Modelagem da planta e síntese do controlador.....	53
4.2.6.	Modelagem e simulação do cultivo aeróbio de <i>S. clavuligerus</i>	56
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
5.1.	Equações de calibração da instrumentação eletrônica.....	59
5.2.	Sistema Supervisório	63
5.3.	Validação do sistema de aquisição de dados.....	69
5.4.	Modelagem da planta e síntese do controlador	79
5.5.	Estratégias de controle da concentração de oxigênio dissolvido durante um cultivo simulado de <i>S. clavuligerus</i>	84
6.	CONCLUSÕES	94
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96
7.	ANEXOS	102

1. Introdução

Das várias etapas envolvidas nos processos bioquímicos, a fermentação é a etapa responsável pela conversão da matéria-prima em bioproduto, utilizando alguma espécie biológica como agente transformador (SCHMIDELL, 2001). Apesar de o processo de fermentação ser uma técnica milenar, a utilização em escala industrial iniciou no período pós-guerra nas décadas de 40 a 50 devido, sobretudo a utilização pelas áreas: farmacêutica e alimentícia (SCHMIDELL, 2001).

Os equipamentos utilizados na etapa de fermentação, denominados biorreatores, são equipamentos que oferecem condições ambientais e nutritivas adequadas para que a atividade biológica seja ótima, gerando assim, em maior quantidade, os produtos de interesse (SCHMIDELL, 2001).

Inúmeras concepções de biorreatores são descritas na literatura, sendo que na aplicação industrial o modelo convencional, tipo tanque agitado e aerado, é dominante em 93% das aplicações (CERRI, 2009). Com relação aos modelos não convencionais, os pneumáticos como, o de “coluna de bolhas” e “airlift” são os mais aplicados (THOMASI, 2010).

Nos biorreatores pneumáticos o escoamento e a mistura do meio reacional são promovidos exclusivamente pela injeção de gás aliadas às geometrias do modelo (CHISTI, 1989). Embora sejam equipamentos mais simples, o uso industrial ainda é restrito, aumentando à medida que novos processos biotecnológicos são explorados (GAVRILESCU et al., 1998; SRIVASTAVA; KUNDU, 1999; MIURA et al., 2003; LIU et al., 2006).

Para operar nas condições ambientais de agitação e mistura, uma série de parâmetros devem ser avaliadas durante a fase de projeto e construção desses equipamentos. Parâmetros, ditos de desempenho, utilizados para avaliação da faixa operacional desses equipamentos são baseados no tempo de circulação (t_c), tempo de mistura (t_m), a retenção gasosa global (ϵ_G) e no coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$). A avaliação desses parâmetros permite dimensionar a real capacidade do sistema, no que se refere a condições hidrodinâmicas e de transferência de massa frente a condições operacionais impostas, bem como obter subsídios para o escalonamento do processo (CERRI, 2009).

Em geral, quanto mais informações referentes ao processo fermentativo forem adquiridas, melhor será seu resultado (VELOSO, 2006), pois, para aplicar metodologias de controle automático é necessário de saber o estado das variáveis de processo. No caso do presente trabalho a instrumentação eletrônica auxiliará no controle da

concentração do oxigênio e ainda possibilitará manipular a vazão volumétrica de alimentação do gás no biorreator.

Durante um bioprocesso em batelada, as concentrações de biomassa e de substâncias produzidas pelo organismo cultivado variam ao longo do tempo. Esses fatores alteram as propriedades reológicas do caldo, afetando as transferências massa, calor e quantidade de movimento em sistemas pneumáticos (CHISTI, 1989; CERRI, 2009; THOMASI, 2010).

O acompanhamento de bioprocessos é frequentemente realizado a partir de medições e de análises periódicas de amostras coletadas (“off-line”) ao longo dos mesmos. No entanto, em alguns casos as medições podem ser realizadas em tempo real (“on-line”). Nesses casos, os dados são adquiridos a partir dos dispositivos de medição, como sensores ou eletrodos, acoplados a analisadores de sinais.

Há ainda outras classes de variáveis, as quais não podem ser medidas diretamente, sendo suas intensidades conhecidas somente através da utilização de outras informações adicionais acerca do modelo do processo (SOUSA, 1999).

Criado em 1989, o Grupo de Pesquisa de Engenharia dos Processos Biológicos apresenta como uma de suas linhas de pesquisa “Biorreatores Microbiológicos como Operação Unitária”, que visa examinar, analisar, projetar e otimizar biorreatores levando em consideração a capacidade de mistura e a eficiência em termos de transporte de quantidade de movimento, calor e massa. Inicialmente foram construídas três escalas de biorreatores “airlift” de cilindros concêntricos de 2, 5 e 10 L, analisados quanto à hidrodinâmica, transferência de oxigênio e condições de cisalhamento. As pesquisas desenvolvidas com os biorreatores airlift de cilindros concêntricos geraram vários trabalhos publicados em anais de congressos nacionais e internacionais e em periódicos e o depósito de dois pedidos de patente (Badino et al., 2006 e 2007), sendo que a patente intitulada “Sistema reacional pneumático e uso do mesmo” foi licenciada em 2007 pela empresa Tecnal, Equipamentos para Laboratórios Ltda. (Piracicaba - SP), tendo sido comercializadas várias unidades do equipamento. O sistema tem geometria cilíndrica e não apresenta partes móveis como agitadores com eixo e impelidores. Trata-se de um sistema reacional múltiplo e versátil que comporta numa mesma estrutura três modelos de biorreatores, quais sejam, “coluna de bolhas”, “airlift de cilindros concêntricos” e “airlift *split-cylinder*” (CERRI, 2009).

Durante o desenvolvimento desses equipamentos notou-se a carência de um sistema de aquisição, monitoramento e tratamento dados que pudesse viabilizar a implementação de metodologias para avaliação dos critérios de avaliação de desempenho hidrodinâmicos mais comuns como tempo de circulação (t_c), tempo de mistura (t_m), retenção

gasosa global (ϵ_G) e coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) em diferentes condições de operação.

Em 1998 teve início na Área de Engenharia Bioquímica do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos pesquisas relacionadas com produção de ácido clavulânico (AC), um forte inibidor das enzimas β -lactamases produzidas por bactérias patogênicas que lhes conferem resistência a antibióticos β -lactâmicos como a penicilinas e cefalosporinas. O ácido clavulânico é obtido a partir de cultivos submersos da bactéria filamentosa *Streptomyces clavuligerus* em biorreatores convencionais e não convencionais.

Trabalhos como os de Baptista-Neto et al. (2000), Cerri (2005), Rosa et al. (2005) e Thomasi (2010) exploraram as influências das condições operacionais e nutricionais na produção de ácido clavulânico a partir da fermentação do microrganismo *Streptomyces clavuligerus*.

Pesquisas realizadas em biorreator convencional mostraram importância do cisalhamento e da concentração de oxigênio dissolvido na produção de AC em biorreator convencional de bancada (ROSA et al., 2005). No entanto, não se tem relatos de trabalhos do gênero investigando a influência da concentração de oxigênio dissolvido (OD) na produção de AC em cultivos utilizando biorreatores não convencionais. O controle da concentração de OD pode ser realizado a partir de variações da vazão de alimentação de ar e/ou por enriquecimento da corrente de entrada com oxigênio puro, o que demanda um sistema específico de aquisição e de controle das variáveis operacionais.

Com base no relato anterior, é evidente que dispor de um sistema de aquisição de dados que possibilite monitorar e controlar variáveis do processo pode auxiliar no desenvolvimento de biorreatores, possibilitando uma forma rápida para analisar os critérios de desempenho e estudar o desempenho de sistemas de controle para uma variável operacional, como a concentração de oxigênio dissolvido.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

O presente trabalho teve como objetivo principal a instrumentação eletrônica para a aquisição de dados de biorreator airlift de cilindros concêntricos de 5 L de volume útil disponível no Laboratório de Engenharia Bioquímica do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos (LEB/DEQ/UFSCar), bem como a elaboração de um software para aquisição de dados de processo e controle da concentração de oxigênio dissolvido em cultivos aeróbios através da vazão de alimentação da corrente gasosa de entrada e da composição do gás de alimentação.

2.2. Objetivos específicos

- a partir do sistema de aquisição desenvolvido e do software proposto, obter medidas de variáveis de processo como concentração de oxigênio dissolvido, pH, pressão e temperatura e avaliar critérios desempenho do equipamento como tempos de circulação (t_c) e de mistura (t_m); velocidades superficiais médias nas regiões de subida (U_{Lm}) e de descida (U_{LD}); velocidades lineares nas regiões de subida (V_{LR}) e de descida (V_{LD}); retenções gasosas global (ε_G) e nas regiões de subida (ε_R) e de descida (ε_D) e coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La).
- desenvolver a malha de controle automático para a concentração de oxigênio dissolvido e simular cultivos de *Streptomyces clavuligerus* para avaliar o desempenho de duas estratégias de controle automático da concentração de oxigênio dissolvido, variando a vazão de alimentação e o enriquecimento do ar com oxigênio puro.

3. Revisão bibliográfica

3.1. Biorreatores

Biorreatores são equipamentos empregados na transformação da matéria-prima em produtos utilizando microrganismos, células animais, vegetais ou enzimas como biocatalisadores para produção de hormônios, antibióticos, enzimas entre outros produtos biotecnológicos obtidos via processos bioquímicos (ROSSI, 2006; THOMASI, 2010).

Os microrganismos e as células devem estar constantemente num ambiente adequado, na tentativa de promover condições ótimas de crescimento. O biorreator mantém esse processo natural controlando as condições adequadas para que as células cresçam e produzam seus metabolitos (CASSIANO, 2003).

A mistura e homogeneização dos componentes envolvidos são fundamentais no sucesso da fermentação, auxiliam a dispersão de sólidos insolúveis, a equalização da temperatura e nutrientes no interior do biorreator, bem como a transferência de substâncias para o interior das células. Em bioprocessos envolvendo microrganismos aeróbios o oxigênio frequentemente é o fator limitante no sucesso da fermentação (SCHMIDELL, 2001). A solubilidade do oxigênio em água é próxima a 9 mg.L^{-1} a $20 \text{ }^\circ\text{C}$, podendo esta quantidade ser 1.000 a 10.000 vezes menor que outras substâncias como a glicose. Ainda em condições de elevada concentração celular, essa quantidade de oxigênio pode ser consumida quase que instantaneamente (CERRI, 2009). Assim em cultivos aeróbios um eficiente sistema de transferência de massa deve ser utilizado para fornecer continuamente o oxigênio requerido no processo (THOMASI, 2010).

Com a expansão da biotecnologia, novos modelos de biorreatores estão sendo construídos para as mais diversas necessidades de produção (ROSSI, 2006). No entanto, na indústria mais de 93 % das aplicações ainda utiliza o modelo convencional tipo tanque agitado e aerado, sendo o restante os modelos pneumáticos como “coluna de bolhas” e “airlift”.

3.1.1. Biorreatores convencionais tipo tanque agitado e aerado

A utilização de biorreatores tipo tanque agitado e aerado iniciou-se em meados da década de 40 durante a II Guerra Mundial para produção penicilina (ROSSI, 2006). Este tipo de equipamento é projetado considerando as relações geométricas entre altura de líquido e diâmetro de tanque. São equipados com chicanas geralmente de quatro

hastes diametralmente opostas com o objetivo de reduzir vórtices produzidos durante a agitação do caldo (SCHMIDELL, 2001).

A agitação é realizada por impelidores instalados no eixo giratório acoplado em um motor elétrico e o sistema de aeração é instalado abaixo da região do impelidor para aumentar a transferência do oxigênio.

Entre os vários modelos de impelidores, o tipo turbina de pás planas (*flat blade-turbina*), conhecido como turbina de “*Rushton*”, e o tipo hélice marinha (*marine-propeller*) são os mais empregados. Com dimensões em torno de 1/3 do diâmetro do tanque (CASSIANO, 2003).

Entretanto raramente encontram-se sistemas que seguem essas relações geométricas de altura por diâmetro. Em geral observam-se tanques com altura maior que o diâmetro e turbinas com dimensões superiores além de aplicações com múltiplas turbinas. Tais procedimentos podem ser justificados pela necessidade de se obter maior homogeneização e melhor transferência de oxigênio (CAMPESI, 2007).

Em determinadas aplicações o grau de agitação requerido visando melhores transferências e homogeneização do caldo fermentado pode tornar-se o fator limitante de cultivos que envolvam microrganismos sensíveis ao cisalhamento. A força de cisalhamento produzida no contato impelidor-líquido, pode afetar irreversivelmente a morfologia ou até mesmo levar à perda de viabilidade celular da espécie envolvida (ROSSI, 2006; CERRI, 2009).

Outras implicações deste modelo de biorreator estão relacionadas à variação de escala, ao alto consumo de energia e ao complexo sistema de selo mecânico necessário para que este tipo de biorreator ofereça um ambiente seguramente asséptico (CERRI, 2009).

3.1.2. Biorreatores pneumáticos

Os biorreatores pneumáticos são caracterizados pela ausência do sistema de agitação mecânica. Neste modelo a mistura, a homogeneização e a transferências de massa, energia e quantidade de movimento são realizados exclusivamente pela injeção de gás no fundo do vaso (CHISTI, 1989).

Como nos modelos convencionais, os modelos pneumáticos também apresentam relações geométricas clássicas em sua construção. A relação altura/ diâmetro (H/D) resulta em equipamentos com formato de “torre”, favorecendo melhores condições de transferência de massa, energia e quantidade de movimento (LISS, 1983).

A velocidade de circulação do líquido depende da vazão de gás na entrada do sistema, das propriedades físicas do fluido, das fases envolvidas e das relações geométricas do sistema.

Blenke et al. (1979) realizaram ensaios para demonstrar a influência da relação das áreas de subida, "riser" (A_R) e de descida, "downcomer" (A_D) na velocidade de circulação do líquido, indicando que a menor resistência ao escoamento foi obtida quando a relação entre as áreas foi de 0,59. Em ensaios similares realizados por Chakravarty et al., (1974) utilizando duas fases também foram obtidos valores similares.

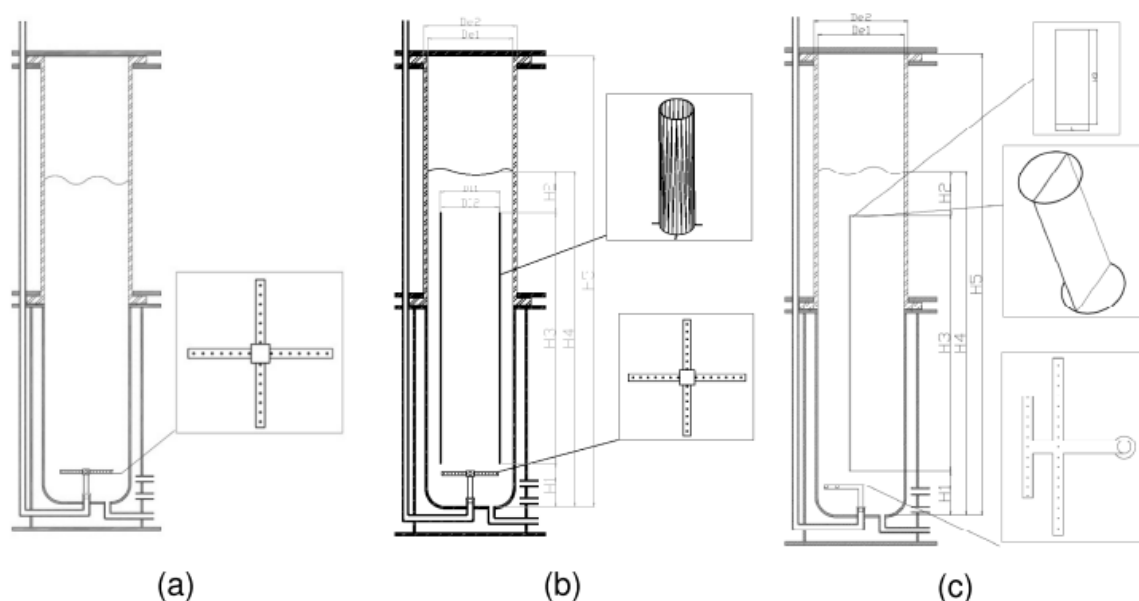
Em relação à transferência de oxigênio, Wang et al. (1971) determinaram que a melhor relação entre as áreas A_D/A_r foi em torno de 0,65, obtidos realizados ensaios em um fermentador de 500 L. Mencionaram também que variações entre a relação A_D/A_r de 0,59 a 0,75 não foram muito significativas. Liss (1983) conduziu experimentos em um biorreator airlift de cilindros concêntricos utilizando com relação de áreas igual a 0,8. Observou um decréscimo no tempo de mistura (t_m) e na configuração de circulação reversa otimizou a transferência de oxigênio.

Os biorreatores pneumáticos operam somente pela injeção de gás na fase líquida, sistema bifásico, ou em líquidos com sólidos insolúveis suspensos, sistemas trifásicos (SIEGEL, 1992). Nos modelos com circulação do fluido a força motriz origina-se da diferença de densidade do fluido em cada da região, possibilitando a circulação e homogeneização dos componentes envolvidos no caldo de fermentação. A velocidade do líquido aumenta com o aumento da altura devido à queda de pressão hidrostática e a redução do atrito devido à presença do gás, aumentando consequentemente a força motriz no líquido (LISS, 1983).

Os modelos de biorreatores pneumáticos são classificados pelo tipo de circulação induzida no volume líquido. O modelo coluna de bolhas diferencia-se do modelo airlift de circulação interna, pois, no primeiro caso a coluna de bolhas induz um fluxo aleatório, vórtices surgem devido à passagem da bolha de ar agitando o líquido e realizando a dispersão das substâncias na fase líquida. Nos modelos airlift com circulação a dispersão ocorre devido à circulação da fase líquida, no modelo de cilindros concêntricos, o fluido é dividido por um cilindro interno concêntrico ao externo, dividindo fluido em duas regiões, a ascendente (riser), também classificada por alguns autores como região de transporte, pois é nesta região que o aspersor é instalado e a região descendente (downcomer) ou região de recirculação. No modelo *split-cylinder* a separação das regiões é realizada por uma placa instalada assimetricamente no interior do cilindro externo (CHISTI, 1993). Ainda na linha de biorreatores pneumáticos tem-se o modelo airlift de circulação externa constituído por dois tubos paralelos de diferentes diâmetros interligados na base e no topo.

Na configuração coluna de bolha, a agitação e a homogeneização são realizadas via borbulhamento de gás. Neste caso o aspersor distribui uma coluna de bolhas que produz um movimento aleatório no líquido, reduzindo a tensão de cisalhamento do processo (THOMASI, 2010). Neste sistema a tensão de cisalhamento é baixa, parâmetro essencial para cultivos de alguns tipos de microrganismos (SHULER; KARGI, 1992). A Figura 3.1 ilustra os principais modelos de biorreatores pneumáticos.

Figura 3.1– Biorreatores airlift de circulação interna em diferentes configurações e aspersores: (a) coluna de bolhas ou tipo torre (b) airlift de cilindros concêntricos (b) e (c) airlift *split-cylinder*.



Fonte: Adaptado de Thomasi (2010).

É evidente que nos sistemas pneumáticos, a mistura, a homogeneização, a transferência de massa de calor e movimento são dependentes do escoamento do fluido. Para obter sucesso no processo de fermentação é necessário avaliar os critérios de desempenho hidrodinâmico frente às condições operacionais (CERRI, 2009).

3.2. Parâmetros hidrodinâmicos

Os parâmetros hidrodinâmicos são diretamente afetados pelas características geométricas do biorreator e pelo comportamento do fluido ao escoar. A relação entre a área de subida e descida, alturas das regiões de topo e de base, acabamento do fundo do vaso,

o nível do líquido e ainda o modelo do aspersor interferem no desempenho do sistema (CASSIANO, 2003).

3.2.1. Velocidade superficial do gás (U_{GR})

A velocidade superficial do gás na região de subida (U_{GR}) é definida pela razão entre vazão volumétrica de alimentação de gás (Q_{in}) e a área da seção transversal da região de subida (A_R), sendo a única variável de operação manipulável nos sistemas pneumáticos (CHISTI, 1989).

$$U_{GR} = \frac{Q_{in}}{A_R} \quad (3.1)$$

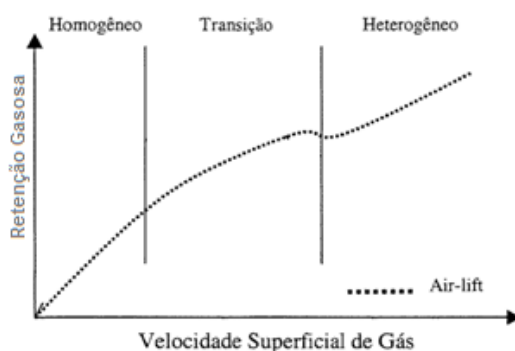
onde:

Q_{in} : vazão volumétrica do gás ($m^3 \cdot s^{-1}$)

A_R : área transversal da região de subida (m^2)

Altas velocidades de circulação proporcionam colisão, aderência e coalescência de bolhas, reduzindo a área interfacial gás-líquido e consequentemente diminui a transferência de massa da fase gasosa para fase líquida (SALES, 2002). A Figura 3.2 ilustra a mistura e a retenção gasosa em função da velocidade superficial do gás.

Figura 3.2–Taxa de aeração em função da velocidade superficial do gás e o regime de escoamento gás líquido.



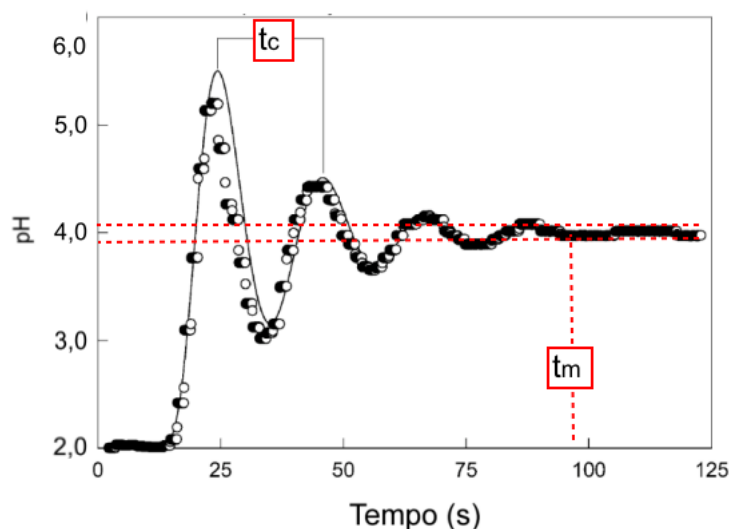
Fonte: Extraído de Sales (2002)

3.2.2. Tempo de mistura (t_m) e circulação (t_c)

O tempo de circulação (t_c) é definido pelo tempo necessário para que ocorra a circulação completa de um elemento de volume da fase líquida contida no interior do biorreator, sendo utilizado no cálculo da velocidade superficial do líquido (CHISTI, 1989).

O tempo de mistura (t_m) diferentemente do tempo de circulação é definido como o tempo necessário para homogeneizar uma substância no interior do biorreator. O t_m e o t_c são determinados através de ensaios do tipo pulso. Realiza-se uma perturbação numa variável monitorada e acompanha-se a variação da mesma até que a perturbação produzida estabilize. O t_m definido como o tempo necessário para que a variável atinja 95% do valor final enquanto que o t_c será o tempo decorrido entre dois picos adjacentes decorridos após perturbação. A Figura 3.3 apresenta um gráfico típico obtido durante um ensaio pulso de pH ilustrando como determinar os valores de t_c e t_m (CERRI, 2009).

Figura 3.3– Determinação dos tempos de mistura (t_m) e de circulação (t_c)



Fonte: Adaptado de Cerri (2009)

Cerri (2009) aplicou o método de pulso de pH para determinar valores de t_m e o método da esfera para obter o t_c . Para valores de U_{GR} próximos de $0,08 \text{ m.s}^{-1}$ os valores de t_c foram de 3 e de 13 s para t_m . Futiwaki et al. (2007) obtiveram valores de t_m utilizando os métodos de pulsos pH e térmico, Para valores de U_{GR} próximos a $0,08 \text{ m.s}^{-1}$, o valor de t_m pelo método de pH foi de 12 s enquanto pelo método de pulso térmico foi obtido um valor em torno de 8 s.

Choi et al. (1996) estudaram o desempenho hidrodinâmico de três biorreatores pneumáticos de secção transversal retangular com 114 L, sendo um modelo

coluna de bolhas (a), um airlift de cilindros concêntricos com fundo côncavo (b) e terceiro também modelo cilindros concêntricos com fundo convexo (c). Em ambos os modelos, a relação entre áreas A_D/A_R foi igual a 1. No modelo (b), para valores de U_{GR} próximos a $0,07 \text{ m.s}^{-1}$ o t_m variou entre 20 a 30 s.

Experimentos realizados a 28°C um sistema bifásico ar-água foram realizados por Gouveia et al. (2003) para explorar as influências da distância entre o fundo do vaso e o início do cilindro interno (H1) e da distância entre a extremidade superior do cilindro interno e o nível do líquido (H2) no tempo de mistura. Os, os autores obtiveram valores t_m inferiores a 12, para U_{GR} na faixa de $0,0425$ a $0,0450 \text{ m.s}^{-1}$ com $H1=0,045 \text{ m}$ e $H2=0,04 \text{ m}$.

Merchuk et al. (1997) estudaram as influências do tipo de aspensor no tempo de mistura, para um aspensor cilíndrico de $0,02 \text{ m}$ de diâmetro e $0,03 \text{ m}$ de altura com 30 orifícios de 1 mm de diâmetro e U_{GR} próximo a $0,08 \text{ m.s}^{-1}$, o, os autores obtiveram valores de t_m inferiores a 50 s.

3.2.3. Retenção gasosa (ϵ)

A retenção gasosa global (ϵ_G) é definida pelo volume da fase gasosa na mistura gás-líquido (dispersão) presente no biorreator, determina o tempo de residência do gás no líquido e em combinação com o diâmetro de bolha controla a área interfacial gás-líquido de troca de massa. A retenção gasosa global é dada de acordo com Equação 3.2:

$$\epsilon_G = \frac{V_G}{V_G + V_L} \quad (3.2)$$

onde:

V_G : volume gasoso (m^3)

V_L : volume líquido (m^3)

Nos modelos de biorreatores pneumáticos de recirculação (airlift) a Equação 3.2 pode ser reescrita relacionando as áreas de seções transversais de subida (A_R) e de descida (A_D) (CHISTI, 1989).

$$\varepsilon_G = \frac{A_R \varepsilon_R + A_D \varepsilon_D}{A_R + A_D} \quad (3.3)$$

onde:

A_R : área transversal da região de subida (m^2)

ε_R : retenção gasosa na região de subida (-)

A_D : área transversal da região de descida (m^2)

ε_D : retenção gasosa na região de descida (-)

O cálculo da retenção gasosa em cada região (ε_i) é realizado a partir da tomada de pressão (ΔP_i) entre dois pontos numa das regiões do biorreator (*riser* ou *downcomer*) espaçados por uma distância (d_i), as densidades do líquido (ρ_l) e do gás (ρ_g). Calcula-se a retenção gasosa parcial de acordo com Equação 3.4:

$$\varepsilon_i = \frac{\rho_l}{\rho_l - \rho_g} - \frac{\Delta P_i}{(\rho_l - \rho_g) * g * d_i} \quad (3.4)$$

onde:

ρ_l : densidade da fase líquida ($kg.m^{-3}$)

ρ_g : densidade da fase gasosa ($kg.m^{-3}$)

ΔP_i : diferença de pressão ($N.m^{-2}$)

g : aceleração da gravidade ($m.s^{-2}$)

d_i : distância de tomada de pressão (m)

Calcula-se também retenção gasosa global pela metodologia de expansão volumétrica. Esta metodologia baseia-se em medidas visuais da expansão do volume quando o sistema estiver sendo aerado. Medindo-se a variação do volume no estado sem aeração e com aeração determina-se a retenção gasosa global pela Equação 3.5:

$$\varepsilon_G = \frac{h_D - h_L}{h_D} \quad (3.5)$$

onde:

h_D : altura de líquido com sistema aerado ou altura da dispersão (m)

h_L : altura de líquido com sistema sem aeração (m)

Baseados nas duas metodologias, diferentes autores determinaram valores de retenção gasosa global (ε_G). Para U_{GR} na faixa de 0 a 0,08 m.s⁻¹ Cerri (2009) e Thomasi (2010) determinaram ε_G na faixa de 0 a 12%, Choi et al. (1996) determinaram valores entre 16 a 18% para U_{GR} próximo de 0,08 m.s⁻¹, enquanto o menor valor foi citado por Merchuk et al. (1997), de 8% na mesma faixa de U_{GR} , mas neste caso o sistema em estudo ar-água do mar. Blazej et al. (2004) obtiveram valores de ε_G em torno de 12% para U_{GR} próximo a 0,04 m.s⁻¹.

