

ESCOLA POLITÉCNICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

FELIPE PINHEIRO DO AMARAL
RAFAEL FONSECA CHENEDEZI

**INSTALAÇÃO E TESTES DE BIORREATOR E DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO DE
COMUNICAÇÃO DESTE COM COMPUTADOR**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
ORIENTADOR: PROF^º Dr. ALDO TONSO

São Paulo
2014



ESCOLA POLITÉCNICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

**INSTALAÇÃO E TESTES DE BIORREATOR E DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO DE
COMUNICAÇÃO DESTE COM COMPUTADOR**

Trabalho de Conclusão de Curso

Área de Concentração:
Engenharia Química

Felipe Pinheiro do Amaral

Rafael Fonseca Chenedezi

Orientador:
Aldo Tonso

SÃO PAULO
2014

AGRADECIMENTOS

Aos nossos familiares pelo apoio durante os anos da graduação.

Ao professor Aldo Tonso pela orientação no trabalho realizado.

À Escola Politécnica da Universidade de São Paulo pelo fornecimento dos recursos necessários para nossa formação acadêmica.

A todos os amigos, colegas, professores e funcionários da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo pela contribuição com nossa formação como engenheiros e cidadãos.

Felipe Pinheiro do Amaral

Rafael Fonseca Chenedezi

RESUMO

O Laboratório de Células Animais (LCA) do GEnBio (Grupo de Engenharia de Bioprocessos) localizado no Bloco 20 do Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica da USP possui o biorreator *TEC-Bio-Plus* em colaboração com pesquisadores do Instituto Butantan que, após manutenção no sistema de controle do mesmo, não foi mais utilizado.

Este trabalho de conclusão de curso tem por objetivo a realização de experimentos para verificar se os controladores de temperatura, agitação e pH estão funcionando corretamente e a confecção de um manual de instruções simplificado para utilizadores. Além disso, é proposto que se verifique o funcionamento do controlador de vazão de gases, bem como o funcionamento do controlador de oxigênio dissolvido e escolha das melhores constantes de um controlador PID (Proporcional-Integral-Derivativa) para este último sistema.

Os resultados indicam que os controladores de pH, agitação e de vazão de gases estão funcionando corretamente. O controlador de temperatura controla o sistema 5°C acima da desejada e as constantes PID obtidas controlam o oxigênio dissolvido com uma faixa de +/- 10% do *set-point*.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	6
LISTA DE FIGURAS	7
1. INTRODUÇÃO	10
2. JUSTIFICATIVA	11
3. OBJETIVO	12
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
4.1. Cultivo de células animais.....	13
4.2. Biorreatores	14
4.3. Formas de classificação dos biorreatores.....	18
4.4. Transporte de oxigênio em biorreator	19
4.5. Controladores	20
4.6. Modelagem do processo	22
4.7. Controladores <i>ON-OFF</i>	25
4.8. Controladores PID.....	25
4.9. Modo proporcional.....	26
4.10. Modo integral.....	26
4.11. Modo Derivativo.....	27
4.12. Critério de estabilidade de BODE.....	28
4.13. Método de Ziegler & Nichols	29
5. METODOLOGIA, RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
5.1. Reconhecimento do Biorreator	33
5.1.1. Funcionamento do Biorreator.....	36
5.2. Estudo dos Controladores de Agitação, Temperatura e pH.....	36
5.2.1. Estudo do Controlador de Agitação, Resultados e Discussão.....	36