Os valores de ε_R e ε_D apresentados Shamlou et al. (1994) foram inferiores a 10% utilizando biorreator airlift cilindros concêntricos de 250 L com relação de áreas de descida e subida (A_D/A_R) de 0,83. Neste caso, as medidas foram realizadas durante a fermentação do microrganismo *Saccharomyces cerevisiae*.

Blazej et al. (2004) estudaram a influência da escala na velocidade de circulação de líquido e na retenção gasosa global (ε_G). Utilizaram três biorreatores airlift de cilindros concêntricos de 10,5; 32 e 200 L. Os ensaios foram conduzidos em sistema bifásico ar-água em temperaturas de 18 a 21°C. Variando U_{GR} na faixa de 0 a 0,03 (m.s⁻¹), os autores determinaram a retenção gasosa global (ε_G) na faixa de 0 a 12%.

3.2.4. Velocidade superficial (U_L) e velocidade linear de líquido (V_L)

A circulação do líquido ocorre devido às diferenças entre as retenções gasosas em cada região, influenciando os principais parâmetros hidrodinâmicos e de transferência de massa (CHISTI, 1989). A velocidade superficial de circulação média (U_{Lm}) é calculada pela Equação 3.6.

$$U_{Lm} = \frac{X_c}{t_c} \quad (3.6)$$

onde:

X_c : caminho percorrido por um elemento de volume (m)

t_c : tempo médio para uma volta completa do elemento de volume ou tempo de circulação (s)

As velocidades superficiais de líquido nas regiões de subida (U_{LR}) e de descida (U_{LD}) são relacionadas pela equação da continuidade descrita pela Equação 3.7 (CHISTI, 1989).

$$U_{LR} \cdot A_R = U_{LD} \cdot A_D \quad (3.7)$$

onde:

U_{LR} : velocidade superficial do líquido na região de subida ($m \cdot s^{-1}$)

A_R : área transversal da região de subida (m^2)

U_{LD} : velocidade superficial do líquido na região de descida ($m \cdot s^{-1}$)

A_D : área transversal da região de descida (m^2)

A velocidade linear média da fase líquida (V_{Lm}) é calculada a partir da Equação 3.8 (GOUVEIA et al., 2003):

$$V_{Lm} = \frac{1}{t_c} \cdot (2 \cdot H_3 + H_1 + H_2) \quad (3.8)$$

onde:

H_1 : distância entre a base da coluna até o início do tubo interno (m)

H_2 : distância entre a extremidade do tubo interno e o nível de líquido (m)

H_3 : comprimento do tubo interno (m)

t_c : tempo de circulação (s)

De acordo com Gouveia et al. (2003)), o tempo de circulação (t_c) é a soma dos tempos decorridos durante o escoamento do fluido nas regiões de subida e de descida de acordo com a Equação 3.9. O tempo gasto em cada região é função do comprimento médio e da velocidade linear de líquido. O tempo decorrido durante o escoamento na região de subida (t_R) é dado pela Equação 3.10 e o tempo decorrido durante o escoamento na região de descida (t_D) é dado pela Equação 3.11:

$$t_c = t_R + t_D \quad (3.9)$$

$$t_R = \frac{1}{V_{LR}} \left(H_3 + \frac{H_1}{2} + \frac{H_2}{2} \right) \quad (3.10)$$

$$t_D = \frac{1}{V_{LD}} \left(H_3 + \frac{H_1}{2} + \frac{H_2}{2} \right) \quad (3.11)$$

onde:

t_R : tempo de circulação na região de subida (s)

t_D : tempo de circulação na região de descida (s)

V_{LR} : velocidade linear do líquido na região de subida ($m.s^{-1}$)

V_{LD} : velocidade linear do líquido na região de descida ($m.s^{-1}$)

Como o líquido ocupa apenas parte do canal de escoamento, a velocidade linear (V_L) desconsidera o volume gasoso presente, de acordo com a Equação 3.12 calcula-se a velocidade linear de líquido na região de subida (V_{LR}) e a velocidade linear líquido na região de descida (V_{LD}) é calculada pela Equação 3.13 (CHISTI, 1989).

$$V_{LR} = \frac{U_{LR}}{1-\varepsilon_R} \quad (3.12)$$

onde ε_R é a retenção gasosa parcial na região de subida (-)

$$V_{LD} = \frac{U_{LD}}{1-\varepsilon_D} \quad (3.13)$$

onde ε_D é a retenção gasosa parcial na região de descida (-)

Gouveia et al., (2003) propuseram a Equação 3.14 para estimar velocidade linear média de líquido (V_{LM}).

$$V_{LM} = \frac{2.V_{LR}.V_{LD}}{V_{LR}+V_{LD}} \quad (3.14)$$

Sendo V_{LR} e V_{LD} , de acordo com Gouveia et al. (2003) pode calcular V_{LR} e V_{LD} . a partir das Equações 3.15 e 3.16:

$$V_{LR} = \frac{H_3+H_1+H_2}{t_C} \cdot \left(1 + \frac{A_D(1-\varepsilon_D)}{A_R(1-\varepsilon_R)} \right) \quad (3.15)$$

$$V_{LD} = \frac{H_3+H_1+H_2}{t_C} \cdot \left(1 + \frac{A_R(1-\varepsilon_R)}{A_D(1-\varepsilon_D)}\right) \quad (3.16)$$

Nos estudos realizados por Merchuk et al. (1997) para valores de U_{GR} próximos a $0,08 \text{ m.s}^{-1}$, valores V_{LR} atingiram patamares entre $0,3$ a $0,4 \text{ m.s}^{-1}$.

Para U_{GR} na faixa de $0,0425$ a $0,0450 \text{ (m.s}^{-1})$ Gouveia et al. (2003) obtiveram valores da velocidade média de circulação U_{Lm} entre $0,075$ a $0,08 \text{ (m.s}^{-1})$. Wongsuchoto (2003) avaliou a velocidade superficial de líquido nas regiões de subida (U_{LR}) e de descida (U_{LD}) utilizando um biorreator “airlift” de cilindros concêntricos variando a relação de áreas (A_D/A_R) entre $0,06$ e $1,54$. Para U_{GR} entre $0,07$ a $0,08 \text{ m.s}^{-1}$ no modelo ALC-4 ($A_D/A_R=1,54$) valores de U_{LR} foram entre $0,5$ e $0,6 \text{ m.s}^{-1}$, enquanto que a U_{LD} variou entre $0,25$ a $0,3 \text{ m.s}^{-1}$.

Nos estudos apresentados por Blazej et al. (2004), para U_{GR} na faixa de 0 a $0,03 \text{ m.s}^{-1}$, U_{Lm} variou entre 0 e $0,4 \text{ m.s}^{-1}$. Shamlou et al. (1994) obtiveram valores de U_{LR} entre $0,35$ a $0,4 \text{ m.s}^{-1}$ e de U_{LD} entre $0,3$ a $0,35 \text{ m.s}^{-1}$ para U_{GR} próximo a $0,08 \text{ m.s}^{-1}$.

3.3. Oxigênio em bioprocessos

Do ponto de vista bioquímico o oxigênio é o último elemento a aceitar elétrons ao final da cadeia respiratória, sendo então, reduzido a água. Permite a reoxidação das coenzimas que participam das reações de desidrogenização (ao longo da glicólise e do ciclo da respiração celular), possibilita o armazenamento de energia química através da transformação das moléculas de ADP (difosfato de adenosina) em ATP (trifosfato de adenosina), as quais participam das reações de síntese de moléculas, para sobrevivência das células e para o surgimento de novas células, no processo de proliferação da biomassa microbiana, para as quais é fundamental a introdução de energia (SCHMIDELL, 2001). Devido à baixa solubilidade apresentada em condições normais de cultivo, o oxigênio permanece em níveis inferiores 10 mg.L^{-1} e conseqüentemente deve ser alimentado continuamente, sendo considerado um nutriente como qualquer outro dissolvido no caldo de fermentação (BADINO, 1997).

3.3.1. Respiração microbiana-Demanda de oxigênio

De acordo com a literatura a velocidade de formação de células (r_x) é função da velocidade específica de crescimento μ_x e da concentração celular (C_x), assumindo um modelo de 1° ordem tem-se a Equação 3.17 (SCHMIDELL, 2001).

$$r_x = \mu_x \cdot C_x \quad (3.17)$$

onde:

μ_x : velocidade específica de crescimento celular (h^{-1})

C_x : concentração celular [$g.L^{-1}$]

r_x : velocidade de crescimento celular ($g.(L.h)^{-1}$)

Considerando a cinética de Monod a velocidade específica de crescimento celular (μ_x) é dada pela Equação 3.18 (SCHMIDELL, 2001).

$$\mu_x = \mu_{max} \cdot \frac{C_s}{K_s + C_s} \quad (3.18)$$

onde:

μ_{max} : máxima velocidade específica de crescimento celular (h^{-1})

K_s : constante de saturação do substrato limitante ($g.L^{-1}$)

C_s : concentração de substrato limitante ($g.L^{-1}$)

De acordo com o modelo de Monod a velocidade específica de crescimento celular é função de um substrato limitante. Pode-se então introduzir o termo de morte celular uma vez esgotado tal substrato, desencadeando a fase da morte celular, supondo um modelo de 1° ordem de acordo com a Equação 3.19 (SCHMIDELL, 2001).

$$r_d = -k_d \cdot C_x \quad (3.19)$$

onde:

k_d : velocidade específica de morte celular (h^{-1})

C_x : concentração celular ($g.L^{-1}$)

r_d : velocidade de morte celular ($g.(L.h)^{-1}$)

Portanto, considerando as hipóteses citadas acima, num cultivo em batelada a variação da concentração celular $\frac{dc_x}{dt}$ é dada pela Equação 3.20 (SCHMIDELL, 2001).

$$\frac{dc_x}{dt} = \mu_{max} \cdot \frac{C_s}{K_s + C_s} \cdot C_x - k_d \cdot C_x \quad (3.20)$$

Considerando um sistema sem transferência de oxigênio, o balanço de massa para o oxigênio é dado pela Equação 3.21 (SCHMIDELL, 2001).

$$Q_{O_2} = \frac{1}{C_x} \cdot \frac{dC_{O_2}}{dt} \quad (3.21)$$

onde:

Q_{O_2} : velocidade de respiração celular ($g_{O_2} \cdot (L \cdot h)^{-1}$)

C_x : concentração celular ($g \cdot L^{-1}$)

$\frac{dC_{O_2}}{dt}$: variação da concentração de oxigênio dissolvido ($g_{O_2} \cdot (L \cdot h)^{-1}$)

Considerando que o oxigênio é consumido como qualquer outro nutriente e assumindo que este elemento é o fator limitante para a atividade biológica pode-se descrever a velocidade específica de respiração (Q_{O_2}) por uma equação cinética similar à de Monod de acordo com a Equação 3.22 (SCHMIDELL, 2001).

$$Q_{O_2} = Q_{O_2}^{max} \cdot \frac{C_{O_2}}{K_0 + C_{O_2}} \quad (3.22)$$

onde:

$Q_{O_2}^{max}$: máxima velocidade específica de respiração (h^{-1})

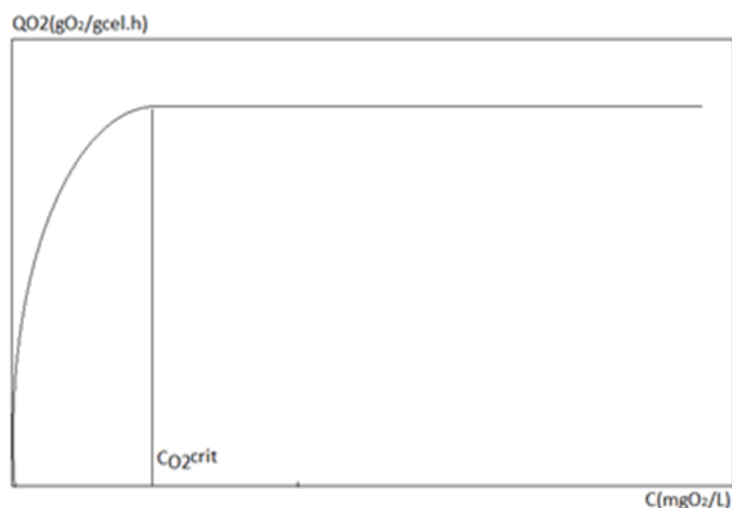
K_0 : constante de saturação para o oxigênio ($g_{O_2} \cdot L^{-1}$)

C_{O_2} : concentração de oxigênio dissolvido ($g_{O_2} \cdot L^{-1}$)

A Figura 3.4 ilustra a velocidade específica de respiração (Q_{O_2}) em função da concentração de oxigênio dissolvido (C_{O_2}) de acordo com a Equação 3.22. Observa que a partir de uma dada concentração de oxigênio dissolvido (C_{O_2}) a velocidade específica de respiração (Q_{O_2}) é constante e igual à máxima velocidade específica de respiração a ($Q_{O_2}^{max}$).

Abaixo desse valor, os baixos níveis de oxigênio dissolvido limitam as atividades metabólicas das células.

Figura 3.4– Representação esquemática da variação de Q_{O_2} com C_{O_2}



Fonte: Extraído de Schmidell (2001).

A Tabela 3.1 apresenta alguns valores da concentração crítica ($C_{O_2}^{crit}$) para alguns tipos de microrganismos.

Tabela 3.1– Concentração crítica de alguns microrganismos.

Microrganismo	Temperatura (°C)	$C_{O_2}^{crit}$ (mg.L ⁻¹)
<i>Escherichia coli</i>	37,8	0,26
<i>Serratia marcescens</i>	31,0	0,48
<i>Levedura</i>	34,8	0,15
<i>Penicillium chrysogenum</i> ,	24,0	0,70
	30,0	0,29
<i>Aspergillus oryzae</i>	30,0	0,64

Fonte: Adaptado de Schmidell (2001)

Em relação à demanda de oxigênio deve-se considerar que parte da quantidade consumida é utilizada para manutenção celular. Assumindo uma relação linear entre a velocidade específica de respiração (Q_{O_2}) e a velocidade específica de crescimento celular (μ) temos que (SCHMIDELL, 2001):

$$Q_{O_2} = m_o + \frac{1}{Y_{O_2/x}} \cdot \mu_x \quad (3.23)$$

onde:

m_o : coeficiente de manutenção para o O_2 ($g_{O_2} \cdot g_{cel}^{-1} \cdot h^{-1}$)

$Y_{O_2/x}$: fator de conversão de O_2 para células ($g_{O_2} \cdot g_{cel}^{-1}$)

μ_x : velocidade específica de crescimento celular (h^{-1})

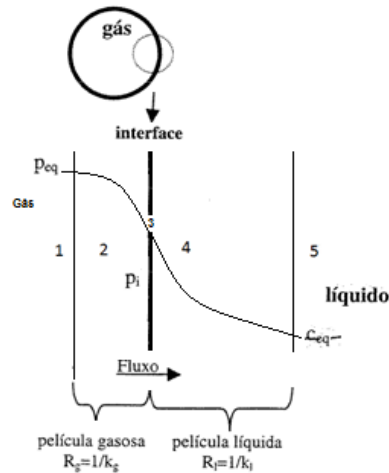
O coeficiente de manutenção (m_o) pode ser determinado em um cultivo descontínuo nos instantes iniciais do processo, quando a concentração celular ainda é baixa. Enquanto o consumo de oxigênio (Q_{O_2}) será máximo na fase exponencial, quando a velocidade de crescimento celular também for máxima ($\mu_{max} Cx$) (SCHMIDELL, 2001).

3.3.2. Transferência de Oxigênio

Em soluções aquosas a solubilidade do oxigênio diminui de acordo com a composição o que inclui sais dissolvidos. Diminui também com o aumento da temperatura, entretanto, aumenta com aumento da pressão parcial de oxigênio ou com aumento da pressão total. Na água, a 25°C e com 20,9% de oxigênio presente na corrente gasosa de alimentação a concentração de saturação é em torno de 8,1 ($mg_{O_2} \cdot L^{-1}$), enquanto que utilizando oxigênio puro na corrente de alimentação a concentração é em torno de 40,3 ($mg_{O_2} \cdot L^{-1}$) (SCHMIDELL, 2001).

A Figura 3.5 apresenta as resistências envolvidas no caminho da transferência de massa da fase gasosa para fase líquida, assumindo à existência de duas películas estagnadas.

Figura 3.5–Interface gás-líquido com as películas estagnadas



Fonte: Própria

Imaginando uma bolha de ar (1) imersa em meio líquido, supõe a existência de uma película estagnada gasosa (2) entre o seio gasoso (homogêneo com pressão parcial de O_2 constante) e a interface gás-líquido (3) e uma película estagnada de líquido entre a interface e o seio do líquido. Ou seja, há duas resistências a serem superadas pela molécula de O_2 durante este processo de transferência.

A transferência do oxigênio desde o seio gasoso até o líquido ocorre por convecção e depende da existência de gradientes de pressão parcial de O_2 película estagnada gasosa (p_{O_2eq}) e de concentração na película estagnada líquida (C_{O_2eq}) (SCHMIDELL, 2001).

Admitindo que o sistema esteja no estado estacionário em termos de transferência de oxigênio e a existência de um perfil da concentração de oxigênio no interior das películas tem-se que o fluxo de oxigênio por unidade de área interfacial é dado pela Equação 3.24:

$$n_{O_2} = \frac{\text{gradiente}}{\text{resistência}} \quad (3.24)$$

Sendo a resistência o inverso do coeficiente de transferência, logo:

$$n_{O_2} = k_g \cdot H(p_g - p_i) = k_L \cdot H(p_i - p_l) = k_g(C_{O_2s} - C_i) = k_L(C_i - C_{O_2}) \quad (3.25)$$

onde:

k_g : coeficiente convectivo de transferência de massa da película gasosa ($m \cdot h^{-1}$)

k_L : coeficiente convectivo de transferência de massa da película líquida ($m \cdot h^{-1}$)

p_g : pressão parcial de O_2 no seio gasoso (atm)

p_i : pressão parcial de O_2 na interface [atm]

p_i : pressão parcial de O_2 em um gás em equilíbrio com a concentração de oxigênio C no líquido, segundo a Lei de Henry (atm)

H : constante de Henry ($gO_2 \cdot m^{-3} \cdot atm^{-1}$)

C_{O_2S} : concentração de O_2 dissolvido no líquido em equilíbrio com p_g , segundo a Lei de Henry ($gO_2 \cdot m^{-3}$)

C_i : concentração de O_2 dissolvido na interface em equilíbrio com p_i ($gO_2 \cdot m^{-3}$)

C_{O_2} : concentração de oxigênio no seio líquido [$gO_2 \cdot m^{-3}$]

Observa-se pela Equação 3.25 que há um gradiente de pressão parcial de O_2 ou uma diferença das concentrações assumindo a lei de Henry. Como é inviável conhecer os valores dessas variáveis na interface gás-líquido, trabalha-se com o coeficiente global de transferência de massa que correspondem à soma das resistências (K_g e K_L) à transferência de massa. Ainda pode-se desconsiderar a resistência do filme gasoso devido ao alto valor do coeficiente convectivo de transferência de massa da película gasosa (K_g), tendo em vista que a maior resistência é devido ao filme líquido (K_L) (BAILEY; OLLIS, 1986). Assumindo as considerações anteriores a Equação 3.25 pode ser reescrita como:

$$n_{O_2} = k_g \cdot H(p_g - p_i) = k_L(C_{O_2S} - C_{O_2}) \quad (3.26)$$

Sabendo que o fluxo do oxigênio é definido por unidade de área interfacial de troca de massa, sendo inviável quantificá-lo quando se tem um enorme número de bolhas suspensas em um líquido, define-se a área de acordo com a Equação 3.27:

$$a = \frac{\text{área interfacial de transferência de massa (m}^2\text{)}}{\text{volume total do líquido (m}^3\text{)}} \quad (3.27)$$

Dessa forma, pode-se escrever o fluxo por unidade de área:

$$n_{O_2} a = k_L a H(p_g - p_i) = k_L a (C_{O_2S} - C_{O_2}) \quad (3.28)$$

onde:

$n_{O_2} \cdot a = N_{O_2}$: velocidade de transferência de oxigênio ($gO_2 \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}$)

$k_L a$: coeficiente volumétrico de transferência de O_2 (h^{-1}).

Para avaliar a transferência de oxigênio da fase gasosa para fase líquida pode-se utilizar o método dinâmico apresentado por Dang et al. (1977) possibilitando estimar o valores de $k_L a$ em diferentes vazões de alimentação de gás.

O método dinâmico consiste em variar a porcentagem de oxigênio dissolvido dessorvendo o mesmo por borbulhamento com nitrogênio. Ao atingir o nível zero da porcentagem, altera-se o gás de alimentação (nitrogênio) por um gás que contenha uma parcela de oxigênio (ar atmosférico ou oxigênio puro). Registrando os dados de concentração de oxigênio dissolvido (OD) ao longo do tempo, obtém-se a curva de da variação do oxigênio ao longo do tempo.

O valor do $k_L a$ é estimado ajustando o modelo de transferência dado pela Equação 3.29 aos pontos experimentais de OD ao longo do tempo (CHISTI, 1989). Assumindo-se que a variação da concentração de OD ao longo do tempo lida no eletrodo é igual à velocidade de transferência de oxigênio, o balanço de massa para o OD leva á Equação 3.29.

$$\frac{dc_{O_2}}{dt} = k_L a (c_{O_2S} - c_{O_2}) \quad (3.29)$$

Integrando a Equação 3.29 na condição inicial de $C_{O_2}=C_o$ quando $t=t_o$, resulta na equação 3.30.

$$C_{O_2} = C_{O_2S} - (C_{O_2S} - C_o) e^{-k_L a (t-t_o)} \quad (3.30)$$

onde:

C_{O_2S} : concentração de O_2 dissolvido no liquido em equilíbrio com p_g , segundo a Lei de Henry ($gO_2.m^{-3}$)

C_o : concentração de O_2 dissolvido na interface em equilíbrio com p_i ($gO_2.m^{-3}$)

C_{O_2} : concentração de oxigênio no seio liquido ($gO_2.m^{-3}$)

Entretanto, o fato de se utilizar eletrodo com membrana para obter os pontos experimentais de transferência de oxigênio dissolvido, deve-se considerar o atraso da resposta do eletrodo. Aiba et al. (1973) propuseram um modelo matemático de primeira ordem com atraso de resposta dado pela Equação 3.31 com a finalidade de considerar atraso na estimativa do coeficiente volumétrico de transferência massa ($k_L a$).

$$\frac{dc_e}{dt} = k_e(C_{O_2S} - C_e) \quad (3.31)$$

onde:

C_{O_2S} : concentração real de oxigênio dissolvido (% da saturação ou g.L⁻¹)

C_e : concentração de oxigênio dissolvido medido (% da saturação ou g.L⁻¹)

k_e : constante de atraso do eletrodo (s⁻¹)

Integrando a Equação 3.31 na condição inicial de $C_e=C_0$ quando $t=t_0$, obtém a Equação 3.32,

$$C_e = C_{e0}e^{-k_e(t-t_0)} + C_{es}(1 - e^{-k_e(t-t_0)}) + \frac{k_e(C_{es}-c_0)}{k_e-k_La}(e^{-k_e(t-t_0)} - e^{-k_La(t-t_0)}) \quad (3.32)$$

onde:

C_{e0} : concentração de oxigênio dissolvido lido no eletrodo no tempo zero (% da saturação ou g.L⁻¹)

C_{es} : concentração de oxigênio dissolvido lido no sensor na saturação (% da saturação ou g.L⁻¹)

A constante de atraso do eletrodo (k_e) é determinada em um ensaio degrau. Equilibra-se o eletrodo em atmosfera de nitrogênio até atingir o valor zero de concentração de oxigênio, em sequência expõe-se o eletrodo em uma atmosfera que contenha uma parcela oxigênio (Ar atmosférico). A constante de atraso será o inverso do tempo necessário para a concentração de oxigênio atingir 63,2% do valor final.

Conhecendo a constante de atraso (k_e) e de posse dos pontos experimentais (C_e) em função do tempo estima-se o valor do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) ajustando o modelo dado pela Equação 3.32 aos pontos experimentais utilizando o método de mínimos quadrados não linear.

Durante cultivos aeróbios em biorreatores convencionais, o microrganismo consumirá o oxigênio dissolvido devido à respiração celular e, simultaneamente, o sistema de agitação e aeração transferirá oxigênio para fase líquida. Desta forma, a variação do oxigênio dissolvido pode ser descrita pela Equação 3.33:

$$\frac{dc_{O_2}}{dt} = k_La(C_{O_2S} - C_{O_2}) - Q_{O_2}Cx \quad (3.33)$$

A Equação 3.38 indica que a variação de oxigênio dissolvido é dada pela diferença entre as quantidades transferida (N_{O_2}) e consumida pela respiração celular ($Q_{O_2}Cx$).

Utilizando a modelagem apresentada para estimar o coeficiente volumétrico de transferência de massa (k_{La}), para U_{GR} próximo de 0,08 ($m.s^{-1}$) Cerri (2009) obteve um k_{La} próximo de 0,0058 s^{-1} , Thomasi (2010) estimou valores próximos a 0,0727 s^{-1} , Gouveia et al. (2003) obtiveram valores entre 0,06 a 0,07 s^{-1} e Choi et al. (1996) determinaram valores próximos a 0,06 s^{-1} para U_{GR} próximo de 0,07 $m.s^{-1}$.

3.4. Aquisição de Dados

Realizar aquisição de dados significa obter informações através de sensores e ou transdutores responsáveis por converter grandezas medidas em sinais elétricos analógicos ou digitais. O sistema de aquisição de dados CompactDAQ da National Instruments, em conjunto com o software LabView ocupam lugar de destaque, sendo referências na área de instrumentação e automação baseadas em PC. Trata-se de uma solução versátil para aplicações industriais, de pesquisa ou educacionais. Os sistemas CompactDAQ comunicam-se com um computador pessoal via USB, são projetados para trabalhar com entradas e saídas analógicas e digitais, disponibilizando outros recursos como comunicação serial e via internet.

A transferência de dados é organizada em intervalos de tempo definidos por frames com duração de 1ms para a interface USB operando em full-speed e 125 μs operando em high-speed permitindo a transferência simultânea e bidirecional de dados com taxas de até 3,5 milhões de amostras por segundo. São características vantajosas em relação a outros sistemas, devido à capacidade de uso conjunto de módulos de entrada analógica com diferentes resoluções, velocidades ou arquiteturas (CUNHA, 2008).

3.4.1. Entrada Analógica e Dispositivos Daq

Ao medir sinais analógicos com dispositivos DAQ, são considerados os seguintes fatores interferentes na qualidade do sinal digitalizado, modo, resolução, ganho, taxa de amostragem, precisão e ruído:

Modo: está relacionado ao tipo de medição diferencial ou referenciado ao neutro da rede;

Resolução: está relacionado ao número de bits que o dispositivo DAQ possui. Semelhante a escala de régua, ou seja, é a discretização da tensão da variável medida em porções de mesmo espaço;

Faixa: A faixa do dispositivo refere-se ao nível máximo e mínimo do sinal de entrada que o conversor digital pode digitalizar;

Ganho: Inclui qualquer amplificação ou atenuação de um sinal que possa ocorrer antes de ele ser digitalizado. A faixa de resolução e o ganho disponível em um dispositivo DAQ determinam a menor alteração detectável na tensão medida. Essa alteração na tensão representa o bit menos significativo de valor digital. A menor alteração detectável é calculada da seguinte forma:

Considerando um conversor analógico-digital com 12 bits, tem-se 4096 níveis de digitalização, isso significa que de acordo com a Equação 3.34 para uma sinal elétrico na ordem de 0 a 10 (Vdc) cada nível (V_{Dec}) representa $24,41 \cdot 10^{-3}$ (Vdc).

$$V_{Dec} = \frac{\text{Faixa tensão}}{\text{ganho} * 2^{\text{resolução placa}}} \quad (3.34)$$

Exemplo:

$$V_{Dec} \frac{\text{faixa}}{\text{ganho} \times 2^{\text{resolução}}} = \frac{10}{1 \times 2^{12}} 0,0024 \text{ V}$$

3.5. Fundamentos de controle

Diferentes métodos de análise e projetos controladores foram desenvolvidos ao longo dos anos. O método resposta em frequência e o lugar das raízes foram introduzidos na década de 1940, sendo o cerne da teoria de controle clássico aplicados em sistemas de uma entrada e uma saída, sistemas SISO (single input single output). A análise de sistemas no domínio do tempo descrito na forma de variáveis de estados foi desenvolvida posteriormente na década de 1960, tratando sistemas multivariados (OGATA, 2007). Na década de 1980, a teoria de controle centralizou o controle robusto, combinando abordagens de análise e projeto no domínio do tempo e na frequência (OLIVEIRA et al., 2005).

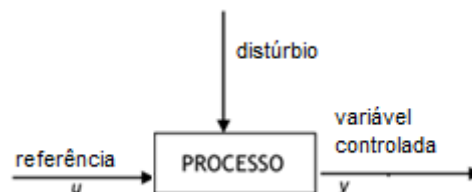
Define-se a variável controlada como a grandeza ou condição medida, enquanto a variável manipulada é a grandeza ou condição que interfere no estado da variável controlada (OGATA, 2007). Consideram-se os sinais de distúrbios, as grandezas ou condições que influenciam no equilíbrio dinâmico de um sistema, podendo ser previstos ou

imprevistos durante a etapa de desenvolvimento do controlador. No caso do presente trabalho, a variável manipulada foi a concentração de oxigênio dissolvido, a variável controlada é a vazão volumétrica do gás de alimentação e foram considerados distúrbios previstos a variação da concentração de oxigênio devido consumo durante a respiração celular, enquanto, os distúrbios imprevistos foram relacionados ao fato que a transferência de oxigênio reduz em função de variações ocorridas nas propriedades reológicas da fase líquida.

Essencialmente, nos projetos de sistemas de controle, as etapas de modelagem do sistema, análise de desempenho e síntese do controlador é realizada visando estabelecer e atender alguns índices de desempenho de interesse (OGATA, 2007).

A Figura 3.6 ilustra o diagrama em blocos de um projeto em malha aberta, inserindo um malha de controle feedback a representação sistema com o controlador e será de acordo com a Figura 3.7 Nos sistemas com malha fechada a ação de controle é realizada em função do sinal de erro, gerado a partir da diferença entre a referência e a resposta do sistema.

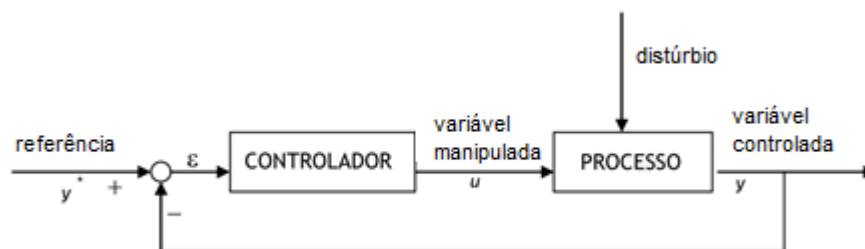
Figura 3.6– Diagrama de blocos de sistema de controle em malha aberta



Fonte: Adaptado de Veloso (2006)

Na Figura 3.9 nota-se realimentação de malha e conseqüentemente a geração do sinal de erro, utilizado na ação de controle.

Figura 3.7– Diagrama de blocos de sistema de controle em malha fechada feedback (realimentação negativa).



Fonte: Adaptado de Veloso (2006)

A faixa de frequências às quais o sistema responde satisfatoriamente é maior em sistemas em malha fechada, pois a velocidade de resposta pode ser ajustada através dos ganhos do controlador. Entretanto, sistemas em malha fechada tem maior tendência a oscilações e a instabilidade, além disso, um sistema estável em malha aberta pode ser instável em malha fechada (OGATA, 2007). A estabilidade absoluta classifica o sistema em estável ou instável, enquanto a estabilidade relativa é relacionada com a resposta no período transitório e com o erro em regime estacionário caracterizando a precisão do sistema.

Os sinais apresentados na Figura 3.8 são sinais de entrada padrão, esses tipos de entradas são utilizados para avaliar o comportamento dinâmico do sistema em estudo, sendo sua escolha baseada no tipo de perturbação que tipicamente serão aplicados ao sistema em estudo, pois, uma vez que um controlador seja projetado baseado nesse sinal melhor será o desempenho do sistema diante as entradas reais (OGATA, 2007).

Figura 3.8– Características de desempenho em sistemas de controle no domínio do tempo.

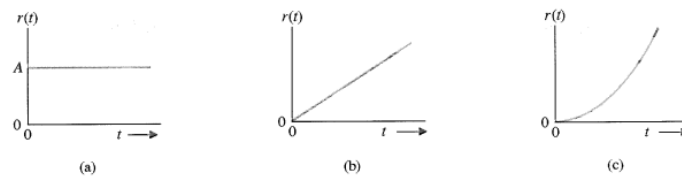


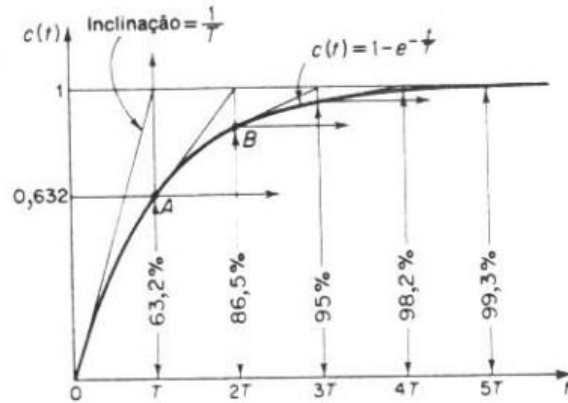
TABELA 5.1 Sinais de Entrada para Teste

Sinal de Teste	$r(t)$	$R(s)$
Degrau	$r(t) = A, t > 0$ $= 0, t < 0$	$R(s) = A/s$
Rampa	$r(t) = At, t > 0$ $= 0, t < 0$	$R(s) = A/s^2$
Parábola	$r(t) = At^2, t > 0$ $= 0, t < 0$	$R(s) = 2A/s^3$

Fonte: Extraído de Ogata (2007)

Aplicando uma entrada do tipo degrau em um sistema de primeira ordem cuja transformada de Laplace é dada pela Equação 3.35, a resposta diante a perturbação será do tipo apresentado na Figura 3.9.

Figura 3.9– Resposta dinâmica de sistema de primeira ordem.



Fonte: Extraído de Ogata (2007)

$$G(s) = \frac{k}{\tau s + 1} \quad (3.35)$$

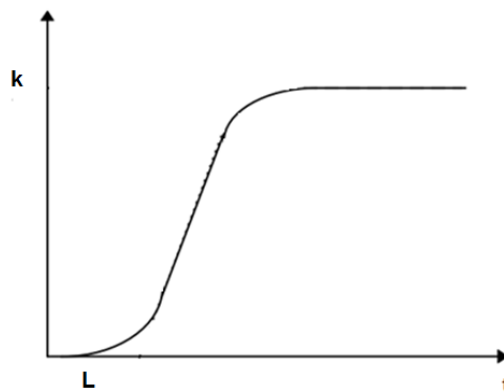
Onde:

k: ganho estático

τ : constante de tempo

Em sistemas com atraso de transporte caracterizados como sistemas com tempo morto a equação característica desse tipo de sistema é apresentada pela transformada de Laplace na Equação 3.36, a resposta dinâmica diante de uma perturbação é apresentada na Figura 3.10.

Figura 3.10– Resposta dinâmica de sistema de primeira ordem com tempo morto.



Fonte: Extraído de Ogata (2007)

$$G(s) = \frac{k.e^{-L.s}}{\tau S+1} \quad (3.36)$$

Onde:

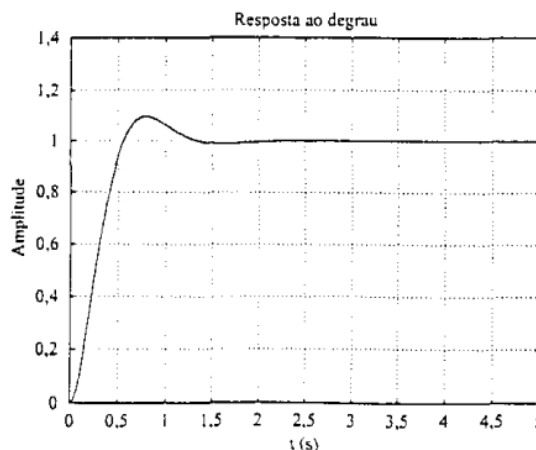
k: ganho estático

τ : constante de tempo

L: tempo de atraso

Para sistemas de 2° ordem representados pela equação característica de acordo com a Equação 3.37 sua a resposta dinâmica será do tipo da Figura 3.11 (DORF, 2000).

Figura 3.11– Resposta dinâmica de sistema de segunda ordem.



Fonte: Extraído de Ogata (2007)

$$G(s) = \frac{\omega_n^2}{s^2 + 2\zeta\omega_n s + \omega_n^2} \quad (3.37)$$

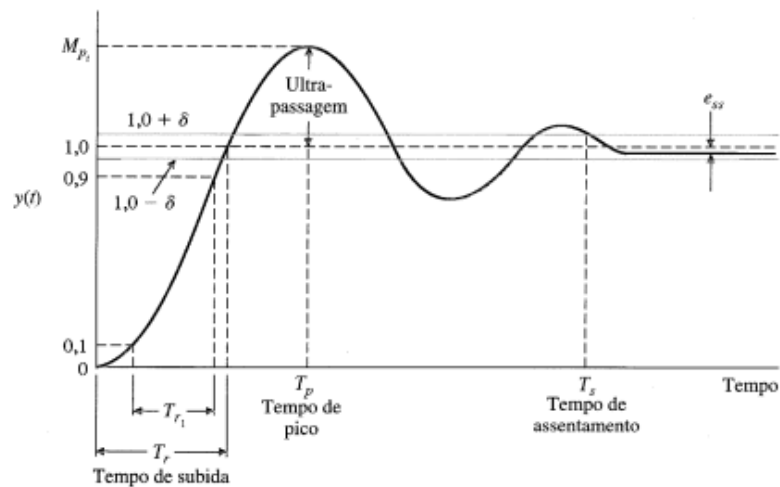
Onde:

ζ : coeficiente de amortecimento

ω_n : frequência natural

Os principais critérios de análise de desempenho para fins de controle de sistemas são apresentados na Figura 3.12, sendo MP o máximo de sobressinal, t_r o tempo de subida, t_p tempo de pico e t_s o tempo de assentamento ou tempo de acomodação, ou seja, o tempo requerido para resposta permaneça dentro de uma faixa de tolerância.

Figura 3.12– Resposta dinâmica de sistema de segunda ordem.

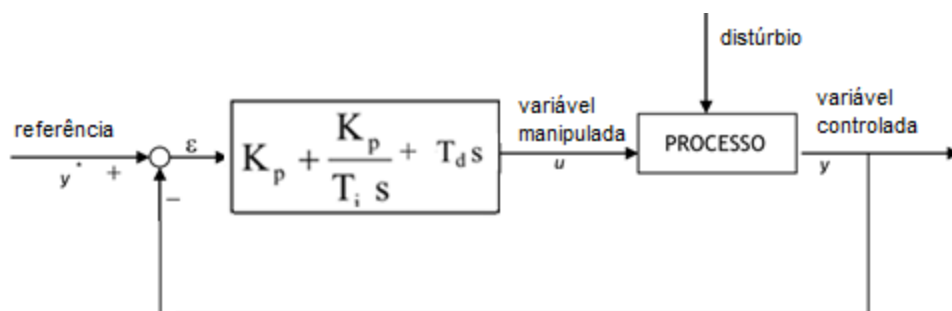


Fonte: Extraído de Ogata (2007)

As ações, proporcional (K_p) integral (T_i) e derivativo (T_D) possibilitam elaborar os controladores do tipo P, P.I, P.D e P.I.D. para diversas plantas lineares e invariantes no tempo de primeira ou segunda ordem contendo ou não tempo morto.

A função transferência no domínio da frequência de um controlador PID é dada pela Equação 3.38 enquanto no domínio do tempo dado pela Equação 3.39. A Figura 3.13 ilustra diagrama em blocos do sistema realimentado e com a equação característica de um controlador PID.

Figura 3.13– Controlador proporcional integral derivativo.



Fonte: Extraído de Dorf (2001)

$$\frac{U(s)}{E(s)} = k_p \left[1 + \frac{1}{T_i s} + T_D s \right] \quad (3.38)$$

e o domínio do tempo, tem-se:

$$u(t) = k_p \left[e(t) + \frac{1}{T_I} \int_0^t e(t) dt + T_D \frac{de(t)}{dt} \right] \quad (3.39)$$

A parcela proporcional (K_p) fornece a resposta imediata em relação ao sinal de erro consistindo em uma malha de ganho ajustável. Esta ação de controle é utilizada quando a planta apresenta um erro residual devido a alterações da carga. Aumentando o ganho proporcional (k_p) aumenta-se o sobressinal (MP%), tornando a resposta mais rápida e em alguns casos pode-se levar o sistema à instabilidade.

A componente integral (T_I) insere um polo na origem da função transferência do controlador, eliminando o erro estacionário de posição, isto porque a saída do integrador só fornece um sinal constante se sua entrada for nula. A ação é independente do sistema que pretende controlar, entretanto ao inserir o polo na origem interfere-se na estabilidade do sistema, sendo necessário refinar o ajuste do ganho proporcional (K_p). Esta ação de controle é aplicada em sistemas que apresentam oscilações lentas na carga.

Finalmente, a componente derivativa (T_D) efetua a ação em função da taxa de variação do erro. A Tabela 3.2 apresenta a influência dos parâmetros de um controlador nos critérios de desempenho de máximo sobressinal (MP%) e tempo de estabelecimento.

Tabela 3.2– Influência dos parâmetros do controlador no critério de tempo de subida e do máximo sobressinal.

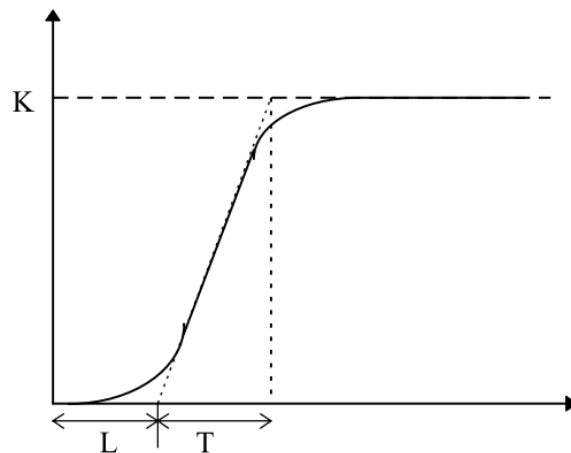
Ação (incremento)	Tempo de subida	sobressinal
K_p	Aumenta	Aumenta
T_d	Reduz	Reduz
$1/T_i$	Aumenta	Aumenta

Fonte: Adaptado Jantzen (2007)

Desconsiderando a possibilidade de projetar um controlador PID a partir da modelagem analítica da planta, é possível obter os parâmetros de um controlador PID utilizando as regras de sintonia proposta por Ziegler-Nichols (OGATA, 2007). Os resultados obtidos pelo método de ajuste Ziegler-Nichols é um ponto de partida para refinar os parâmetros do controlador (OGATA, 2007).

A determinação dos parâmetros é realizada a partir da resposta do sistema a uma entrada degrau. Se o sistema não possuir integradores e nem polos complexos conjugados dominantes, então essa curva de resposta terá um aspecto sigmoidal, ou seja, terá um formato de S de acordo com a Figura 3.14 (OGATA, 2007).

Figura 3.14: Esquema de ajuste do controlador PID pelo método de curva de resposta



Fonte: Extraído de Ogata (2007)

A curva de resposta é caracterizada por duas constantes, o atraso L e a constante de tempo T . Essas constantes são determinadas de acordo com a Figura 22, ou seja, traçando-se uma linha tangente no ponto de inflexão da curva sigmoideal. A Função transferência pode ser aproximada com um sistema de primeira ordem com atraso dado pela Equação 3.40.

$$\frac{U(s)}{E(s)} = \frac{ke^{-LS}}{Ts+1} \quad (3.40)$$

A escolha dos parâmetros do controlador é obtida a partir da tabela 3.3.

Tabela 3.3: Aproximação dos parâmetros do controlador PID proposto por Ziegler-Nichols.

Controlador	K_p	T_i	T_d
P	$T.L^{-1}$	∞	0
PI	$0,9. T.L^{-1}$	$L.0,3^{-1}$	0
PID	$1,2. T.L^{-1}$	$2.L$	$0,5.L$

Fonte: Extraído de Ogata (2007)

Reis (2009) estudou diferentes tipos de controladores para controlar o coeficiente respiratório RQ em função da velocidade de consumo de substrato. Devido ao tipo do sistema, os melhores resultados foram obtidos utilizando controladores fuzzy. Em relação ao controle PID, o autor relatou que melhores resultados foram obtidos utilizando apenas um controlador proporcional.

Fonseca (2012) utilizou um controlador PI para controlar a umidade relativa do ar na entrada de um processo de fermentação em estado sólido. Neste trabalho, a escolha dos parâmetros do controlador foi realizada utilizando regras de ajuste manual, ajuste pelo método de Ziegler-Nichols e ajuste dos parâmetros do controlador através da metodologia LMI. Os resultados apresentados pelo método de LMI possibilitaram projetar um controlador robusto respeitando os índices de desempenho, como tempo de acomodação (t_s) e máximo sobressinal (MP%). Os resultados apresentados pelo ajuste utilizando o método de Ziegler-Nichols apresentaram melhores índices de tempo de acomodação, entretanto maiores valores de sobressinal.

Velozo (2006) implementou a lei de controle adaptativo do tipo antecipação/retroação sendo a retroação realizada por um controlador do tipo PI. Diferentes métodos de ajustes dos parâmetros foram avaliados, sendo o método sintonização automático e continua aquele que apresentou o melhor desempenho no controle da taxa de crescimento específica da bactéria *E. Coli*.

Melo (2005) utilizou a instrumentação eletrônica para monitorar e controlar o processo de secagem de madeira. Utilizando um sistema comercial, e realizando algumas modificações no arranjo de sensores, atuadores e elementos controladores visando manipular a temperatura e a umidade relativa no interior da estufa. Para o sistema supervisorio, utilizado foi o modelo comercial, registrado como SCADA e comercializado pela empresa Eclipse Software, A função transferência do sistema foi obtida a partir das respostas do sistema diante a uma perturbação degrau. Sendo estudado o desempenho de um controlador P.I, e posteriormente um controlador P, devido as respostas do primeiro controlador não terem sido satisfatórias.

Melo (2008) estudou o controle térmico e estequiométrico de um secador vertical ciclo continuo para revestimentos cerâmicos, foi implementando um controlador PID, cujos parâmetros foram obtidos utilizando o toolbox Simulink Response Optimization disponível no software Matlab.

Fernandes (2009) aplicou um controlador PI cujo objetivo foi controlar o nível da interface de separação em misturador-decantador por inversão de fases. Os parâmetros do controlador foram obtidos utilizando regra de síntese direta.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

4.1.1. Equipamentos e dispositivos utilizados na instrumentação eletrônica do biorreator

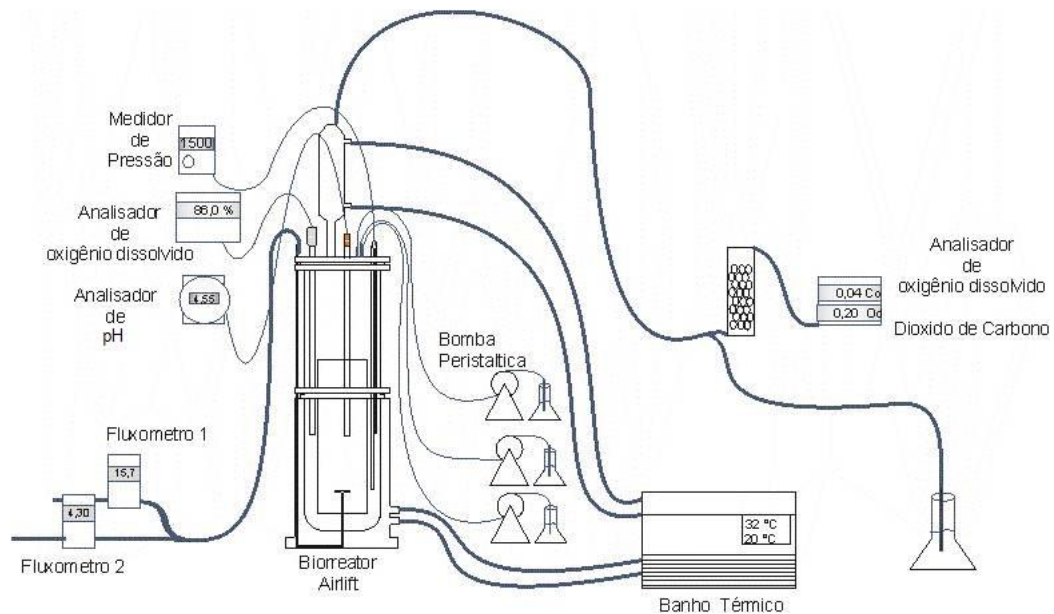
Os dados enviados pelos equipamentos instalados no biorreator foram coletados por duas placas CompactDAQ modelo NI-6008 da *National Instruments*. Esse modelo possui 12 bits de resolução e conexão USB. Os canais foram configurados na forma diferencial para reduzir influências de ruídos induzidos pelo ambiente e as placas foram conectadas a um notebook. Os equipamentos periféricos utilizados para instrumentar o biorreator estão descritos na Tabela 4.1 e a Figura 4.1 ilustra o sistema completo

Tabela 4.1– Equipamentos utilizados para monitorar e controlar as variáveis do processo

Fabricante	Medida	Sinal de saída	Grandeza física	Relação de grandezas
Cole Parmer	Fluxômetro de massa	0-5 (Vdc)	0-20 (L.min ⁻¹)	4,0 (L.Vdc ⁻¹)
Alborg	Fluxômetro de massa	0-5 (Vdc)	0-5 (L.min ⁻¹)	1,0 (L.Vdc ⁻¹)
TH-41	pHmetro	1-5 (Vdc)	0-14 pH	3,5 (pH .Vdc ⁻¹)
Metter Toledo 4500	Concentração de oxigênio dissolvido	1-5 (Vdc)	0-100 (%)	25 (od%.Vdc ⁻¹)
T&S SC990	ΔPressão	1-5 (Vdc)	0-200 (cmH ₂ O)	50 (cmH ₂ O. Vdc ⁻¹)
Ntc	Temperatura	125-140 (mVdc)	0-80 °C	5,3 (°C. mVdc ⁻¹)
NI 6008	Placa de aquisição de dados	USB	10 bits 10ks/s	1,2.10 ⁻³ (Vdc.divisão ⁻¹)

Fonte: Próprio

Figura 4.1 – Sensores e atuadores instalados na planta em estudo.



Fonte: Próprio

4.1.2. Sensor de temperatura

Para monitorar a temperatura nas regiões de passagem do fluxo líquido do biorreator utilizou-se dois sensores de temperatura do tipo Pt-100 e elaborou-se uma fonte de corrente para cada sensor utilizando o CI LM334, configurando a fonte de modo a fornecer uma saída de em tensão de 125 a 140 mVdc proporcional à faixa de temperatura de 0 a 40 °C.

4.1.3. Medidor de pH

O equipamento TH-41 foi utilizado para monitorar o nível de pH na região de descida do biorreator. O equipamento fornece uma saída de 1 a 5 Vdc proporcional a faixa de medição de pH de 0 a 14.

4.1.4. Medidor de pressão

O equipamento T&S CS-990 foi utilizado para medir a diferença de pressão em cada região do biorreator. O equipamento fornece uma saída de 1 a 1,5 Vdc proporcional à faixa de medição de 0 a 200 mmH₂O.

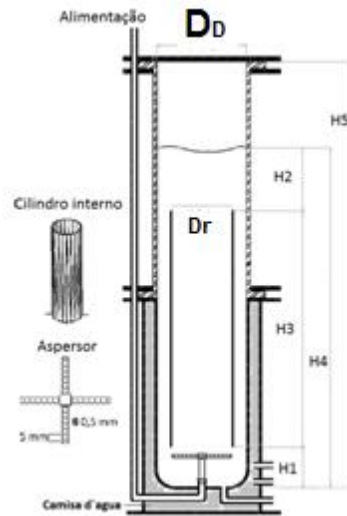
4.1.5. Eletrodo/Analizador de oxigênio dissolvido

O equipamento Mettler Toledo 4500 foi utilizado para medir a porcentagem de oxigênio dissolvido, sendo que o eletrodo foi instalado na região de descida. O equipamento fornece uma saída de 1 à 5 Vdc proporcional à faixa de medição de 0 a 100 % de oxigênio dissolvido.

4.1.6. Biorreator Airlift de Cilindros Concêntricos

Os experimentos foram conduzidos em um biorreator Airlift de cilindros concêntricos com volume útil de 5,3 litros. As dimensões do equipamento e os acessórios estão ilustrados na Figura 4.2. O cilindro externo foi confeccionado em vidro com 5 mm de espessura. A tampa, o aspersor, o cilindro interno e a base são confeccionados em aço inoxidável 316L. Neste modelo a troca de calor foi realizada por camisa d'água confeccionada na base do biorreator. O aspersor utilizado foi do tipo cruzeta com os orifícios de 0,5 mm e espaçados em 5 mm. Este equipamento foi patenteado e uma unidade está disponível no LEB/DEQ/UFSCar.

Figura 4.2– Esquema e medidas do biorreator utilizado.

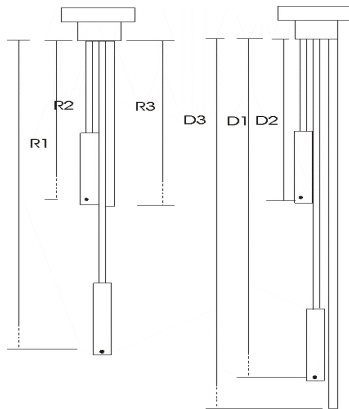


Dimensões	V_L 5,535 litros
H1 (m)	0,050
H2 (m)	0,050
H3 (m)	0,345
H4 (m)	0,445
H5 (m)	0,635
D_D (m)	0,1237
D_R (m)	0,0809
A_D/A_R	0,57
D_R/D_D	0,654
A_R (m ²)	0,00514

Fonte: Adaptado de Thomasi (2010)

Para medir a pressão e a temperatura nas regiões de subida e de descida do biorreator, foi necessário construir dois dispositivos ilustrados na Figura 4.3.

Figura 4.3: Esquemas e medidas dos dispositivos utilizados para medir a pressão hidrostática e a temperatura em cada região do biorreator.



Dimensões (mm)	
R1	485,0
R2	334,0
R3	293,0
D1	335,0
D2	584,0
D3	610,0
Distância do $\Delta P_{descida}$	250
Distância do $\Delta P_{descida}$	150

Fonte: Própria

4.1.7. Fluidos

Para avaliar os parâmetros hidrodinâmicos e determinar os parâmetros do controlador para malha de oxigênio dissolvido foram utilizados como fluidos newtonianos, água destilada e solução de glicerol (Lab Synth Produtos para Laboratórios Ltda., Brasil, 99,5% de pureza). As propriedades reológicas das soluções foram determinadas utilizando um reômetro digital cilindro concêntricos, modelo LV-DVIII+ ((*Brookfield Engineering Laboratories, USA*)).

4.2. Métodos

A velocidade superficial do gás na região de subida (U_{GR}) é definida pela razão entre vazão volumétrica de alimentação de gás (Q_{in}) e a área da seção transversal da região de subida (A_R). Sendo a única variável de operação manipulável nos sistemas pneumáticos (CHISTI, 1989).

$$U_{GR} = \frac{Q_{in}}{A_R} = \frac{Q_{in}}{0,00514} \cdot \frac{1}{1000} \cdot \frac{1}{60} \left[\frac{m}{s} \right] \quad (4.1)$$

Onde:

Q_{in} : Vazão volumétrica do gás (L.min⁻¹)

A_R : Área transversal da região de subida (m²)

4.2.1. Determinação do tempo de mistura (t_m) e tempo de circulação (t_c)

Para determinar os valores de t_m e o t_c foram realizados ensaios de pulso de pH e de pulso térmico em diferentes vazões de alimentação de gás. No método de pulso de pH injetou-se soluções de HCl ou NaOH (10M) e foram registrados os valores de pH. Para determinar os valores de t_m e o t_c utilizou-se o método gráfico apresentado no item 3.2.2.

No caso do pulso de térmico foi utilizado dois sensores de temperatura, instalados de acordo com a Figura 4.3. O calculo de t_c foi realizado a partir do tempo entre a detecção da temperatura em cada sensor.

4.2.2. Retenção gasosa (ϵ)

A retenção gasosa foi determinada utilizando dois métodos: o manométrico e o da expansão de volume. No método manométrico obteve-se a retenção gasosa nas regiões de subida e descida a partir dos dispositivos ilustrados na Figura 4.3, a variação da pressão foi medida utilizando o equipamento T&S SC990. A ϵ_G foi determinada pela Equação 3.3, enquanto as retenções gasosas parciais ϵ_D e ϵ_R foram determinadas pela Equação 3.4.

A partir do método da expansão de volume determinou-se ϵ_G realizando medidas visuais da altura da dispersão gás+líquido (h_D) e com o sistema em repouso obteve-se (h_L), determinando a retenção gasosa global (ϵ_G) pela Equação 3.5.

4.2.3. Velocidade superficial (U_L) e linear da fase líquida (V_L)

Obtido o tempo de circulação (t_C) e conhecendo-se a distância média percorrida por um elemento de volume (X_C) de 0,74 m, determinou-se velocidade superficial média do líquido (U_{LM}) de acordo com a Equação 3.9.

De posse do valor da U_{LM} , ϵ_D e ϵ_R foram determinadas as velocidades lineares de líquido (V_{LR} e V_{LD}) pelas Equações 3.12 e 3.13.

4.2.4. Coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$)

Para avaliar o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) da fase gasosa para fase líquida foram realizados ensaios de transferência de oxigênio utilizando o método dinâmico apresentado por Dang et al., (1977). Foi possível estimar o valores de $k_L a$ em diferentes vazões de alimentação de gás. Valores do $k_L a$ é foram estimados ajustando-se o modelo de transferência dado pela Equação 4.2 aos pontos experimentais de OD ao longo do tempo utilizando o método de mínimos quadrados não linear, baseado no algoritmo de desenvolvido por Marquardt (CHISTI, 1989).

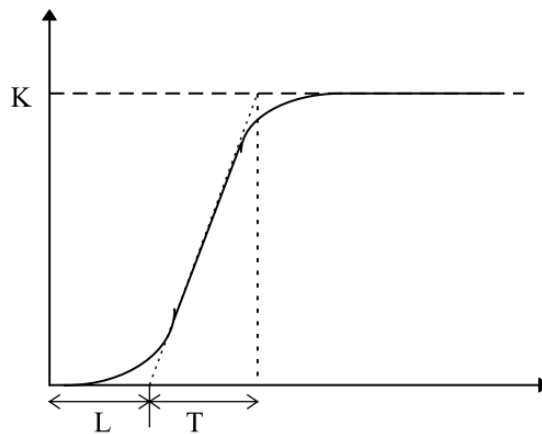
$$C_e = C_{e0} e^{-k_e(t-t_0)} + C_{es} \left(1 - e^{-k_e(t-t_0)} \right) + \frac{k_e(C_{es}-C_0)}{k_e-k_L a} \left(e^{-k_e(t-t_0)} - e^{-k_L a(t-t_0)} \right) \quad (4.2)$$

A constante de atraso do eletrodo (k_e) foi determinada em um ensaio degrau equilibrando-se o eletrodo em atmosfera de nitrogênio até atingir o valor zero de concentração de oxigênio e, em sequência, expondo o eletrodo em uma atmosfera de ar. A constante de atraso foi calculada como o inverso do tempo necessário para a concentração de oxigênio atingir 63,2% do valor final.

4.2.5. Modelagem da planta e síntese do controlador

O mapeamento dos parâmetros da função de transferência foi realizado variando vazão volumétrica de alimentação em 5, 10, 15 e 20 ($L_{ar} \cdot \text{min}^{-1}$) e a concentração de glicerol em água destilada, 0%, e 60 % (m/m) . A partir do método de ajuste proposto por Ziegler-Nichols obteve-se os parâmetros k_p e T_i do controlador PI. Ao serem determinados os parâmetros L e T de acordo com a Figura 4.4, os parâmetros de um controlador PI são calculados de acordo com a Tabela 4.1.

Figura 4.4: Esquema de ajuste do controlador PID pelo método de curva de resposta.



Fonte: Extraído de Ogata (2007)

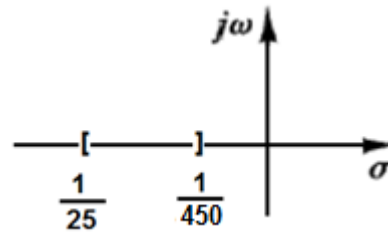
Tabela 4.1: Aproximação dos parâmetros do controlador PID proposto por Ziegler-Nichols.

Controlador	K_p	T_i	T_d
P	$T.L^{-1}$	∞	0
PI	$0,9. T.L^{-1}$	$L.0,3^{-1}$	0
PID	$1,2. T.L^{-1}$	$2.L$	$0,5.L$

Fonte: Extraído de Ogata (2007)

Utilizando a metodologia de ajuste de controladores robusto apresentada por Fonseca (2012), pode-se projetar um controlador robusto, a partir da constante de tempo mais rápida τ_1 e a mais lenta τ_2 , obtidas nos ensaios degraus e com o sistema em malha aberta. A Figura 4.5 apresenta os limites estabelecidos para robustez do controlador de acordo τ_1 e τ_2 escolhidos.

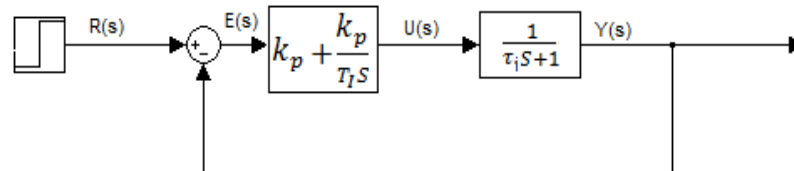
Figura 4.5 – Limites das constantes de tempo no plano complexo.



Fonte: Própria

O diagrama em blocos do sistema realimentado e com o controlador PI é ilustrado na Figura 4.6.

Figura 4.6 – Diagrama de blocos do sistema realimentado



Fonte: Própria

Rearranjando os blocos do sistema realimentado obtêm-se as funções transferência de segunda ordem para τ_1 e τ_2 de acordo com as Equações 4.3 e 4.4.

$$Gmf1(s) = \frac{\frac{k_p}{25} \left(s + \frac{1}{T_I} \right)}{s^2 + \left(\frac{1+k_p}{T_I \cdot 25} \right) s + \frac{k_p}{T_I \cdot 25}} \quad (4.3)$$

$$Gmf2(s) = \frac{\frac{k_p}{450} \left(s + \frac{1}{T_I} \right)}{s^2 + \left(\frac{1+k_p}{T_I \cdot 450} \right) s + \frac{k_p}{T_I \cdot 450}} \quad (4.4)$$

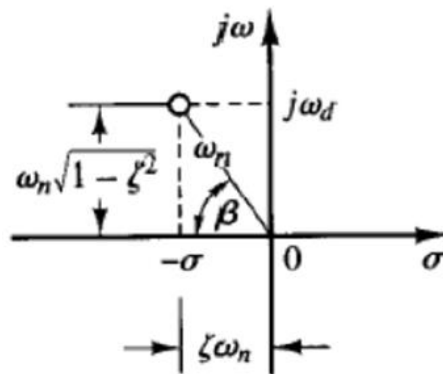
Portanto, nesta metodologia os valores dos parâmetros K_p e T_i do controlador PI devem ser escolhidos de tal modo que as respostas dos sistemas G_{mf1} e G_{mf2} permaneçam dentro dos critérios de desempenho desejados. Definido os índices de desempenho de máximo sobressinal (MP%) e tempo de acomodação (t_s), calculam-se os parâmetros ζ e ω_n da função transferência do sistema realimentado, utilizando as equações 4.5 e 4.6.

$$MP(\%) = e^{\frac{\pi \zeta}{\sqrt{1-\zeta^2}}} \quad (4.5)$$

$$t_s = \frac{4}{\zeta \omega_n} \quad (4.6)$$

Com os valores de ζ e ω_n obtidos constrói-se o gráfico de alocação de polos no domínio da frequência apresentado na Figura 4.7 na qual o sistema atende as especificações de projeto.

Figura 4.7 – Gráfico no plano complexo do lugar das raízes diante das restrições dos índices de desempenho, de máximo sobressinal e tempo de acomodação.



Fonte: Extraído de Ogata (2007)

Obtidas as duas funções transferência do sistema em malha fechada, a determinação dos parâmetros k_p e T_i é realizada calculando os autovalores das duas funções de transferência, comparando-os com o critério de tempo de estabelecimento. Caso k_p e T_i selecionados satisfaçam as duas condições, o controlador irá atender as restrições de $Mp\%$ e t_s em qualquer sistema cuja constante de tempo τ varie entre τ_1 a τ_2 .

4.2.6. Modelagem e simulação do cultivo aeróbio de *S. clavuligerus*

Para avaliar o consumo de oxigênio dissolvido e as influências do crescimento celular na transferência de massa foi simulado um cultivo aeróbio em batelada de *Streptomyces clavuligerus*. Os valores dos parâmetros cinéticos do microrganismo foram obtidos do trabalho de BAPTISTA-NETO et al., (2000).

As velocidades de crescimento celular (r_x), de consumo de substrato (r_s) e de morte celular (r_d), são representadas pelas Equações 4.7, 4.8 e 4.9, respectivamente:

$$r_x = \mu_x \cdot C_x \quad (4.7)$$

$$r_s = \frac{-\mu_x}{Y_{x/s}} \cdot C_x \quad (4.8)$$

$$r_d = k_d \cdot C_x \cdot f_{cs1} \quad (4.9)$$

A velocidade específica de formação de células (μ_x) dependente de um substrato limitante, representada pelo modelo cinético de Monod de acordo com Equação 4.10.

$$\mu_x = \mu_{max} \cdot \frac{C_s}{K_s + C_s} \quad (4.10)$$

De acordo com o modelo de Baptista-Neto et al., (2000), a partir de uma dada concentração desse substrato automaticamente inicia-se a fase de morte celular, sendo inserido na equação de velocidade de morte celular o termo f_{cs1} possibilitando indicar no modelo o instante que a concentração do substrato (C_s) atinge um nível de concentração crítico e limitará o processo.

A equação de balanço de massa para concentração celular é representada pela equação 4.11:

$$\frac{dc_x}{dt} = \mu_{max} \cdot \frac{C_s}{K_s + C_s} \cdot C_x - k_d \cdot C_x \cdot f_{cs1} \quad (4.11)$$

Assumindo que a cinética de consumo de substrato também seja modelada a partir da cinética de Monod pode-se reescrever a Equação 4.6 de acordo com a Equação 4.12 (Baptista-Neto et al., 2000).

$$\frac{dc_s}{dt} = \frac{-\mu_{max}}{Y_{x/s}} \cdot \frac{C_s}{K_s + C_s} \cdot C_x \quad (4.12)$$

O objetivo principal dessa etapa do trabalho foi simular a variação da concentração de oxigênio dissolvido durante a fase de proliferação do microrganismo, possibilitando verificar o comportamento da concentração de oxigênio dissolvido e a partir da velocidade específica de respiração celular dada pela Equação 4.13:

$$Q_{O_2} = \frac{1}{C_x} \cdot \frac{dC_{O_2}}{dt} \quad (4.13)$$

Sendo parte do oxigênio consumido para manutenção celular (m_o), portanto conhecendo o valor da conversão ($Y_{O_2/x}$), tem-se a Equação 4.14 (SCHMIDELL, 2001):

$$Q_{O_2} = m_o + \frac{1}{Y_{O_2/x}} \cdot \mu_x \quad (4.14)$$

O coeficiente de manutenção (m_o) pode ser determinado em um cultivo descontínuo nos instantes iniciais do processo, quando a concentração celular ainda é baixa, enquanto o consumo de oxigênio (Q_{O_2}) será máximo na fase exponencial, quando a velocidade de crescimento celular também for máxima ($\mu_{max} \cdot C_x$) (SCHMIDELL, 2001).

Durante cultivos aeróbios em biorreatores convencionais, o microrganismo consumirá o oxigênio dissolvido devido à respiração celular e, simultaneamente, o sistema de agitação e aeração transferirá oxigênio para fase líquida. Desta forma a variação do oxigênio dissolvido pode ser descrito de acordo com a Equação 4.15:

$$\frac{dC_{O_2}}{dt} = k_L a (C_{O_2s} - C_{O_2}) - Q_{O_2} C_x \quad (4.15)$$

Para acompanhar as interferências produzidas pelo crescimento celular na transferência de massa utilizou-se a equação proposta Gouveia et al., (2000) que relaciona o parâmetro reológico índice de consistência K do caldo de fermentação, com a concentração celular (C_x) de acordo com a Equação 4.16.

$$K = 0,44. cx^{1,25} \quad (4.16)$$

Thomasi (2010) propôs a correlação entre o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) e o índice de consistência K e a velocidade superficial do gás na região de subida (U_{GR}) de acordo com a equação 4.17:

$$k_La = 0,0463. U_{GR}^{0,542} K^{-0,679} \quad (4.17)$$

A partir das equações apresentadas é possível avaliar a influência da velocidade superficial do gás U_{GR} na concentração de oxigênio dissolvido durante o cultivo aeróbio do microrganismo *Streptomyces clavuligerus* utilizando os parâmetros cinéticos apresentados por Baptista-Neto et al. (2000).

Considerou na simulação que o crescimento celular é função apenas de um substrato limitante, possibilitando assim avaliar a transferência de oxigênio diante em diferentes condições operacionais. Com os dados da simulação foi possível elaborar uma lei de controle automático abordando duas diferentes estratégias de controle automático visando controlar concentração de OD acima 25% do valor da saturação em ar, ou seja, o “set-point” foi definido em $2,0 \text{ mg}_{O_2} \cdot L^{-1}$.

A primeira estratégia a ação de controle atuou variando a vazão de alimentação de ar na faixa de 5 a $20 \text{ L}_{ar} \cdot \text{min}^{-1}$, enquanto na segunda estratégia, a vazão de ar foi mantida constante em $5 \text{ L}_{ar} \cdot \text{min}^{-1}$ e o controlador atuou enriquecendo o gás de entrada do biorreator variando a vazão de um segundo fluxometro com oxigênio puro.

5. Resultados e Discussão

A primeira etapa do presente trabalho foi desenvolver o software supervisor para adquirir os dados da instrumentação eletrônica e gravá-los em arquivo possibilitando caracterizar e controlar as principais variáveis envolvidas na operação de biorreatores. Inicialmente foi necessário inserir no software supervisor as equações que relacionam as grandezas elétricas com as grandezas físicas medidas pelos sensores.

5.1. Equações de calibração da instrumentação eletrônica

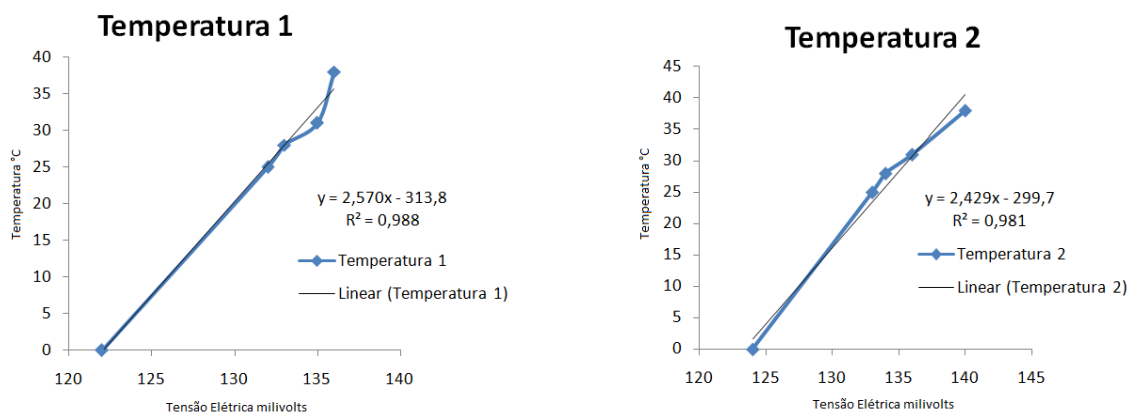
Os dois sensores de temperatura foram calibrados utilizando um banho termostático. A Tabela 5.1 fornece os dados utilizados para obter a equação de calibração e a Figura 5.1 ilustra a curva de calibração e o ajuste do modelo linear.

Figura 5.1 – Dados utilizados para a obtenção das curvas de calibração dos sensores de temperatura

Sensor temperatura 1		Sensor temperatura 2	
Voltagem (vdc)	°C	Voltagem (vdc)	°C
0,122	0	0,124	0
0,132	25	0,133	25
0,133	28	0,134	28
0,135	31	0,136	31
0,136	38	0,140	38

Fonte: Própria

Figura 5.1–Curvas de calibração dos sensores de temperatura.



Fonte: Própria

As Equações 5.1 e 5.2 foram inseridas no software para converter os valores de tensão elétrica em milivolts (mVdc) em temperatura (T em °C).

$$T_1(^{\circ}\text{C}) = 2,570 \cdot x - 313,8 \quad (5.1)$$

$$T_2(^{\circ}\text{C}) = 2,429 \cdot x - 299,7 \quad (5.2)$$

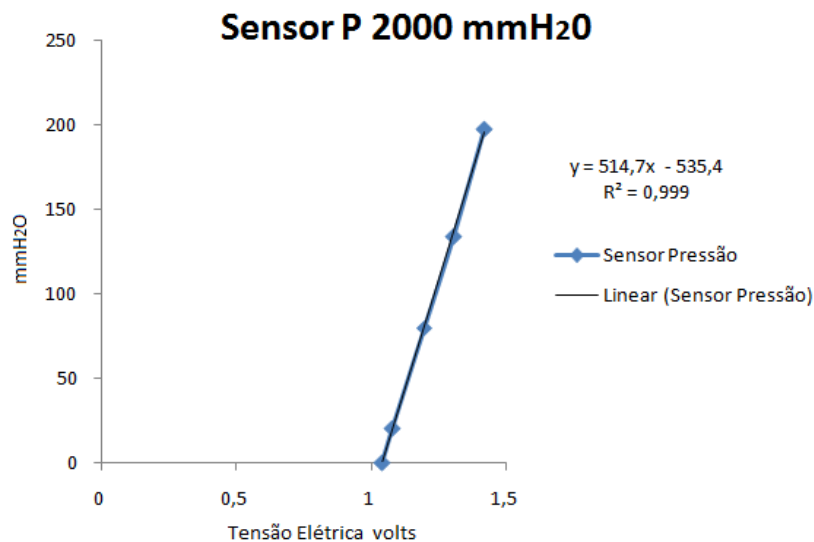
A equação de calibração do sensor de pressão foi obtida variando-se a altura da coluna de água medida entre dois pontos de tomada de pressão. Os dados da tensão elétrica em função da altura da coluna líquida são apresentados na Tabela 5.2 e a Figura 5.2 ilustra curva de calibração e o ajuste do modelo linear.

Tabela 5.2 – Dados utilizados para a calibração do sensor de pressão

Sensor de Pressão	
Voltagem (Vdc)	P (mmH ₂ O)
1,040	0
1,078	20
1,195	80
1,305	134
1,420	197

Fonte: Própria

Figura 5.2– Dados utilizados para a calibração do sensor de pressão.



Fonte: Própria

A equação de calibração (Equação 5.3) foi inserida no software.

$$P (\text{mmH}_2\text{O}) = 514,7 \cdot x - 535,4 \quad (5.3)$$

A equação de calibração do eletrodo de pH foi obtida utilizando as soluções padrão de pH 4,0 e 7,0 disponíveis no laboratório. A Tabela 5.3 apresenta os valores pH em função da tensão elétrica e a Figura 5.3 ilustra a curva de calibração e o ajuste do modelo linear, sendo a Equação 5.4 inserida no software.

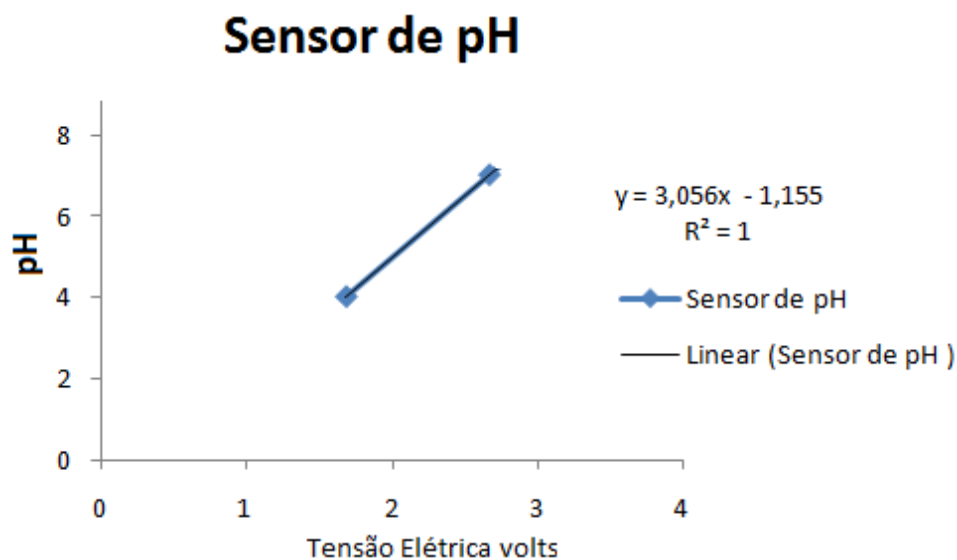
$$pH = 3,056 \cdot x - 1,155 \quad (5.4)$$

Tabela 5.3 – Dados utilizados para calibração do medidor de pH

Sensor de pH	
Vtagem (Vdc)	pH
1,688	4,0
2,668	7,0

Fonte: Própria

Figura 5.3–Curva de calibração do sinal de pH.

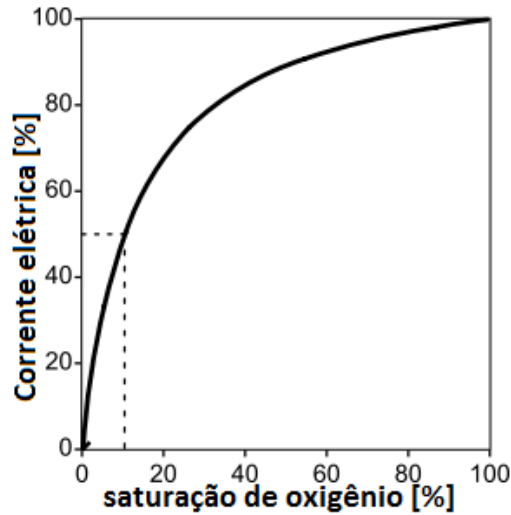


Fonte: Própria

A curva de calibração do analisador de oxigênio dissolvido foi obtida de acordo com as instruções disponíveis no manual do equipamento. Para realizar medidas de percentual de concentração na escala de 0 a 100% da saturação com ar atmosférico foi necessário optar por uma curva de calibração não linear. De acordo com as instruções do

manual deve-se definir a porcentagem de corrente elétrica que representa o ponto de 50% da grandeza medida. A Figura 5.4 ilustra a função de ajuste fornecida pelo equacionamento do manual.

Figura 5.4 – Curva de calibração do analisador de oxigênio dissolvido



Fonte: Manual Mettler Toledo 4500

A Equação 5.5 foi necessária para converter corrente elétrica em percentual de OD.

$$A (mA) = \frac{(1+C)*X*16(mA)}{1+C*X} + 4(mA) \quad (5.5)$$

As variáveis **C** e **x** são dadas pelas Equações 5.6 e 5.7.

$$C = \frac{E+I-2*x50\%}{x50\%-I} \quad (5.6)$$

$$x = \frac{M-I}{E-I} \quad (5.7)$$

onde:

I: valor inicial (mA)

E: valor final (mA)

M: valor medido (mA)

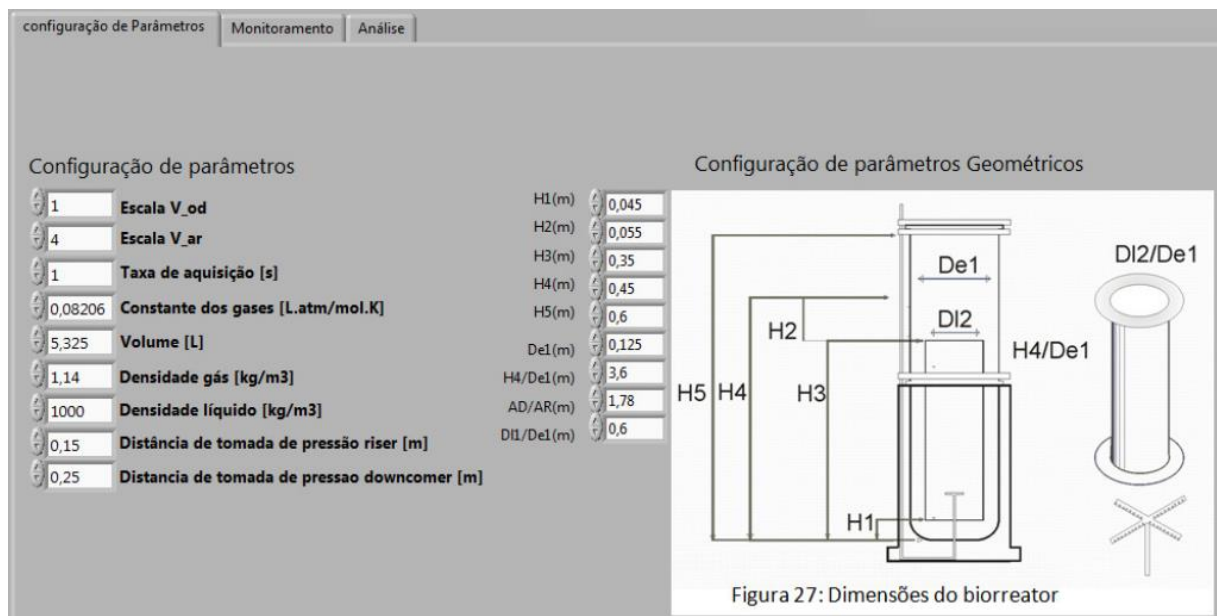
x50%: valor em 50% da escala (mA)

5.2. Sistema Supervisório

No desenvolvimento do trabalho foi elaborado um software supervisor em plataforma LabView para coletar e analisar os dados obtidos em ensaios hidrodinâmicos e de transferência de massa.

O algoritmo do software foi dividido em três abas, sendo a primeira destinada à configuração de parâmetros, a segunda ao monitoramento e aquisição de dados e a terceira à análise de dados. A Figura 5.5 ilustra a aba de configuração.

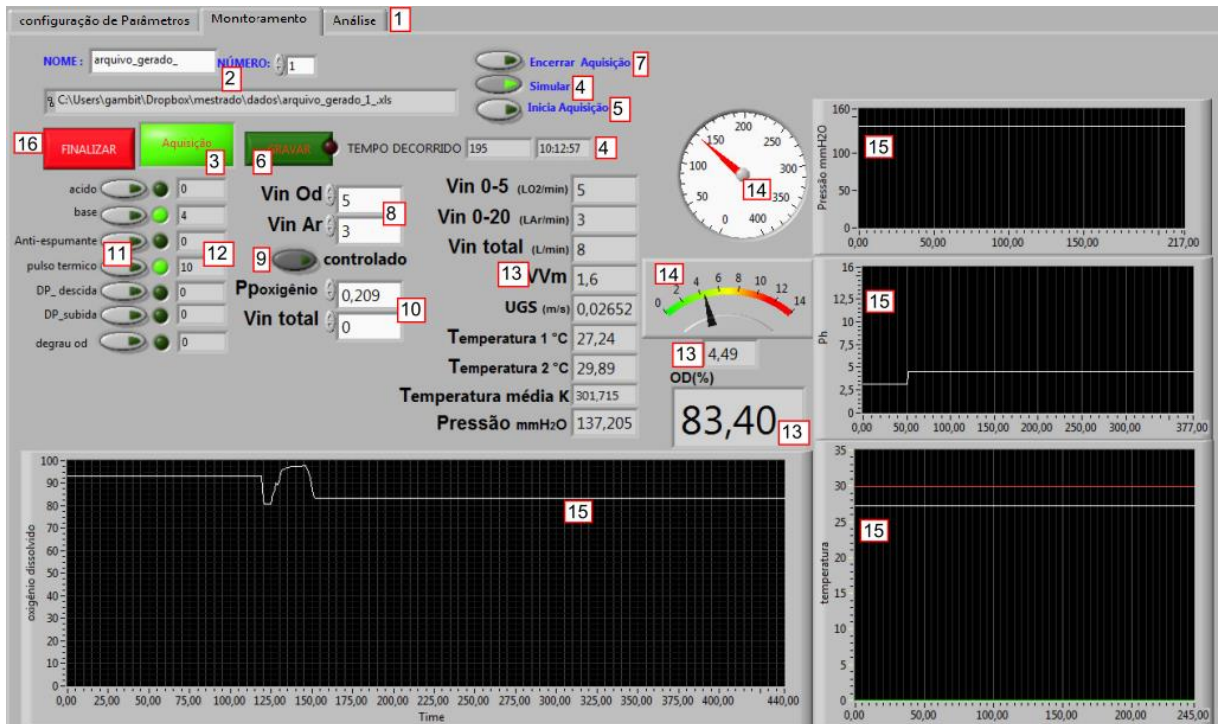
Figura 5.5 – Interface de configuração do biorreator e outros dados necessários nos ensaios de hidrodinâmica.



Fonte: Tela do programa desenvolvido em Labview 8.2

A aba de monitoramento desenvolvida está ilustrada na Figura 5.6 e a Tabela 5.4 apresenta cada item da interface de aquisição de dados.

Figura 5.6: Interface da aba de monitoramento desenvolvida no sistema supervisorio



Fonte: Tela do programa desenvolvido em Labview 8.2

Tabela 5.4 - Descrição dos itens na aba de monitoramento disponível no sistema supervisório

Item	Descrição
1	Navegação por abas- Configuração de parâmetros Monitoramento e Análise
2	Nome do arquivo, número do ensaio e o diretório salvo o arquivo
3	Chave para habilitar a aba de monitoramento ou simulação
4	Chave para simular a aquisição de dados
5	Chave para iniciar o programa
6	Chave para gravar os dados da aquisição ou da simulação
7	Chave encerrar o ensaio em andamento
8	Campo para inserir os valores de vazão volumétrica de ar atmosférico e oxigênio
9	Chave para habilitar o controle automático para o set-point de vazão total e pressão parcial de oxigênio
10	Define o setpoint de vazão total e pressão parcial de oxigênio
11	Chaves para inicializar o sinal de perturbação, de modo a sinalizar o início de um ensaio
12	Tempo de acionamento da gravação do dado no arquivo
13	Apresentação dos valores numéricos das variáveis monitoradas e gravadas no arquivo de dados
14	Indicadores de ponteiro da Δ pressão e do nível de pH
15	Indicadores gráficos do Δ pressão e do nível de pH das temperaturas 1 e 2 e da porcentagem de oxigênio dissolvido
16	Encerra o sistema supervisório

Fonte: Própria

Para utilizar a aba de monitoramento disponível no sistema supervisório o usuário deve acionar a chave destacada no campo 3 para habilitar a aba, escolhe-se então simular ou monitorar os sensores acionando respectivamente as chaves dos campos 4 ou 5. Define-se o nome e o número do ensaio no campo 2. Para gravar os dados em arquivo é necessário acionar a chave do campo 6.

Os dados gravados no arquivo estão disponíveis na tela do programa e são apresentados no campo 13 juntamente com os sinais de comando gerados ao acionar as chaves do campo 11.

O usuário pode definir os valores das vazões das correntes gasosas de ar e de oxigênio no campo 8 ou ainda pode utilizar o controle automático definindo a pressão

parcial que deseja para uma dada vazão de alimentação inserindo os valores no campo 10 e acionando a chave do campo 9.

Os valores monitorados são apresentados de três formas: pelos indicadores numéricos do campo 13, na forma de ponteiro apresentada no campo 14 e na forma gráfica apresentada no campo 15. Finalmente para encerrar o sistema supervisorio deve-se acionar a chave do campo 16. Os dados obtidos na aba de monitoramento são apresentados como ilustra a Figura 5.7.

Figura 5.7–Arquivo de dados gerado na aba de monitoramento e utilizando na aba de análise.

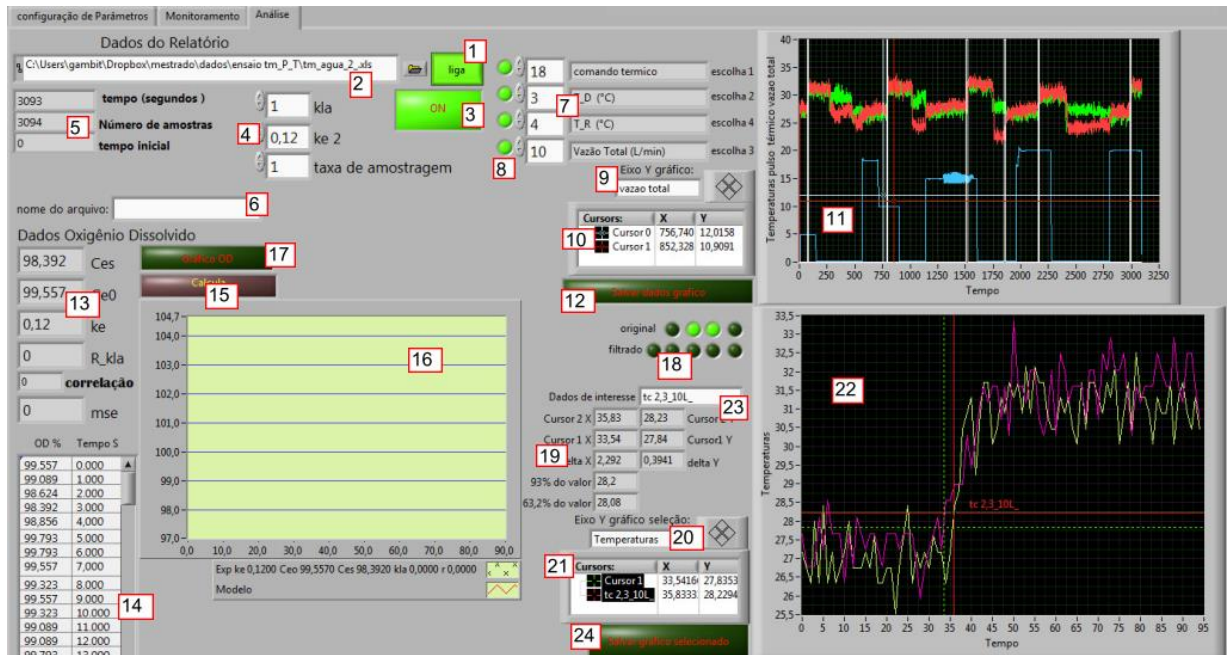
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	od_l mA	OD%	Ph	T_1 °C	T_2 °C	P_N/m^2	flux_02	vazao_tot UGS	wm	flu ar	
2	19,83	96,121	6,838	27,239	27,996	2470,969	0,027	0,115	0	0,023	0,088
3	19,83	96,121	6,844	28,55	26,758	2476,018	0,032	0,132	0	0,026	0,1
4	19,83	96,121	6,835	27,676	27,996	2465,92	0,027	0,123	0	0,025	0,096
5	19,82	95,899	6,829	27,676	27,171	2476,018	0,027	0,123	0	0,025	0,096
6	19,83	96,121	6,844	27,239	27,583	2476,018	0,027	0,115	0	0,023	0,088
7	19,83	96,121	6,823	27,676	27,171	2455,821	0,027	0,127	0	0,025	0,1
8	19,83	96,121	6,823	27,239	27,996	2470,969	0,025	0,113	0	0,023	0,088
9	19,83	96,121	6,835	27,676	26,758	2445,722	0,027	1,387	0,005	0,277	1,36
10	19,83	96,121	6,826	26,802	27,583	2440,673	0,024	3,836	0,014	0,767	3,812
11	19,82	95,899	6,841	28,113	27,171	2460,87	0,027	4,739	0,018	0,948	4,712
12	19,83	96,121	6,838	27,676	26,758	2465,92	0,034	4,954	0,019	0,991	4,92

L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W
degrau od	Pparcial	coman_b	coman ac	dp_desci	dp_subid	coman_a	comand t	iteracoes	miliseg	time	
0	0,209	0	0	0	0	0	0	20	17522001	18:39:15	00:00:01
0	0,209	0	0	0	0	0	0	21	17523001	18:39:16	00:00:01
0	0,209	0	0	0	0	0	0	22	17524001	18:39:17	00:00:01
0	0,209	0	0	0	0	0	0	23	17525001	18:39:18	00:00:01
0	0,209	0	0	0	0	0	0	24	17526001	18:39:19	00:00:01
0	0,209	0	0	0	0	0	0	25	17527000	18:39:20	00:00:01
0	0,209	0	0	0	0	0	0	26	17528000	18:39:21	00:00:01
0	0,209	0	0	0	0	0	0	27	17529000	18:39:22	00:00:01
0	0,209	0	0	0	0	0	0	28	17530001	18:39:23	00:00:01
0	0,209	0	0	0	0	0	0	29	17531001	18:39:24	00:00:01
0	0,209	0	0	0	0	0	0	30	17532001	18:39:25	00:00:01

Fonte: Tela do programa Excel 2003 - programa utilizado para apresentação dos dados de coletados

A Figura 5.8 ilustra a aba de análise e na Tabela 5.5 estão definidos cada item da interface.

Figura 5.8 – Aba de análise de dado



Fonte: Tela do programa desenvolvido em Labview 8.2

Tabela 5.5 – Descrição dos itens na aba de análise de dados.

Itens	Descrição
1	Habilita a aba de análise
2	Seleciona o arquivo para análise de dados
3	Inicializa a análise
4	Ajusta os parâmetros para estimar o k_{La} e a taxa de amostragem da aquisição de dados
5	Tempo total do ensaio em segundos e o número de amostras contidas no arquivo
6	Nome do arquivo gerado na análise
7	Escolha de sensores ou sinais de comando gravados no arquivo de aquisição
8	Habilita o plote do sensor ou comando selecionado
9	Caixa de texto para definir o eixo Y do gráfico 11
10	Disponibiliza as coordenadas dos cursores do gráfico 11 utilizados para selecionar um novo conjunto de dados no gráfico 22
11	Gráfico dos sensores habilitados
12	Salva uma imagem do gráfico 11 e gera um novo arquivo dos sensores habilitados. figuras.bmp figuras.txt
13	Parâmetros e resultados obtidos na estimativa do k_{La}
14	Tabela dos dados utilizados na estimativa de k_{La}
15	Chave para inicializar a estimativa de k_{La}
16	Gráfico para apresentar a curva ajustada pelo método de Levenberg Marquardt aos pontos experimentais
17	Salva uma imagem do gráfico 16
18	Habilita o plote dos pontos selecionados pelos cursores do gráfico 11
19	Posicionamento dos cursores do gráfico 22
20	Caixa de texto para definir o eixo Y do gráfico 22
21	Disponibiliza as coordenadas dos cursores do gráfico 22
22	Gráfico que apresenta os pontos selecionados pelo cursores no gráfico 11
23	Insere texto no cursor 2 do gráfico 22
24	Salva uma imagem do gráfico 22 e gera um novo arquivo dos sensores habilitados selecao.bmp selecao.txt

Fonte: Própria

Para utilizar a aba de análise, o usuário aciona a chave do item 1 (liga) para habilitar a aba. Escolhe-se o arquivo a ser analisado selecionando o campo 2, ajusta-se os valores no campo 4 (chute inicial de k_{La} , a constante de atraso do eletrodo, k_e e a taxa de amostragem do arquivo) e aciona a chave do campo 3 ligando o software. O campo 5 informa o tempo total de monitoramento e o número total de amostras gravadas.

Todos os arquivos gerados na análise são salvos no mesmo diretório. Para diferenciá-los o usuário deve inserir um nome no campo 6 antes de iniciar o programa, possibilitando diferenciar os arquivos obtidos nos campos 12 17 e 24.

Com o programa ativo, pode-se selecionar até 4 colunas de dados por numeração ou nome de acordo com no campo 7 cujo valores podem ser apresentados no gráfico campo 11. Simultaneamente é necessário habilitar as chaves campo 8.

Utilizando os cursores 0 e 1 disponíveis no gráfico do campo 11, seleciona-se a faixa de interesse para análise de dados que conterà os dados das colunas habilitadas (campos 7+8) e podem ser salvas ao acionar a chave do campo 12. Os novos arquivos imagem e texto gerados acompanham o nome inserido no campo 6 mais a palavra “figuras” .bmp e .txt.

Para poder visualizar os dados selecionados no gráfico do item 22 deve-se ainda habilitar as chaves do campo 18.

Utilizando cursores do campo 21 é possível obter informações dos dados no campo do item 22. Com os dados disponíveis no campo 19 pode-se inserir informações de texto no cursor 2 do campo 22 com auxílio da caixa de texto do campo 23. No campo 20 pode-se definir a escala do eixo y no gráfico do campo 22. Finalmente, clicando na chave do campo 24 pode-se gerar novos documentos “imagem e txt”, acompanhados da palavra seleção.

5.3. Validação do sistema de aquisição de dados

Para validar a primeira fase do projeto foram realizados ensaios hidrodinâmicos e de transferência de oxigênio utilizando sistema bifásico ar-água a 28°C. Os dados apresentados na Tabela 5.6 foram obtidos analisando os arquivos gerados.

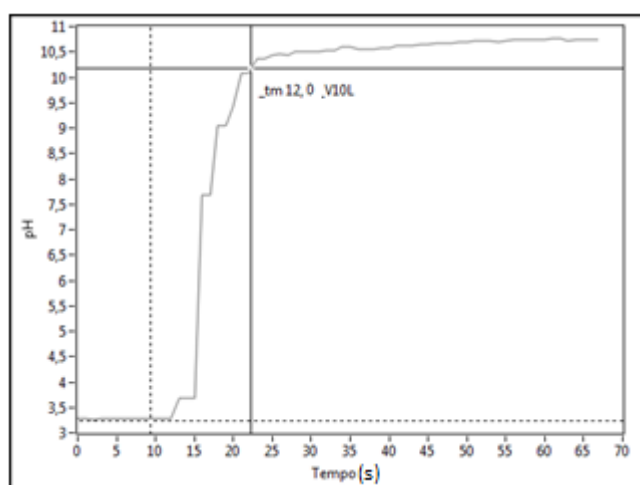
Tabela 5.6 – Parâmetros determinados em função da vazão de alimentação para validação do sistema de aquisição de dados

Vazão volumétrica (L.min ⁻¹)	5	10	15	20
Tempo de Mistura pelo método pH (s)	10,75	12,93	8,82	6,43
Retenção gasosa global - Método manométrico ϵ_G (-)	0,023	0,056	0,0956	0,139
Retenção gasosa global - Método de expansão volumétrica ϵ_G (-)	0,040	0,074	0,1200	0,160
$k_L a$ (s ⁻¹)	0,018	0,039	0,0484	0,078
Tempo de circulação - Método térmico (s)	6,47	4,31	2,00	2,00

Fonte: autoria própria

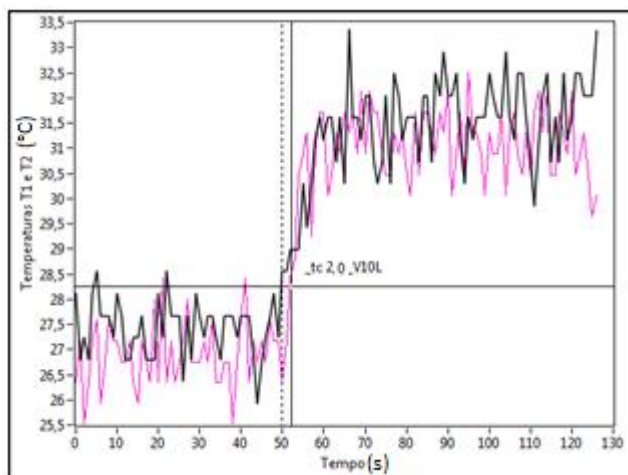
A Figura 5.9 ilustra a imagem obtida na análise do tempo de mistura (t_m) pelo método de pulso de pH e a Figura 5.10 ilustra a imagem obtida analisando-se o tempo de circulação (t_c) pelo método de pulso térmico.

Figura 5.9 – Obtenção do tempo de mistura $t_m = 12$ s para $U_{GR} = 0,064$ m.s⁻¹ pelo método de pulso de pH.



Fonte: Própria

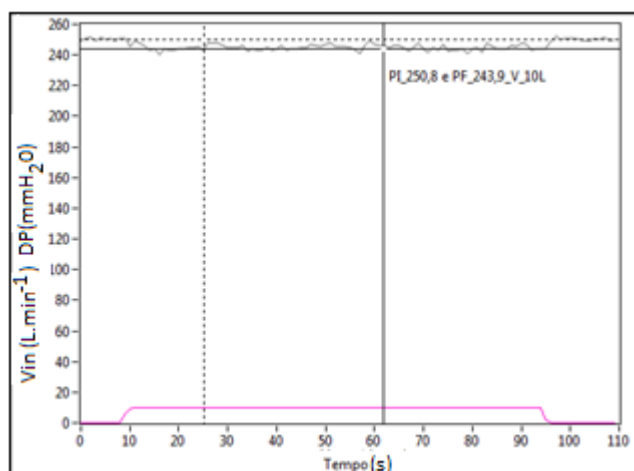
Figura 5.10 – Obtenção do tempo de circulação pelo método de pulso térmico ($t_c = 2$ s) para $U_{GR} = 0,0645 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$. Linha em preto: dados do sensor de temperatura 1 localizado na parte superior. Linha em roxo: dados do sensor de temperatura 2 localizado no fundo do biorreator.



Fonte: Própria

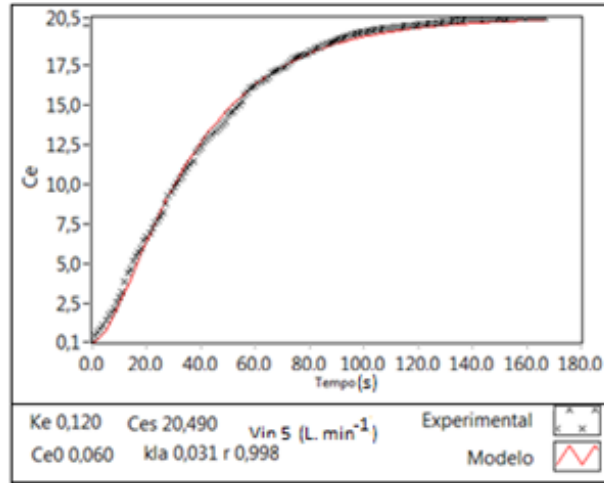
A Figura 5.11 ilustra a variação de pressão na região de descida com o tempo e a Figura 5.12 ilustra o gráfico do ajuste da Equação 4.5 aos pontos experimentais de C_e em função do tempo para a obtenção do coeficiente volumétrico de transferência oxigênio ($k_L a$).

Figura 5.11 – Diferença de pressão medida na região de descida, onde a linha em preto é a medida da pressão e a linha em vermelho é a vazão de alimentação. A diferença de pressão sem aeração foi de $250,8 \text{ mmH}_2\text{O}$ e com o sistema aerado em torno de $10 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, a diferença de pressão foi de $243,9 \text{ mmH}_2\text{O}$.



Fonte: Própria

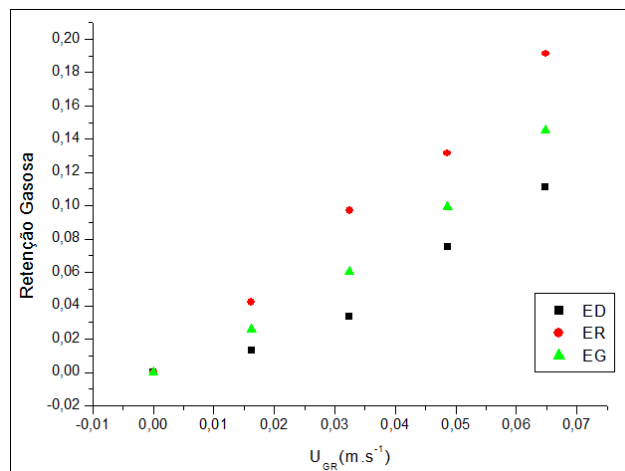
Figura 5.12 – Ajuste da Equação 4.5 aos pontos experimentais utilizando o algoritmo elaborado no software proposto para a estimativa do coeficiente de transferência de oxigênio ($k_L a = 0,031 \text{ s}^{-1}$) com sistema submetido a aeração de $5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$.



Fonte: Própria

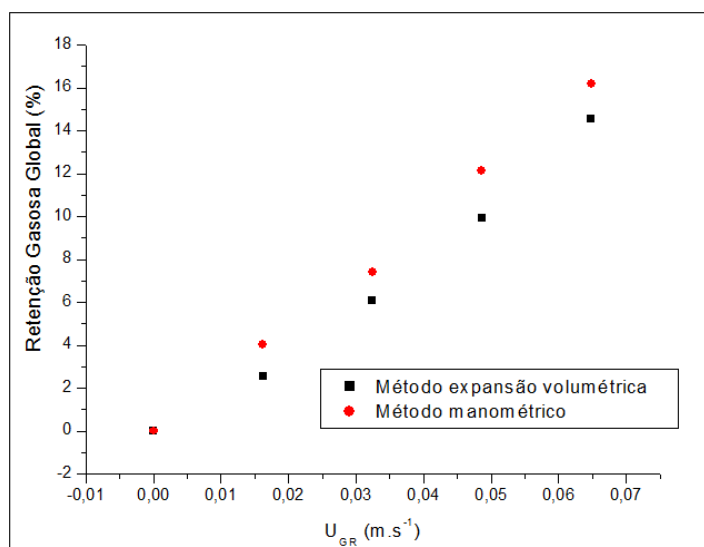
As retenções são gasosas global (ϵ_G) e parciais (ϵ_R) e (ϵ_D), o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$), o tempo de circulação (t_c) e tempo de mistura (t_m) foram obtidos em função velocidade superficial do gás na região de subida (U_{GR}) na faixa de zero a $0,08 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$. A Figura 5.13 ilustra os perfis das retenções gasosa global (ϵ_G) e parciais (ϵ_R) e (ϵ_D) em função de U_{GR} e a Figura 5.14 ilustra a comparação entre os valores de retenção gasosa global (ϵ_G) obtida pelos dois métodos, manométrico e visual.

Figura 5.13 – Retenções gasosas nas regiões de subida (ϵ_R), descida (ϵ_D) e retenção gasosa global (ϵ_G) em função de U_{GR} obtidas pelo método manométrico.



Fonte: Própria

Figura 5.14 – Comparação da entre os valores de retenção gasosa global (ε_G) obtidos pelos métodos manométrico (média ponderada) e visual.



Fonte: Própria

Utilizando um sistema ar-água Chisti e Moo Young (1988) propuseram uma correlação para estimar a retenção gasosa global (ε_G) em função da velocidade superficial de gás (U_{GR}) para biorreatores pneumáticos, de acordo com a Equação 5.9.

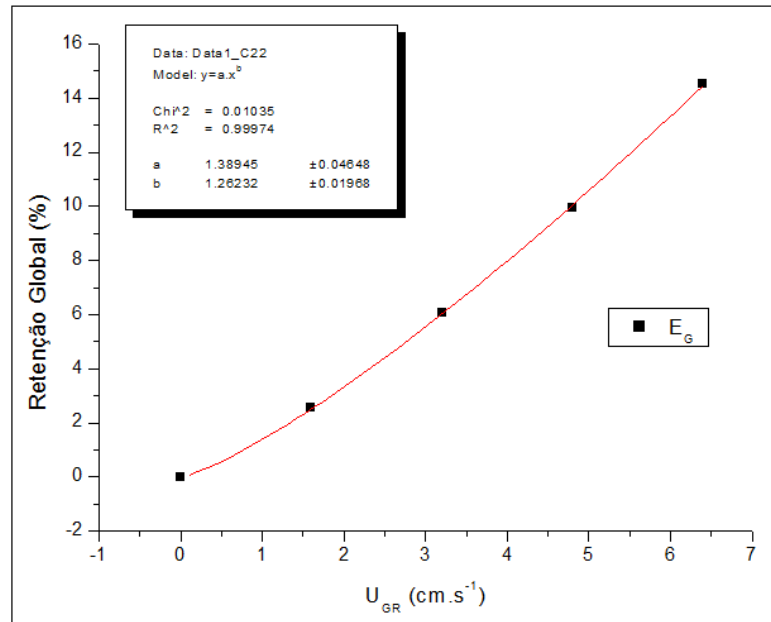
$$\varepsilon_G = \eta \cdot U_{GR}^\omega \quad (5.8)$$

onde η e ω são constantes

A Equação 5.9 resulta do modelo dado pela Equação 5.8 ajustado aos pontos experimentais de ε_G obtidos pelo método da pressão. A Figura 5.15 ilustra o ajuste do modelo (Equação 5.9) aos pontos experimentais.

$$\varepsilon_G = (1,389 \pm 0,046) \cdot U_{GR}^{(1,26 \pm 0,0197)} \quad r^2 = 0,99 \quad (5.9)$$

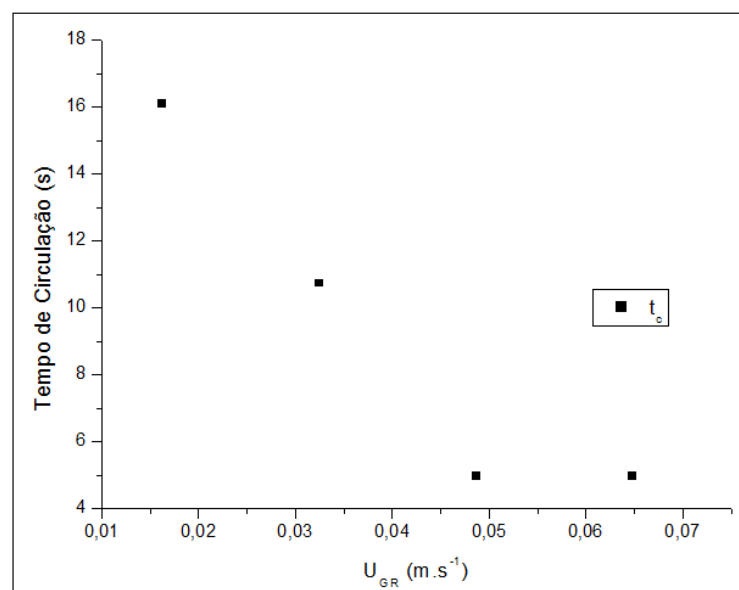
Figura 5.15 – Ajuste do modelo (Equação 5.9) aos valores experimentais de ε_G



Fonte: Própria

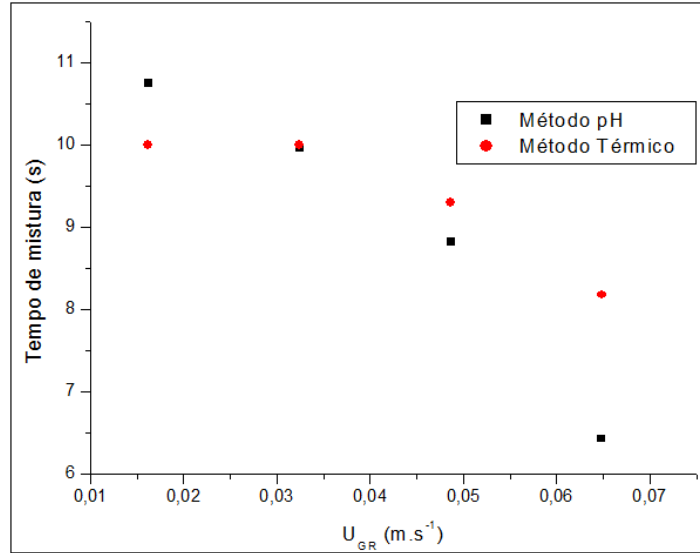
A Figura 5.16 mostra o perfil do tempo de circulação (t_c) e a Figura 5.17 ilustra a comparação entre os valores de tempo mistura (t_m) obtidos pelos dois métodos empregados (pulsos térmico e de pH).

Figura 5.16 – Tempo de circulação (t_c) em função da velocidade superficial do gás (U_{GR}).



Fonte: Própria

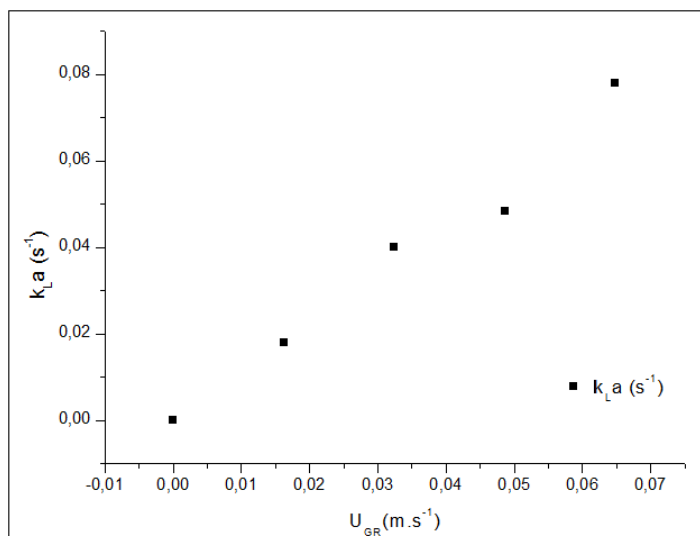
Figura 5.17 – Obtenção do tempo de mistura (t_m) pelos métodos do pulso térmico e método do pulso de pH em função da velocidade superficial do gás (U_{GR}).



Fonte: Própria

Coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) em função da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{GR}) estão ilustrados na Figura 5.18.

Figura 5.18 – Variação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) em função da velocidade superficial do gás (U_{GR}).



Fonte: Própria

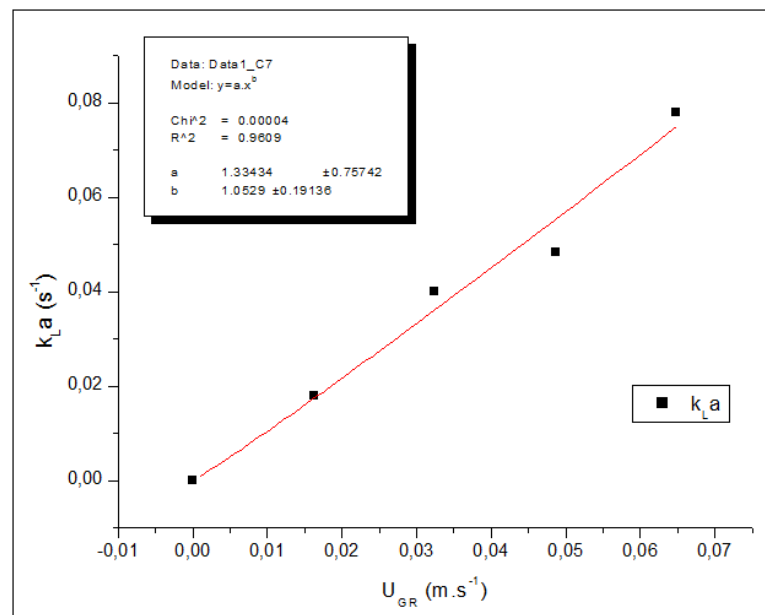
Alguns autores correlacionam valores de $k_L a$ utilizando equações do modelo da Equação 5.10 que apresentam duas constantes (β e φ) dependentes da escala de operação, das dimensões do sistema e das propriedades físicas da mistura gás líquido (Cerri,2009).

$$k_L a = \beta \cdot U_{GS}^{\varphi} \quad (5.10)$$

A Equação 5.11 resulta do modelo dado pela Equação 5.10 ajustado aos pontos experimentais de $k_L a$ em função de U_{GR} . A Figura 5.19 ilustra o modelo ajustado aos pontos experimentais.

$$k_L a = (1,33 \pm 0,75) \cdot U_{GS}^{1,05 \pm 0,19} \quad r^2 = 0,96 \quad (5.11)$$

Figura 5.19–Ajuste do modelo (Equação 5.10) aos valores experimentais de $k_L a$ e U_{GR} .

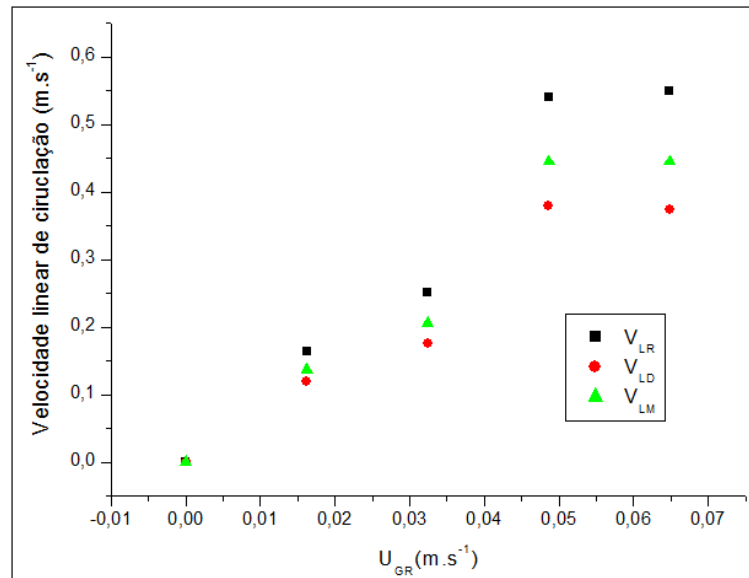


Fonte: Própria

A partir dos dados obtidos de retenção gasosa pode-se estimar valores da velocidade linear na região de subida (V_{LR}) pela Equação 3.14, da velocidade linear na região de descida (V_{LD}) pela Equação 3.15 e da velocidade linear média (V_{Lm}) pela Equação 3.16. Esses valores estão ilustrados na Figura 5.20 em função de U_{GR} . A Figura-5.21 ilustra

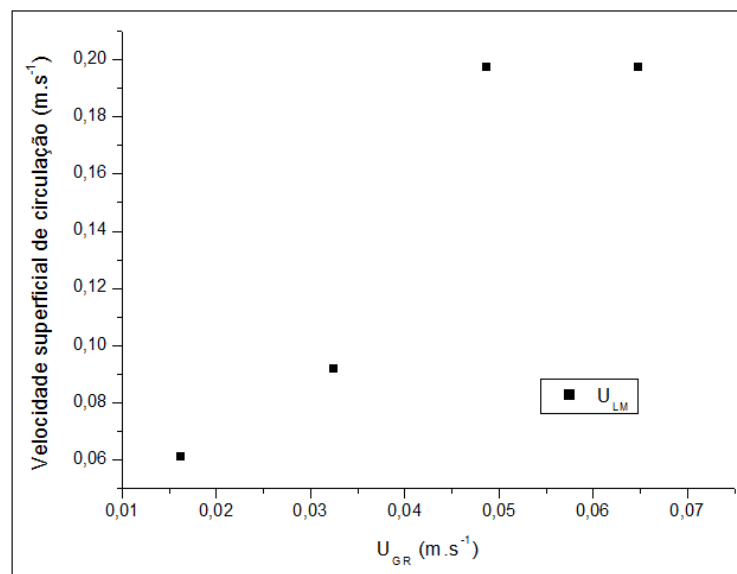
a velocidade média de circulação de líquido (U_{LM}) em função da velocidade superficial do gás (U_{GR}).

Figura 5.20 – Velocidade linear média de líquido (V_L), velocidade linear de líquido na região de subida (V_{LR}) e velocidade linear de líquido na região de descida (V_{LD}) em função da velocidade superficial do gás (U_{GR}).



Fonte: Própria

Figura 5.21 – Velocidade de circulação média de líquido (U_{LM}) em função da velocidade superficial do gás (U_{GR}).



Fonte: Própria

Adquiridos os dados da temperatura, pressão, pH e porcentagem de oxigênio dissolvido nos ensaios de hidrodinâmica e de transferência de oxigênio em função da velocidade superficial do gás na faixa de 0 a 0,687 m.s⁻¹, pode-se calcular as retenções gasosas global e parciais, determinar os tempos de mistura e de circulação e estimar valores de k_La , da velocidade linear de circulação e da velocidade de circulação da fase líquida.

De posse dos valores obtidos pode-se validar o sistema de aquisição de dados e o software supervisor comparando os dados do presente trabalho com valores da literatura.

De acordo com a literatura, em sistemas bifásicos ar-água com valores de U_{GR} próximos a 0,08 m.s⁻¹, valores de k_La foram obtidos em torno de 0,058 s⁻¹ por Cerri (2009) e de até 0,072 s⁻¹ por Thomasi (2010). Shamlou et al., (1994) estimaram valores inferiores a 0,030 s⁻¹ em sistema bifásico com atividade biológica. No presente trabalho foram obtidos valores de até 0,078 s⁻¹ para sistema ar-água a 28°C, dentro de uma faixa de literatura.

A retenção gasosa global (ϵ_G) determinada neste trabalho foi de 0 a 14,5% para U_{GR} na faixa de 0 a 0,08 m.s⁻¹. Na mesma faixa, Cerri (2009) e Thomasi (2010) determinaram valores na de 0 a 12%, enquanto Choi et al. (1996) obtiveram valores de 0 a 18%. O menor valor determinado na mesma faixa de U_{GR} foi citado por Merchuk et al. (1997) em torno de 8%, mas, neste caso o sistema estudado foi utilizando ar-água do mar. Blazej et al., (2004) determinaram valores de ϵ_G em torno de 12% para U_{GR} próximo a 0,04 m.s⁻¹.

Em relação às retenções parciais ϵ_R e ϵ_D Shamlou et al. (1994) registraram valores inferiores a 10% para U_{GR} próximo de 0,08 m.s⁻¹, enquanto que no presente trabalho os valores de ϵ_R e ϵ_D foram de 19 e 11%, respectivamente. Entretanto, no biorreator utilizado por Shamlou et al. (1994) a relação de áreas (A_D/A_R) era de 0,83 e no presente trabalho esse parâmetro geométrico é igual a 1,34.

Para U_{GR} próximo a 0,08 m.s⁻¹ Merchuk et al. (1997) obtiveram o tempo de mistura (t_m) inferior a 50 s, Choi et al. (1996) determinaram valores entre 20 a 30 s. Cerri (2009) obteve valores de t_m em torno de 13 s, Futiwaki (2007) determinou valores entre 8 a 12 s, enquanto Gouveia et al., (2003) obteve valores inferiores a 12,5 s. No presente trabalho foram obtidos valores entre 6 a 9 s.

Cerri (2010) determinou tempo de circulação (t_c) em torno de 3 s para U_{GR} próximo de 0,08 m.s⁻¹. Já no presente trabalho estabeleceu em torno de 2 s.

Notam-se semelhanças nos valores determinados nos trabalhos de Futiwaki (2007) e Cerri (2009), pois em ambos os trabalhos foram utilizados o mesmo biorreator. Semelhanças também são encontradas em relação ao valor de k_La estimado no presente

trabalho com os valores apresentados por Thomasi (2010) também por tratar-se do mesmo biorreator.

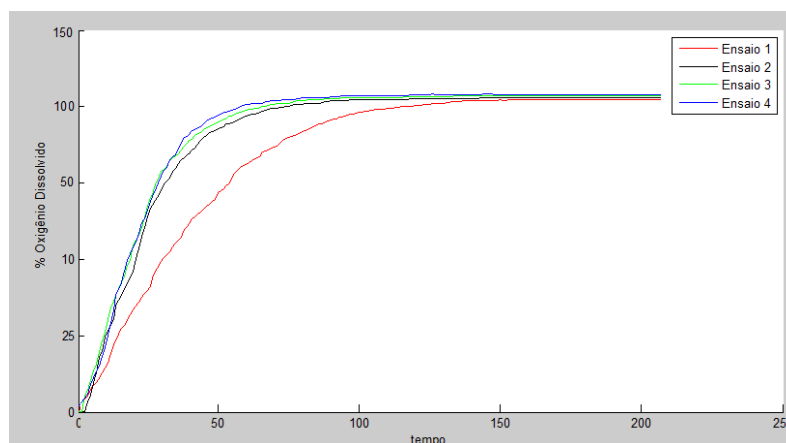
As discrepâncias dos valores de tempo de mistura (t_m) apresentados nos trabalhos discutidos anteriormente e no presente trabalho devem-se as diferenças de geometria do biorreator, do tipo de aspersor e ainda do tipo de fluido estudados por alguns autores. Entretanto esses valores permanecem na mesma ordem de grandeza dos apresentados por Cerri (2009) e Futiwaki (2007) e Gouveia et al., (2003), por se tratar de biorreatores de geometrias semelhantes.

Em virtude dos parâmetros de desempenho avaliados no presente trabalho obtidos a partir de informações disponibilizadas pelo sistema de aquisição de dados proposto apresentarem faixas de valores próximas à de trabalhos encontrados na literatura, constata-se a validade do sistema desenvolvido e das metodologias de determinação implementadas.

5.4. Modelagem da planta e síntese do controlador

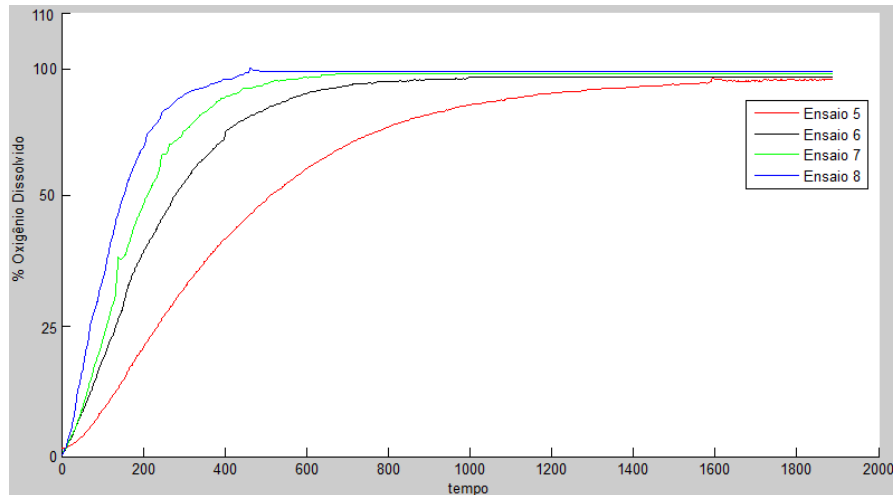
O mapeamento do parâmetro τ da função de transferência de 1° ordem foi obtido aplicando entradas do tipo degrau unitário de porcentagem de oxigênio dissolvido nas vazões volumétricas de alimentação de 5, 10, 15 e 20 ($L_{ar} \cdot \text{min}^{-1}$) e também variando a concentração do glicerol na fase líquida de 0 ($\%V_{glic} \cdot V_{reator}^{-1}$) água destilada até 60 ($\%V_{glic} \cdot V_{reator}^{-1}$). As respostas do sistema em função do tempo estão ilustradas nas Figuras 5.23 e 5.24 enquanto os valores da constante de tempo τ são apresentados na Tabela 5.7

Figura 5.21–Curva de resposta utilizando água destilada. Ensaio 1 a V_{in} igual a $5L \cdot \text{min}^{-1}$, ensaio 2 a V_{in} igual a $10L \cdot \text{min}^{-1}$, ensaio 3 a V_{in} igual a $15L \cdot \text{min}^{-1}$ e ensaio 4 a V_{in} igual a $20L \cdot \text{min}^{-1}$



Fonte: Própria

Figura 5.22–Curva de resposta utilizando agua destilada com 60% de glicerol. Ensaio 5 a V_{in} igual a $5L.min^{-1}$, ensaio 6 a V_{in} igual a $10L.min^{-1}$, ensaio 7 a V_{in} igual a $15L.min^{-1}$ e ensaio 8 a V_{in} igual a $20L.min^{-1}$



Fonte: Própria

Tabela 5.7–Dados obtidos da constante de tempo em cada ensaio degrau:

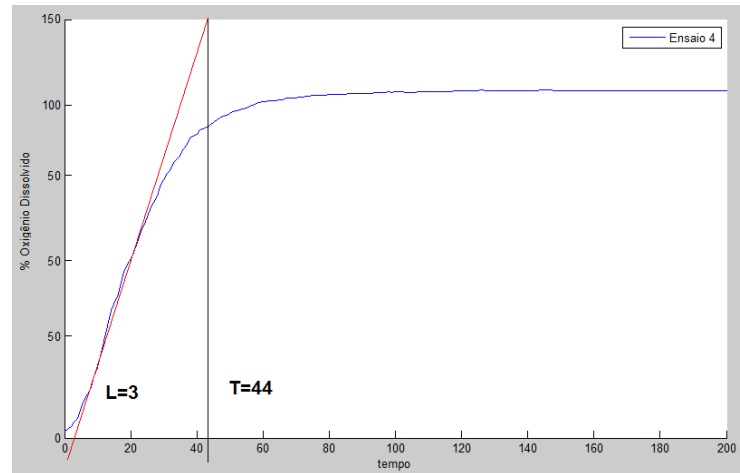
Ensaio	V_{in} ($L.min^{-1}$)	Fase líquida ($V.V^{-1}$)	Constante e tempo (τ)
Ensaio 1	5	Água destilada	43
Ensaio 2	10	Água destilada	27
Ensaio 3	15	Água destilada	26
Ensaio 4	20	Água destilada	25
Ensaio 5	5	Água destilada com 60% de glicerol	450
Ensaio 6	10	Água destilada com 60% de glicerol	249
Ensaio 7	15	Água destilada com 60% de glicerol	190
Ensaio 8	20	Água destilada com 60% de glicerol	193

Fonte: Própria

Os parâmetros do controlador PI foram determinados através da metodologia de Ziegler-Nichols (Ogata, 2007) e também a partir da metodologia de controladores robustos apresentada por Fonseca, 2012.

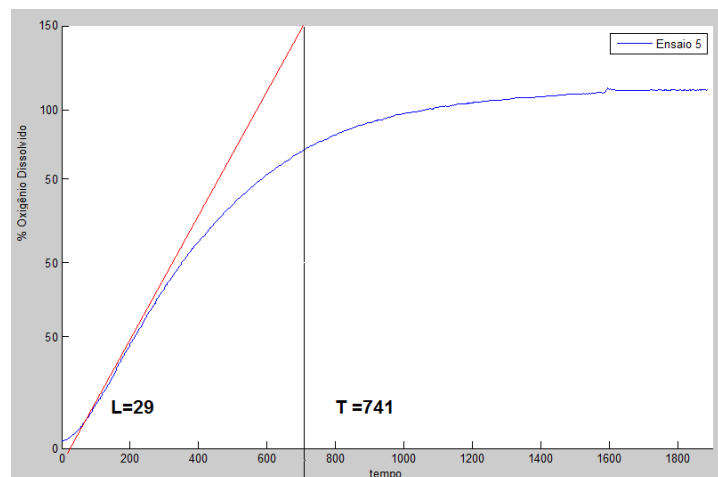
No primeiro método foram obtidos os parâmetros L e T do sistema para dinâmica mais rápida (ensaio 4) e mais lenta (ensaio 5), os valores de k_p e T_i de cada caso foi obtido de acordo com a tabela 4.1 apresentada no tópico materiais e métodos. As Figuras 5.23 e 5.24 ilustram como foram obtidos os parâmetros L e T .

Figura 5.23—Estimativa dos valores de L e T diante da dinâmica mais rápida do sistema. A partir dos valores de L e T foram calculados os valores de k_p e T_i de acordo com a metodologia de Ziegler-Nichols. Para $k_p=14,85\%$ e $T_i=6,66\text{ s}$



Fonte: Própria

Figura 5.24—Estimativa dos valores de L e T diante da dinâmica mais lenta do sistema. A partir dos valores de L e T foram calculados os valores de k_p e T_i de acordo com a metodologia de Ziegler-Nichols. Para $k_p=22,5\%$ e $T_i=96,66\text{ s}$



Fonte: Própria

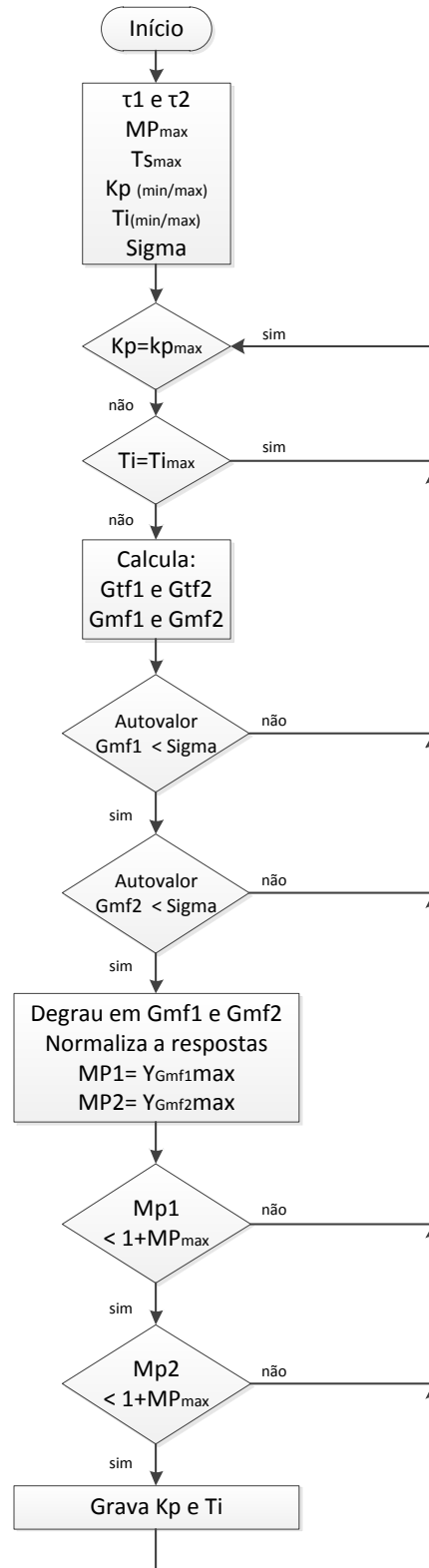
A unidade da entrada degrau é porcentagem de oxigênio dissolvido OD% enquanto, o set-point do da malha de controle é concentração mássica de oxigênio dissolvido em $g_{O_2} \cdot L^{-1}$. A relação de unidades para estabelecer o valor de k_p corretamente é apresentada abaixo:

$$100(\%_{od}) = 0,00748 \left(\frac{g_{O_2}}{L} \right) \quad \therefore FC = \left(\frac{0,209}{0,00748} \right) \cdot k_p = 27,9785 \cdot k_p \quad (5.12)$$

O parâmetro T_i obtido pelo método de Ziegler–Nichols é dado em segundos, enquanto na simulação foi utilizado em horas.

Os valores dos parâmetros do controlador PI obtidos pela segunda metodologia foram determinados utilizando o algoritmo buscador desenvolvido no presente trabalho. O objetivo desse algoritmo foi calcular valores para k_p e T_i que satisfaçam os índices de desempenho de MP% e o t_s para uma função transferência de segunda ordem obtida a partir da função transferência do sistema em malha fechada incluído a função transferência do controlador PI. A Figura 5.25 apresenta a o fluxograma do algoritmo buscador.

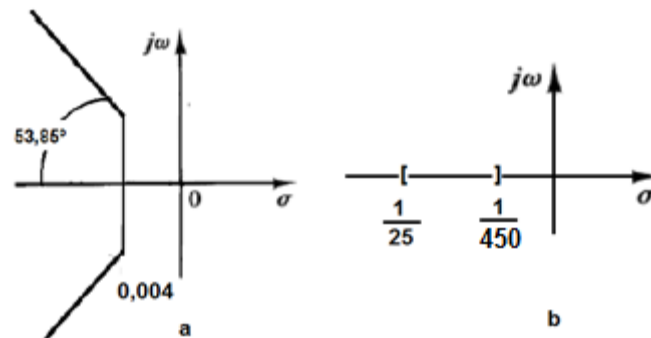
Figura 5.25–Fluxograma do algoritmo buscador utilizado para calcular os parâmetros k_p e T_i .



Fonte: Própria

A faixa de respostas que satisfaz o MP% de 10% e o t_s igual a 1000 segundos do sistema de segunda ordem esta ilustrado na Figura 5.26 (a). Enquanto a Figura 5.26(b) ilustra os limites de robustez que o controlador deve atender na ação de controle.

Figura 5.26-A Figura (a) ilustra a região do plano complexo em que são satisfeitas as especificações de máximo sobressinal (MP%) igual a 10% e tempo de acomodação (t_s) igual a 1000 s. A Figura (b) ilustra os limites de robustez do sistema.



Fonte: Própria

A tabela 5.8 apresenta os valores de k_p e T_i obtidos pelo método de Ziegler-Nichols e pelo algoritmo buscador. Os valores de k_p apresentados já foram corrigidos em relação unidades de acordo com a Equação 5.12.

Tabela 5.8–Parâmetros do controlador PI obtidos pelos dois métodos utilizados:

Método	k_p	T_i (h)
Z-N para ensaio 4	415,48	0,00185
Z-N para ensaio 5	632,46	0,02685
Robusto para τ_1 25 (s) e τ_2 450 s	84	0.0836

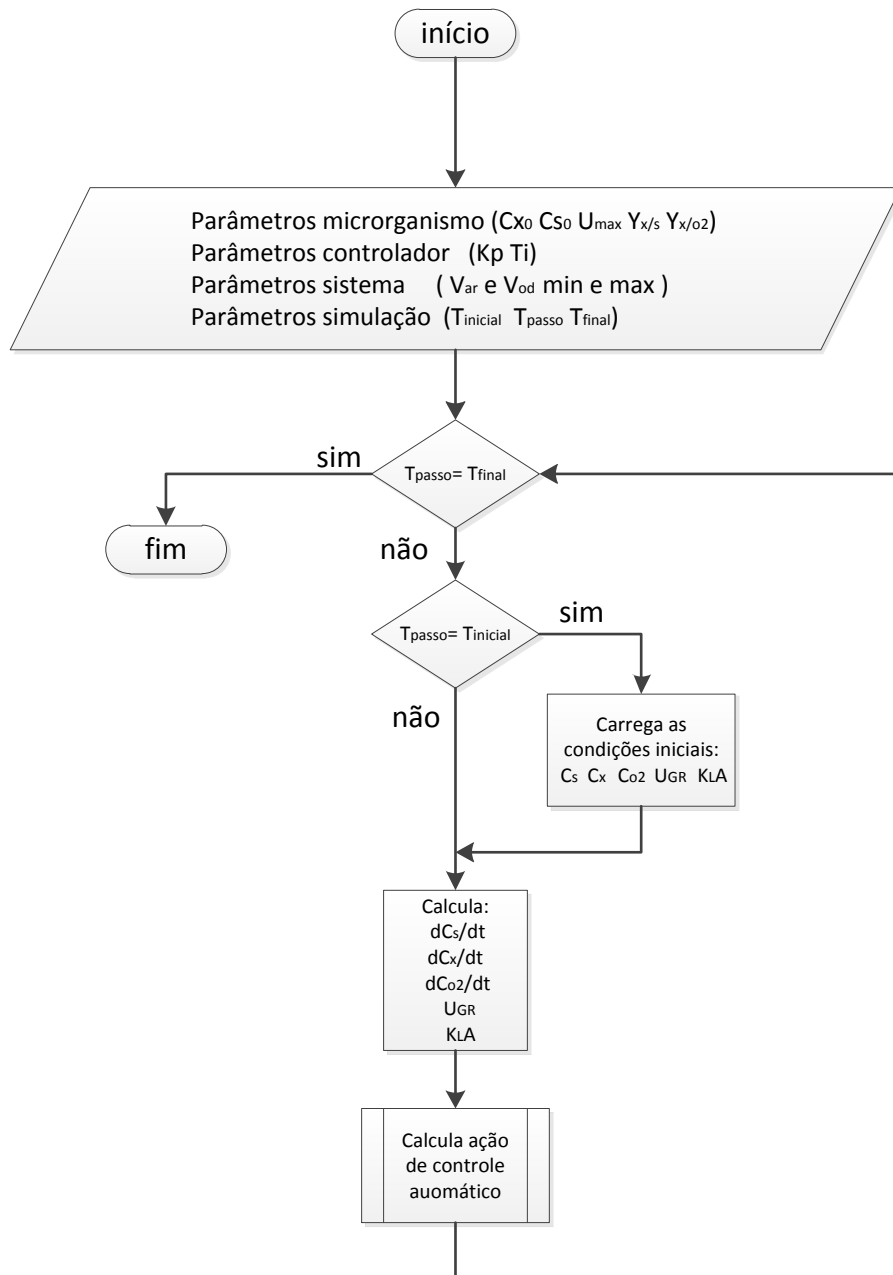
Fonte: Própria

5.5. Estratégias de controle da concentração de oxigênio dissolvido durante um cultivo simulado de *S. clavuligerus*

Para avaliar a influência do controle automático na concentração de oxigênio dissolvido (C_{O_2}) foi elaborado primeiramente um algoritmo para simular o cultivo aeróbio de *S. clavuligerus* para diferentes vazões de alimentação de ar, com base no equacionamento

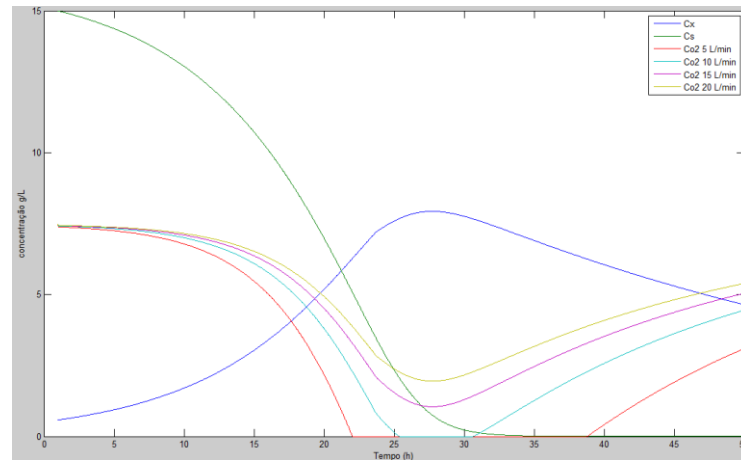
do processo apresentado no item 4.2.6. A primeira simulação foi realizada com o sistema em malha aberta de acordo com fluxograma ilustrado na Figura 5.27. A variação da concentração de oxigênio dissolvido foi obtida nas quatro condições operacionais. A Figura 5.28 ilustra os perfis de C_{O_2} em função do tempo para as diferentes vazões de alimentação a de ar.

Figura 5.27 - Fluxograma do algoritmo utilizado para simulação do cultivo aeróbio de *S. clavuligerus* sem controle da C_{O_2}



Fonte: Própria

Figura 5.28 - Simulação de C_{O_2} ao longo de um cultivo aeróbio de *S. clavuligerus* sob diferentes vazões de alimentação de ar (Q_{ar}). Curva em vermelho: $Q_{ar}=5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, curva azul claro: $Q_{ar}=10 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, curva roxa: $Q_{ar}=15 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ e curva amarela: $Q_{ar}=20 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$.



Fonte: Própria

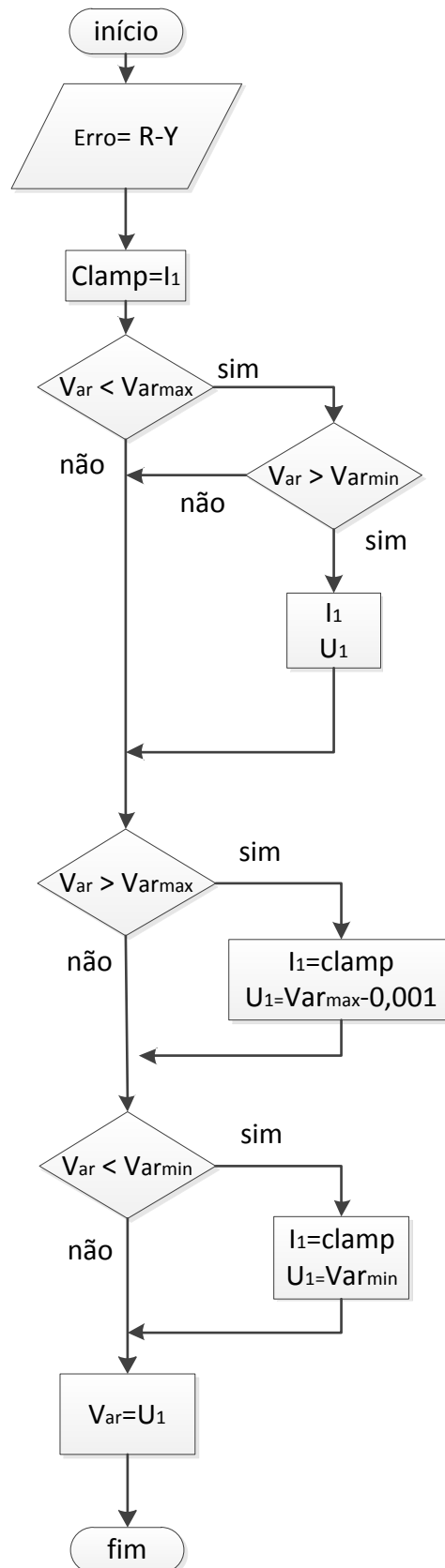
A Figura 5.29 ilustra o fluxograma do algoritmo referente a primeira estratégia de controle (variando Q_{ar}) e a Figura 5.30 apresenta o fluxograma da segunda estratégia (enriquecendo a vazão de alimentação com O_2 puro). Os valores dos parâmetros utilizados na simulação são apresentados na Tabela 5.9.

Tabela 5.9 – Parâmetros utilizados na simulação do cultivo aeróbio de *S. clavuligerus*

Parâmetros	
$C_{s_0} \text{ (g}_s\cdot\text{L}^{-1}\text{)}$	15,0
$C_{x_0} \text{ (g}_x\cdot\text{L}^{-1}\text{)}$	0,58
$K_s \text{ (g}_s\cdot\text{L}^{-1}\text{)}$	3,48
$Q_{O_2\text{medio}} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	0,0256
$Q_{O_2\text{max}} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	0,20
$k_d \text{ (h}^{-1}\text{)}$	0,0369
$\mu_{\text{max}} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	0,207
$m \text{ (h}^{-1}\text{)}$	0,038
$Y_{x/s} \text{ (g}_x\cdot\text{g}_s^{-1}\text{)}$	0,574
$Y_{o_2} \text{ (-)}$	0,209
$C_{O_2s} \text{ (g}_{o_2}\cdot\text{L}^{-1}\text{)}$	$He^*y_{O_2}$
Delta T (h)	100/3600
tempo final (h)	50
“set-point”	$C_{O_2}=0,002 \text{ g}_{o_2}\cdot\text{L}^{-1}$

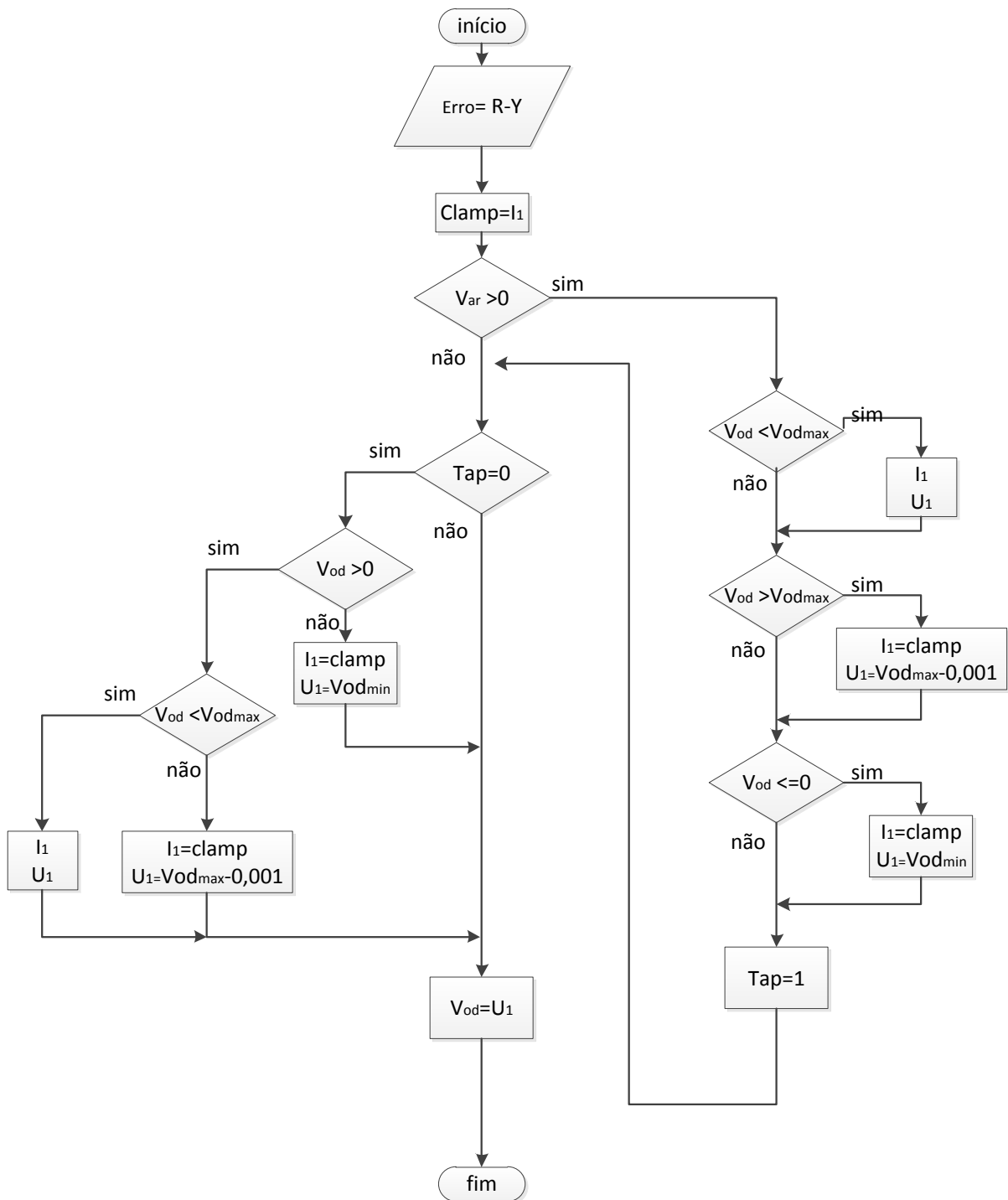
Fonte: Própria

Figura 5.29 - Fluxograma da estratégia primeira estratégia de controle (variando Q_{ar})



Fonte: Própria

Figura 5.30 - Fluxograma da segunda estratégia controle (enriquecendo a vazão de alimentação com O_2 puro).

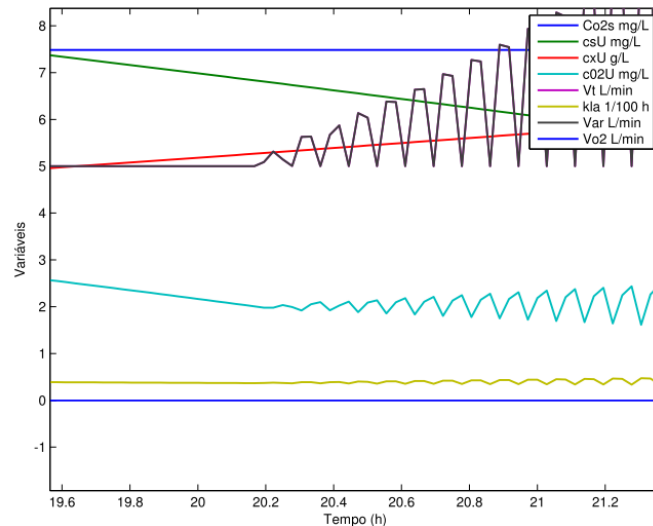


Fonte: Própria

Obtidos os perfis de C_{O_2} ($g_{O_2} \cdot L^{-1}$) para diferentes vazões de alimentação de ar (Q_{ar}), a próxima etapa foi simular o sistema implementando a primeira estratégia de controle (variando Q_{ar}). Utilizando os valores de k_p e T_i na função transferência realimentada, foi obtido o perfil de C_{O_2} com o controle atuando somente sobre Q_{ar} . A Figura 5.31 ilustra o

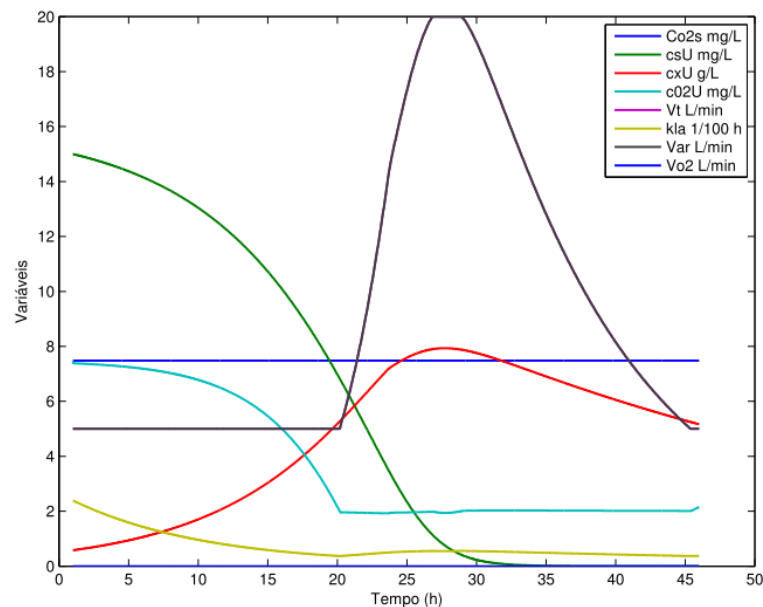
comportamento de C_{O_2} utilizando o k_p e T_i obtidos em função de τ_1 , Figura 5.32 ilustra o comportamento de C_{O_2} utilizando o k_p e T_i obtidos em função de τ_2 e a Figura 5.33 ilustra o comportamento de C_{O_2} para k_p e T_i obtidos a partir da teoria de controlador robusto.

Figura 5.31 - Simulação baseada na primeira estratégia de controle utilizando o controlador PI. Os parâmetros K_p e T_i foram obtidos pelo método de Ziegler-Nichols utilizando a curva de resposta do ensaio 4.



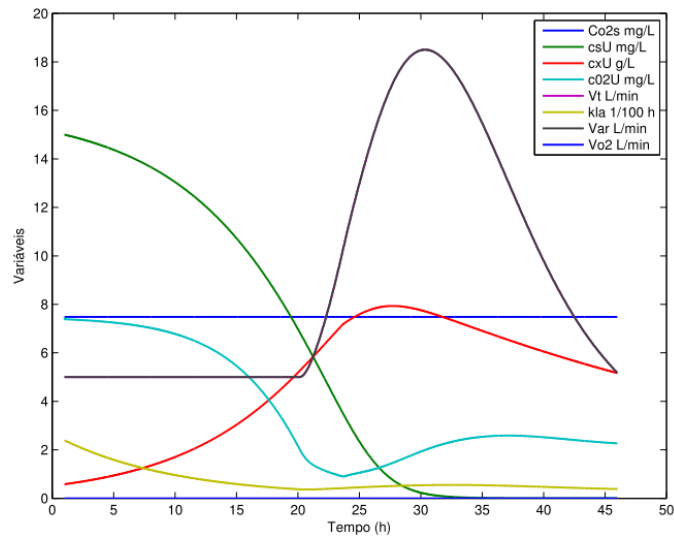
Fonte: Própria

Figura 5.32 - Simulação baseada na primeira estratégia de controle utilizando o controlador PI. Os parâmetros K_p e T_i foram obtidos pelo método de Ziegler-Nichols utilizando a curva de resposta do ensaio 5.



Fonte: Própria

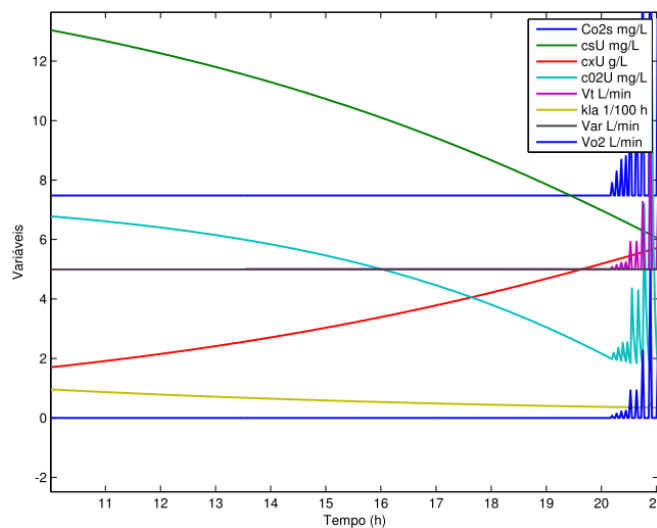
Figura 5.33 - Simulação baseada na primeira estratégia de controle utilizando o controlador PI. Os parâmetros K_p e T_i foram obtidos pelo método Robusto utilizando as constantes de tempo τ_1 e τ_2 .



Fonte: Própria

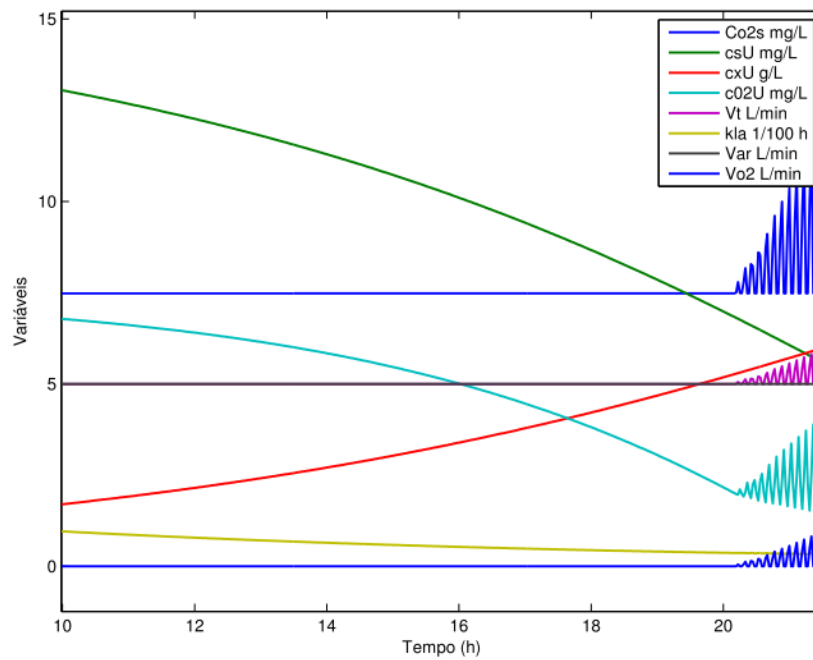
Do mesmo modo, foram realizadas as simulações com base na segunda estratégia de controle (enriquecendo a vazão de alimentação com O_2 puro). Inserindo os mesmos valores de k_p e T_i na função transferência realimentada, obteve-se o perfil da concentração de oxigênio dissolvido com a atuação do controle alterando a composição do gás na entrada do biorreator. A Figura 5.34 ilustra o comportamento da C_{O_2} utilizando o k_p e T_i obtidos em função de τ_1 , a Figura 5.35 em função de τ_2 e a Figura 5.36 ilustra o comportamento do oxigênio para k_p e T_i obtido a partir do controlador robusto.

Figura 5.34 - Simulação baseada na segunda estratégia de controle utilizando o controlador PI. Os parâmetros K_p e T_i foram obtidos pelo método de Ziegler-Nichols utilizando a curva de resposta do ensaio 4.



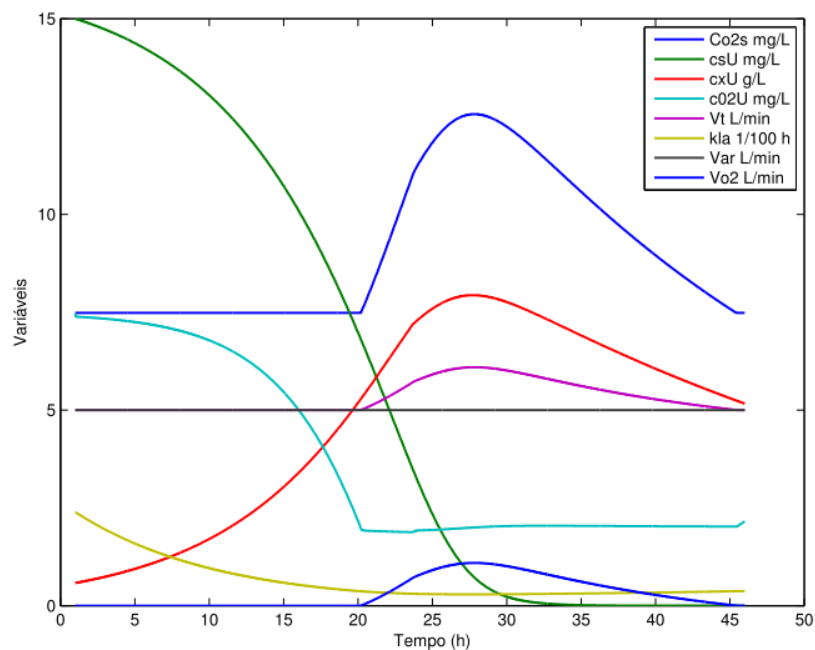
Fonte: Própria

Figura 5.35 - Simulação baseada na segunda estratégia de controle utilizando o controlador PI. Os parâmetros K_p e T_i foram obtidos pelo método de Ziegler-Nichols utilizando a curva de resposta do ensaio 5.



Fonte: Própria

Figura 5.36 - Simulação baseada na segunda estratégia de controle utilizando o controlador PI. Os parâmetros K_p e T_i foram obtidos pelo método Robusto utilizando as constantes de tempo t_1 e t_2 .



Fonte: Própria

Os resultados da simulação possibilitaram avaliar o desempenho das duas estratégias de controle e a influência dos parâmetros k_p e T_i na ação de controle. Ao se avaliar a simulação da primeira estratégia de controle, dos três pares de k_p e T_i obtidos apenas um foi capaz de estabilizar a concentração de oxigênio dissolvido na proximidade do set-point. Inserindo os valores de k_p e T_i obtidos pelo método de Ziegler-Nichols a partir na dinâmica mais rápida (τ_1), observou-se que a ação de controle produziu oscilações divergentes conforme o cultivo avançava, de acordo com o resultado apresentado na Figura 5.31. Utilizando os valores de k_p e T_i obtidos a partir da dinâmica mais lenta (τ_2), a ação de controle manteve a concentração do oxigênio dissolvido na faixa de valor do set-point, como ilustrado na Figura 5.32. O controlador atuou após 20 h do início do cultivo, atingindo 20 L.min⁻¹ em torno de 27 h, saturando a variável manipulada até atingir 30 h e mantendo a concentração de oxigênio dissolvido na proximidade do set-point ao longo do cultivo.

Em relação aos parâmetros k_p e T_i obtidos pelo método de controladores robustos, a ação de controle não foi suficiente para anular o erro entre a referência (set-point) e o valor medido de concentração de oxigênio dissolvido. Pode-se notar na Figura 5.33 que a ação de controle não satura mesmo quando a concentração de oxigênio dissolvido está abaixo do valor de referência, enquanto na Figura 5.32 a concentração de oxigênio não cai abaixo do set-point.

Em contrapartida, os resultados obtidos a partir do enriquecimento de oxigênio utilizando os parâmetros k_p e T_i obtidos pelo método de controladores robustos foi capaz de controlar a concentração de oxigênio dissolvido nas proximidades do set-point. A Figura 5.36 mostra que a ação do controlador iniciou-se próxima às 20 h de cultivo controlando a vazão de alimentação de oxigênio puro até 1 L.min⁻¹, ou seja, os parâmetros do controlador não saturaram a resposta de controle diante da demanda de oxigênio. Os parâmetros K_p e T_i da dinâmica mais rápida (τ_1) também produziram uma ação de controle oscilatória e divergente conforme o cultivo avançava, de acordo com o resultado apresentado na Figura 5.34. O mesmo ocorreu ao se tentar simular o cultivo utilizando os parâmetros k_p e T_i da dinâmica mais lenta (τ_2), como ilustrado na Figura 5.35.

Diante dos resultados simulados descarta-se os parâmetros k_p e T_i obtidos a partir na dinâmica mais rápida (τ_1), pois em todos os casos não conseguiu controlar a concentração de oxigênio dissolvido nas proximidades do set-point. Para a primeira estratégia o melhor resultado foi obtido utilizando os parâmetros k_p e T_i da dinâmica mais lenta (τ_2), o mesmo não aconteceu ao utilizar a segunda estratégia, onde a ação de controle foi também oscilatória.

Ao se avaliar os parâmetros k_p e T_i obtidos pelo método de Ziegler-Nichols, nota-se que o k_p da τ_2 é 1.5 vezes maior que o k_p calculado para τ_1 , enquanto que o T_i da

τ_2 é 14 vezes maior ao T_i calculado para τ_1 , Comparando-se os parâmetros k_p e T_i obtidos pelo método de Ziegler-Nichols da dinâmica mais lenta (τ_2), nota-se que o k_p da τ_2 é cerca de sete vezes maior que o k_p obtido pelo algoritmo buscado, o mesmo acontece com o valor de T_i da τ_2 que é cerca de três vezes menor. A partir da Tabela 3.2 observa-se que as diferenças de k_p e T_i podem levar o sistema a instabilidade, no caso da τ_1 , ou que a resposta do sistema seja muito lenta como no caso da resposta do controlador de acordo com a Figura 5.33.

6. Conclusões

O sistema de aquisição e tratamento de dados proposto e implementado possibilitou a obtenção de valores de pH, pressão, temperatura e concentração de oxigênio dissolvido com espaços de tempo ajustáveis de forma a permitir a determinação de importantes parâmetros de desempenho de biorreatores pneumáticos.

As metodologias propostas para obtenção dos parâmetros tempo de mistura (t_m), tempo de circulação (t_c), retenções gasosas (ε_G , ε_R e ε_D) e o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) foram utilizadas com sucesso, utilizando as informações geradas pelo sistema de aquisição de dados e tratadas no software supervisorio propostos, o que permitiu avaliar o desempenho hidrodinâmico e de transferência de massa do biorreator pneumático estudado.

Os resultados obtidos em termos dos parâmetros de desempenho, foram comparáveis àqueles apresentados na literatura, o que valida o sistema proposto. Desse ponto de vista, o sistema de aquisição de dados foi compatível e o software possibilitou traduzir as informações obtidas com a instrumentação eletrônica, gravá-las em planilha Excel para posteriormente serem analisadas.

Com relação ao desenvolvimento do software, vários problemas referentes à aquisição de dados ocorreram, problemas devidos à taxa de gravação dos dados, pois foi configurado um modo de gravação o qual necessitava abrir e fechar um arquivo cada iteração do programa, devido aos atrasos nessa execução, muitas vezes ocorreram dos dados do arquivo estarem corrompidos. A instrumentação eletrônica foi facilmente configurada, no entanto, ruídos induzidos na linha de energia elétrica produziram ruídos nas medidas realizadas. Embora esse efeito não tenha sido constante, muitas vezes foi necessário refazer os ensaios devido a medidas ruidosas. As medidas de temperatura foram fortemente afetadas ruído induzidos no cabeamento, Nesse caso, os sinais elétricos fornecidos pelos sensores são da ordem de milivolts e, devido ao comprimento dos cabos que os interligam, níveis altíssimos de ruídos nas medidas foi detectado, entretanto, os sinais de temperatura foram somente utilizados para detectar a velocidade de circulação, a partir de ensaios do tipo pulso de temperatura.

Os valores dos parâmetros k_p e T_i foram obtidos por dois métodos, sendo que pelo primeiro obteve-se dois pares de dados, um relacionado com a constante de tempo τ_1 do sistema mais rápido e com τ_2 do sistema mais lento. Utilizando os valores desses parâmetros na simulação de um cultivo aeróbio e a partir do controle da vazão de alimentação, a ação de controle conseguiu manter a concentração de oxigênio dissolvido na região do set-point. No caso da ação de controle por enriquecimento de oxigênio a saída do sistema foi oscilatória devido aos altos valores de k_p e T_i .

Utilizando os valores de k_p e T_i obtidos pelo método de controladores robustos, pode-se observar que a ação de controle no caso da primeira estratégia teve um desempenho ruim comparado ao desempenho obtido utilizando os parâmetros do controlador obtido a partir da dinâmica mais lenta τ_2 . Entretanto, no caso da segunda estratégia, o controlador foi capaz de manter a concentração de oxigênio dissolvido ao longo do cultivo.

A simulação do crescimento *S. clavuligerus* possibilitou avaliar o comportamento da concentração de oxigênio dissolvido com a malha de controle automático e estudar as duas estratégias de controle.

Uma sugestão para continuidade desse trabalho seria aprofundar no estudo sobre controladores visando identificar a melhor metodologia para calcular os parâmetros do controlador, avaliar a implementação de sistemas de controle multivariáveis visando de otimizar o processo de fermentação submersa em biorreatores pneumático, diante das influências das propriedades reológicas na transferência de massa, calor e movimento durante o processo de fermentação. Realizar cultivos utilizando as condições citadas na Tabela 5.9, a fim de se verificar o comportamento da concentração de oxigênio dissolvido, uma vez que a modelagem matemática utilizada na simulação não envolve todas as considerações do processo real.

Referências Bibliográficas

AIBA, S.; HUMPHREY, A, E; MILLIS, N, F. **Biochemical engineering**. 2 ed, Tóquio: University of Tokyo Press, 1973.

BAILEY, J, E.; OLLIS, D, F. **Biochemical Engineering**. New York: MCGraw Hill, 1986.

BADINO, A. C. **Reologia, consumo de potência e transferência de oxigênio em cultivos descontínuos de *Aspergillus awamori* NRRL 3112**. São Paulo: 1997, Usp.

BALBINOT, A.; BRUSAMARELLO, J, V. **Instrumentação e Fundamentos de Medidas**, Rio de Janeiro: LTC livros técnicos e científicos editora S.A 2006.

BAPTISTA A, NETO. et al. Phenomenological model of the clavulanic acid production process utilizing *Streptomyces clavuligerus*. **Brazilian Journal Chemical Engineering**, São Paulo,v. 17, n.4,p.7, 2000.

BLAZEJ, M.; KISA, M.; MARKOS, J. **Scale influence on the hydrodynamics of an internal loop airlift reactor**. Slovak Republic: Slovak University of Technology, 2004.

BLENKE, H: Loop reactors. In: GHOSE T.K.; FIECHTER, A.; BLAKEBROUGH, N (Ed.): **Advances in biochemical engineering**. New York: Springer- Verlag, 1979 p.13:121.

CAMPESI, A. **Avaliação da velocidade de cisalhamento média em biorreator convencional tipo tanque agitado e aerado**. São Carlos: UFSCAR, 2007.

CASSIANO, L, C, M, F. **Avaliação do Desempenho de Biorreator “Airlift” para produção de ácido clavulânico por *Streptomyces clavuligerus***. São Carlos: UFSCAR, 2003.

CERRI, M, O. **Hidrodinâmica e transferência de oxigênio em três biorreatores airlift de circulação interna geometricamente semelhantes**. São Carlos: UFSCAR, 2009.

CERRI, M, O. **Avaliação de transferência de calor e massa de um biorreator airlift de circulação interna de bancada para a produção de ácido clavulânico**. São Carlos: UFSCAR, 2005.

CHAKRAVARTY, M. et al. Liquid velocity in a gás-lift column. **Indian Chemical Engineer**. v.16 p.17, 1974.

CHISTI, M, Y. **Airlift Bioreactors**, Elsevier, New York: 1989.

CHISTI, M, Y. **Improve the Performance of Airlift Reactors**. Ontario: 1993.

CHOI, K, H.; CHISTI, Y.; MOO-YOUNG, Y. **Comparative evaluation of hydrodynamic and gas-liquid mass transfer characteristics in bubble column and airlift slurry reactors**. Canada: Department of Chemical Engineering. University of Waterloo. 1996.

CUNHA, R. L. R. **Aquisição de dados compactDAQ**. Net, mar. 2008. Seção leitura disponível em:<<http://www.sabereletronica.com.br/secoes/leitura/664>> Acesso em 02 mar 2010.

DORF, R, C. BISHOP, R. H. **Modern Control Systems**. Prentice Hall, Menlo Park, 2000.

FONSECA, F, R. **Sistema de controle de fluxo, temperatura e umidade relativa de ar para processos de fermentação em estado sólido**. São Carlos: USP, 2012.

FERNANDES, L, S, L. **Controle feedback de nível em sensor de imagem aplicado ao equipamento misturador-decantador a inversão de fases** Natal: UFRN, 2009.

GAVRILESCU, M.; ROMAN, R, V. Performance of Airlift Bioreactor in the cultivation of Some Antibiotic Production Microorganism. **Acta Biotechnol.** v.18, p. 201-209, 1998.

GOUVEIA, E, R. et al. The effects geometry and operations conditions on gás holdup, liquid circulation and mass transfer in na airlift reactor. São Paulo: **Brazilian Journal of Chemical Engineering.** v.20, 2003.

GOUVEIA, E, R. et al. Studies on the rheology and oxygen mass transfer in the clavulanic acid production by *Streptomyces clavuligerus*. São Paulo: **Brazilian Journal of Chemical Engineering.** v.17, 2000.

JANTZEN, J. **Foundations of Fuzzy Control**. England: Ed. John Wiley & Son Ltd, c.5 p.81 Chichester, , 2007.

LISS, R. A. **Advances in biotechnological process** 1. New York: p67-95, 1983.

LIU, T.; MIURA, et al. Scale-up of L-lactic acid production by mutant strain *Rhizopus* SP MK-96-1196 from 0,003 m³ to 5 m³ in bioreactors. **J. Bioscience Bioengineering.** v.101, p.9-12, 2006.

MARQUARDT, D, W. **An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters**. Society for Industrial and Applied Mathematics, v.11, p.431-441, 1963.

MELO, C, R. **Controle e instrumentação de sistemas de secagem de madeira na indústria moveleira.** Florianópolis: UFSC, 2005.

MERCHUK, J. C. et al. **Studies of mixing in a concentric tube airlift bioreactor with different spargers.** Spain: Department of Chemical Engineering. University of Almeria, 1997

MIGNONE, C, F.; ERTOLA, R, J. Measurement of Oxygen transfer Coefficient under Growth Conditions by Dynamic Model Moment Analysis. **J. Chemical Technology Biotechnology.** V. 34B p. 121-126, 1994.

MIURA, S. et al. Optimization and Scale-up of L-lactic acid fermentation by mutant strain *Rhizopus* sp MK-96-1196 in Airlift bioreactors. **J. Bioscience Bioengineering.** v. 96, p. 65-69, 2003.

MOTA NETO, J. **Controle simultâneo de temperatura e estequiometria aplicado em um secador vertical de revestimento ceramic alimentado com gás natural.** Porto Alegre: UFRGS, 2008.

OGATA, K. **Modern Control Engineering.** Prentice Hall, Upper Saddle River, 1997.

OLIVEIRA, A, V. et al. **Sistemas de Dinâmicos Teoria e laboratório.EESC-USP,** São Carlos: USP, 2004.

OLIVEIRA, A, V. et al. **Sistemas de controle, aulas de laboratório.EESC-USP.** São Carlos: USP, 2005.

SHAMLOU, P, A. et al. **Volumetric mass transfer coefficient in concentric- tube airlift bioreactors**. London: University College London,1994.

REIS B, G. **Simulação e controle de produção de levedura**. São Carlos: UFscar, 2009.

ROSA, J, C. et al. Influence of dissolved oxygen and shear conditions on clavulanic acid production by *Streptomyces clavuligerus*. **Eng. Bioprocess Biosystems**. DOI 10.1007/s00449-004-0396-9, 2004.

ROSSI, M, J. **Tecnologia para produção de inoculantes de fungos ectomicorrizicos utilizando cultivo submerso em biorreator AirLift**. Florianópolis: UFSC, 2006.

SALES, A, J. **Desenvolvimento de modelos determinístico dinâmico e híbrido neural para reatores multifasicos Airlift**, Campinas: UNICAMP, 2002.

SCHMIDELL, W. **Agitação e Aeração em Biorreatores**. São Paulo: Biotecnologia Industrial, Engenharia Bioquímica, v. 2, c.14, Ed. Edgard Blücher , 2001

SIEGEL, H, M.; ROBINSON, C, W.; Applications of Airlift Gas-Liquid- Solid Reactors in Biotechnology. **Chemical engineering Science**, v.47, p. 3215-3229, 1992.

SRIVASTAVA, P.; KUNDU, S. Studies on Cephalosporin C Production in an Airlift Reactor using different Growth modes of *Cephalosporium acremonium*. **Process. Biochemistry**. v.34, p.329-333, 1999.

SOUSA JR, J, R. **Aplicação da lógica nebulosa (“fuzzy”) no controle de reatores bioquímicos para a produção de cefalosporina C em regime de batelada alimentada.** São Carlos: UFSCAR, 1999.

SHULER, M, L.; KARGI, F. **Bioprocess Engineering-** Basic Concepts. Prentice Hall, 1992.

THOMASI, S, S. **Avaliação de parâmetros de desempenho de três modelos de biorreatores pneumáticos de bancada.** São Carlos: UFSCAR, 2010.

VELOSO, A. C. A.; **Optimização de Estratégias de alimentação para a identificação de Parâmetros de um modelo de *E.coli*. Utilização do modelo em monitorização e controle** ,Portugal: universidade Minho, 2006.

WANG D, I, C.; HATCH R, T.; CUVES, C. **Engineering Aspects of Single-Cell Protein Production From Hydrocarbon Substrates: The Airlift Fermentor.** Moscow: Petroleum Congress, p.149, 1971.

WONGSUCHOTO, P. PAVASANT, P. **Internal liquid circulation in annulus sparged internal loop airlift contactors.** Thailand: University Bangkok, 2003.

7. Anexos

Algoritmo 1: Buscador (MatLab)

```

clc
clear all
close all

Kp=1;
Ti=1;
G1=tf(1, [25/3600 1]);%função transferencia planta mais rapida
G2=tf(1, [450/3600 1]);%função transferencia planta mais lenta
cont=0;
Ts=1000/3600;%tempo de estabelecimento
Mp=0.07;% entrada do criterio de sobressinal
ln=-1*((log(Mp))^2);
zetta=ln/(ln-3.1415^2);
Zeta=zetta^0.5;% calcula zeta em função do sobressinal
sigma=4/(2*Zeta*Ts);%tempo de estabelecimento
%% Algoritmo de busca dos parametros do controlador

for Kp=0.6:0.3:3% restrição de busca do ganho kp
    for Ti=1/3600:5/3600:500/3600%restrição de busca do
paramatro Ti(horas)
        %
            cont=cont+1;
            Gtf1=series(tf(Kp*[Ti 1], [Ti 0]), G1);%inserindo a
função transferencia do controlador na planta 1
            Gtf2=series(tf(Kp*[Ti 1], [Ti 0]), G2);%inserindo a
função transferencia do controlador na planta 2
            Gmf1=feedback(Gtf1, 1);% calculando a função
transferencia do sistema realimentado G1
            Gmf2=feedback(Gtf2, 1);% calculando a função
transferencia do sistema realimentado G1

            if real(eig(Gmf1)) < -sigma %verifica se o autovalor
de gmf1 é menor que o valor estabelecido no projeto
                if real(eig(Gmf2))< -sigma%verifica se o autovalor
de gmf2 é menor que o valor estabelecido no projeto

                    Y1=step(Gmf1);% resposta a
pertubação degrau no sistema realimentado gmf1
                    Y2=step(Gmf2);% resposta a
pertubação degrau no sistema realimentado gmf2
                    [x21,x22]=size(Y2);
                    [x11,x12]=size(Y1);
                    Y1=Y1/Y1(x11);% normalização do
vetor de saida gmf1
                    Y2=Y2/Y2(x21);% normalização do
vetor de saida gmf2

```



```

T1=max(Y1);
T2=max(Y2);

    if T1<1+Mp
        if T2<1+Mp
            cont=cont+1
            KpTi(1,cont)=Kp;% grava
os valores dos parametros do controlador que atende os
criterios de projeto
            KpTi(2,cont)=Ti;% grava
os valores dos parametros do controlador que atende os
criterios de projeto
        end
    end
end
end
end
end

```

Algoritmo 2: Simulação da Fermentação (MatLab)

```

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% %simulação de fermentação com controlador PI
%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%clc % limpa dados janela command window
%clear all%limpa os dados da janela workspace
%close all% fecha as janelas de figuras e tabelas
%declaração das variaveis globais
global Vt Co20 Qo2max umax ks kso2 ks1 Yxo2 k UGR
tempo cont Co2s kla kla_mod sinal kd m Yxs Qo2med
sinal=0;% admensional
cont=0;% contador
%kla_mod=0.1;% 1/h
s=0;
%% condicoes iniciais %%
%MICROORGANISMO CITADOS NO TRABALHO
cx0= 0.58;% gx/L      concentração inicial de células
(baptista et al 2000)
umax=0.207;% 1/h      (baptista et al 2000)

```

```

kd=0.0369;% 1/h      constante de morte celular-
dados do streptomyces (baptista et al 2000)
Yxo2=0.855;% gx/gO2  fator de conversão de celular
por oxigenio g/g (baptista et al 2000)
m=0.038;%          coeficeinte de manutenção
celular (baptista et al 2000)
Yxs=0.574;% gx/gs   (baptista et al 2000)
%SUBSTRATO LIMITANTE 1
cs0=15.0;% gs/L    concentração inicial de substrato
limitante 1. A glicose (baptista et al 2000)
ks1=3.48;%g/L     (baptista et al 2000)

%OXIGÊNIO DISSOLVIDO
Qo2max=0.2;%
kso2=1;% mgo2/L
Qo2med=0.4;
He=0.0358;% valor tabelado
Co2s=He*Yxo2;% mgo2/L concentração de saturação de
oxigenio dissolvido
c020=.00747;% mgo2/L  condição inicial da
concentração massica de oxigenio dissolvido

%% BALANCO DE MASSA NO MISTURADOR
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% fluxometro 1 ar
V1=10;
U1max=20;      U1min=5;% limite do fluxometro 1
yo2_1=0.209;   yN2_1=1-yo2_1;% composição do gás do
fluxometro 1
% fluxometro 2
V2=0;
U2max=5;      U2min=0;% limite do fluxometro 2
yo2_2=1;      yN2_2=1-yo2_1;% composição do gás do
fluxometro 2
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% composição do gás saída do misturador
Vt=V1+V2;% L/min vazão volumetrica na entrada do
reator
yo2_3= (V1*yo2_1+V2*yo2_2)/Vt;% fração molar de o2
yN2_3= V1*yN2_1/Vt;% fração molar de N2
%% Parametros do tempo de simulação

```

```

setpoint=.002;%g/L      gramas por litro converter do
gas para g/L
Tspan=100/3600;% h  tempo de integraçãõ (segundos)
horas=46;% h  tempo de fermentaçãõ
i=0;
%% Parametros do controlador obtidos pelos metodos
propostos:

%Ti=0.00185;% metodo Z-N ensaio 4
%Ti=0.02685;% metodo Z-N ensaio 5
Ti=0.0836; % metodo Robusto algoritmo buscador
%kp=415.48;% metodo Z-N ensaio 4
%kp=632,46;% metodo Z-N ensaio 5
kp=84;%          metodo Robusto algoritmo buscador

tau1=25;%constante de tempo 1 dinamica mais rapida
tau2=450;%constante de tempo 2 dinamica mais lenta
G1=tf(1, [tau1/3600 1]);% gera a função transferencia
em malha aberta planta mais rapida
G2=tf(1, [tau2/3600 1]);% gera a função transferenc
em malha aberta planta mais lenta

U1=5;% condição inicial=restrição de vazão minima de
alimentação do fluxometro de ar
U2=0;% condição inicial=restrição de vazão minima de
alimentação do fluxometro de oxigênio
I1=0;I2=0;

for tempo =1:Tspan:horas%% sendo a unidade em horas
    cont=cont+1;% registrado de iteraçãõ
    s=s+1;
    i=i+1;
    if tempo==1% inicializa as condicoes iniciais
        csU=cs0;
        cxU=cx0;
        cO2U=cO20;
        csU_mod=csU;
        cxU_mod=cxU;
        cO2U_mod=cO2U;
    end
    Var(i)=V1;% cria o vetor do valor da vazão
volumetrica do fluxometro de ar
    Vod(i)=V2;% cria o vetor do valor da vazão
volumetrica do fluxometro de ar

```

```

Vt=Var(i)+Vod(i);% define a vazão total
Yn2_3=(Var(i)*yN2_1)/Vt;% define a pressão parcial
der N2 na vazão total
V_t(i)=Vt;      % Cria o vetor da vazão volumetrica
total
Yo2_3=1-Yn2_3; % Define a pressão parcial de N2 na
vazão total
Co2s=He*Yo2_3; % Define a concentração de saturacao
de o2 de acordo com a
                % pressão parcial na vazao total
%%
    %UGR=Vt*3242.54; %%equação de conversão de
L.min(-1) para m/hora
    UGR=Vt/301.59;
    k=0.044*(cxU^1.25); %% correlação do indice de
consistencia com cresciment celular
    kla=0.0463*(UGR.^0.542)*(k.^(-0.679))*3600;%%
equação do kla em função do indice de consistencia
da velocidade superficial na região de subida
    %% modelagem 2
X_mod(cont,:)= [Co2s*1000 csU cxU c02U*1000 Vt kla/100
U1 U2];% qq voltar kla para klamod/10= utilizado para
ugr 3242.42
    [t,xx]=ode113('Crescimento_3',[0
:0.01:Tspan],[csU cxU c02U]);
        csU=xx(length(xx),1);
        cxU=xx(length(xx),2);
        c02U=xx(length(xx),3);
        if c02U <0
            c02U=0;
        end

%% controlador vazão de ar
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%
ERRO=setpoint-xx(:,3);% define o sinal de erro
    Clamp1 = I1;% limita a ação de controle a
partir de um restrição
%         fisica do sistema
%         realiza o incremento do fluxo de ar caso o
valor do fluxometro
%         esteja dentro dos limites fisicos
    if U1 <= U1max%vazão maxima(20 L/min)

```

```

        if U1 >= U1min%vazao minima (0)
            I1 =
kp/Ti*Tspan/3*(ERRO(1)+4*ERRO(2)+ERRO(3))+I1;% modelo
de integração trapezoidal
            U1 = ERRO(3)*kp+I1+5;% acao de
controle
        end
    end
    % limite superior- restrição fisica do
sistema
    if U1 > U1max
        I1 = Clamp1;
        U1 = U1max-0.001;
    end
    % limite inferior- restrição fisica do
sistema
    if U1 < U1min
        I1 = Clamp1;
        U1 = U1min;
    end
    V1 = U1;

% %
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%
% controlador enriquecimento 2
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%

    Clamp2 = I2; % limita a ação de controle
    ERRO2=setpoint-xx(:,3);
    Tap=0;
    if U1 >= 0
        if U2 <= U2max
            I2 =
kp/Ti*Tspan/3*(ERRO2(1)+4*ERRO2(2)+ERRO2(3))+I2;
            U2 = ERRO2(1)*kp+I2;
        end
        if U2 > U2max;
            I2 = Clamp2;
            U2 = U2max-.001;
        end
        if U2 <= 0
            I2 = Clamp2;
            U2 = 0;
        end
    end

```

```

        end
        Tap=1;
    end
    if Tap == 0
        if U2 > 0
            if U2 <= U2max
                I2 =
kp/Ti*Tspan/3*(ERRO2(1)+4*ERRO2(2)+ERRO2(3))+I2;
                U2 = ERRO2(1)*kp+I2;
            else
                I2 = Clamp2;
                U2 = U2max-0.001;
            end
            if U2 <= 0
                I2 = Clamp2;
                U2 = 0;
            end
        end
        end
        U2;
    end
    end

V2 = U2;

end
tempo =1:Tspan:horas;% constroe o vetor do tempo
%% analise dos dados obtidos a partir da segunda
estratégia de controle da malha
cO2S_t=X_mod(:,1);%extrai o vetor da concentração de
oxigenio mg/L
cO2_t=X_mod(:,4);%extrai o vetor da concentração de
oxigenio mg/L
Cs1_t=X_mod(:,2);%extrai o vetor da concentração de
substrato limitante mg/L
cx_t=X_mod(:,3);%extrai o vetor da concentração de
celulas mg/L
Vt_t=X_mod(:,5);%extrai o vetor da vazao total L/min
Var_t=X_mod(:,7);%extrai o vetor da vazao ar L/min
Vo2_t=X_mod(:,8);%extrai o vetor da vazao o2 L/min
kla_t=X_mod(:,6);%extrai de kla (1/h)/10- para
representar na mesma escala
analise_Cx_cs_co2=[cO2_t Cs1_t cx_t ];%tipo de dados
agrupados Cx_cs_co2

```

```

analise_kla_Co2_co2s=[kla_t c02_t c02S_t*1000 ];%tipo
de dados agrupados
analise_kla_vt_var_vo2=[kla_t Vt_t Var_t Vo2_t];%tipo
de dados agrupados vt_var_vo2
% gera figuras%%
figure (1)
grid off
plot( tempo,X_mod,'LineWidth',1.5)
legend('Co2s mg/L','csU mg/L', 'cxU g/L', 'c02U
mg/L', 'Vt L/min', 'kla 1/100 h', 'Var L/min', 'Vo2
L/min');
%grid(gca,'minor')
xlabel('Tempo (h)')
ylabel('Variáveis')

```

```

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%
% %simulação de fermentação com controlador PI
%
```

Algoritmo das função crescimento_3 (MatLab)

```

function [dxdt]=Crescimento_3(t, xx)

global Vt Co20 ks1 UGR Co2s kla sinal kd m umax kso2 Qo2max
Yxo2 Yxs Qo2med

if xx(3)<0%restrição da modelagem para o minimo de co2
atingido
    xx(3)=0;
end

if xx(1)<=ks1% inicialização da taxa de morte a partir da
concentração minima de substrato limitante
    sinal=1;
else
    sinal=0;
end

```

```

dxdt=[xx(1) xx(2) xx(3)]';
dxdt(1)=(-1*umax/Yxs)*xx(1)*xx(2)/(ks1+xx(1));
dxdt(2)=(umax*xx(1)*xx(2)/(ks1+xx(1)))-kd*xx(2)*sinal;%
variação da concentração de células
dxdt(3)=kla*(Co2s-xx(3))-
((umax/Yxo2)*xx(2)*xx(3)/(kso2+xx(3)))-m*xx(2);

UGR=Vt/301.59;
k=0.044*((xx(2))^1.25);
kla=0.0463*(UGR.^0.542)*(k.^(-0.679))*3600;%%

```