5.2.2.	Estudo do Controlador de Temperatura, Resultados e Discussão	37
5.2.3.	Estudo do Controlador de pH, Resultados e Discussão	41
5.3.	Estudo dos Medidores de Vazão de Gás e do Controlador de Oxigênio Dissolvido .	45
5.3.1.	Estudo do Controlador de Oxigênio Dissolvido e Vazão de Gases, Resultados e Discussão	52
6.	CONCLUSÃO	69
7.	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	70
8.	ANEXO: MANUAL DE INSTRUÇÕES SIMPLIFICADO DO BIORREATOR <i>TEC-BIO-PLUS</i>	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1: Sintonia do controlador segundo o Método de Ziegler & Nichols	30
Tabela 4.2: Sintonia de Ziegler-Nichols	31
Tabela 4.3: Método oscilatório Ziegler-Nichols	32
Tabela 5.1: Set-Point e Valores Medidos do Controlador de Agitação	37
Tabela 5.2: Estudo do Controlador de Temperatura para Set-Point Abaixo de $T_{inicial}$	40
Tabela 5.3: Informações da solução de Hidóxido de Sódio Utilizada no Experimento.....	42
Tabela 5.4: Informações da solução de Ácido Clorídrico Utilizada no Experimento	42
Tabela 5.5: Dados referentes ao Primeiro Teste para Análise do Controlador de pH.....	43
Tabela 5.6: Dados referentes ao Segundo Teste para Análise do Controlador de pH.....	43
Tabela 5.7: Dados referentes ao Terceiro Teste para Análise do Controlador de pH	44
Tabela 5.8: Dados referentes ao Quarto Teste para Análise do Controlador de pH	45
Tabela 5.9: Sintonia de Ziegler-Nichols	53
Tabela 5.10: Valores Calculados para as Constantes	54
Tabela 5.11: Valores das Constantes do Controlador de Oxigênio Dissolvido Inseridos no Programa	55
Tabela 5.12: Valores Empíricos para as Constantes do Controlador	60
Tabela 5.13: Valores Calculados para Novas Constantes.....	68
Tabela 5.14: Valores recomendados de Constantes	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1: Esquema de um biorreator contínuo	15
Figura 4.2: Esquema de um biorreator fed-batch, ou descontínuo alimentado	15
Figura 4.3: Esquema de um biorreator batch, ou descontínuo	15
Figura 4.4: Esquema de um biorretor com perfusão	17
Figura 4.5: Visão comparativa de diferentes modos de operação.....	18
Figura 4.6: Diagrama de blocos para uma malha de controle	21
Figura 4.7: Curva da variável manipulada resultante a um degrau unitário.....	24
Figura 4.8: Esquema de atuação de um controlador PID (proporcional-integral-derivativo) .	28
Figura 4.9: Diagramas de BODE de resposta a um sistema.....	29
Figura 4.10: Resposta ao Degrau Unitário para o método Ziegler-Nichols.....	30
Figura 4.11: Método oscilatório de Ziegler-Nichols	31
Figura 5.1: Biorreator TEC-BIO-PLUS	33
Figura 5.2: Tela de inserção de set-point e leitura de valor medido	34
Figura 5.3: Módulo de medição e de atuação do biorreator (TEC-BIO-PLUS) parcialmente alterado	34
Figura 5.4: Tampa do vaso de reação do biorreator	35
Figura 5.5: Pinos de conexão dos sensores	35
Figura 5.6: Estudo da Temperatura Set-Point 23°C.....	38
Figura 5.7: Estudo da Temperatura Set-Point 25°C.....	38
Figura 5.8: Estudo da Temperatura Set-Point 35°C.....	39
Figura 5.9: Estudo da Temperatura Set-Point 40°C.....	39
Figura 5.10: Estudo da Temperatura Set-Point 70°C.....	40
Figura 5.11: Equipamento para Medição e Controle da Vazão de Gás.....	46
Figura 5.12: Tela com o Valor Medido de Oxigênio Dissolvido.....	46
Figura 5.13: Tela do Lab View com Valores Medidos de Oxigênio Dissolvido (OD-1) e das Vazões de Gases (MFC1 e MFC2)	47
Figura 5.14: Valores dos Coeficientes Angular e Linear para Transformar a Medição de Corrente em Porcentagem de Oxigênio Dissolvido (OD-1).....	48

Figura 5.15: Representação de Parte do Programa em Lab View para Controle de Oxigênio Dissolvido.....	49
Figura 5.16: Representação de Parte do Programa em Lab View para Controle de Oxigênio Dissolvido.....	49
Figura 5.17: Tela Vista pelo Usuário e Programa em Lab View.....	50
Figura 5.18: Valores Medidos de Oxigênio Dissolvido e das Vazões do Gases	51
Figura 5.19: Tela Vista pelo Usuário	52
Figura 5.20: Resposta ao Degrau Unitário para o método Ziegler-Nichols.....	53
Figura 5.21: Resposta ao Degrau Aplicado no Oxigênio Dissolvido	53
Figura 5.22: Resposta ao Degrau Aplicado no Oxigênio Dissolvido com Reta Tangente ao Ponto de Inflexão.....	54
Figura 5.23: Tela do Programa Com Inserção das Constantes Calculadas.....	55
Figura 5.24: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Calculados para as Constantes.....	56
Figura 5.25: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Calculados para as Constantes.....	57
Figura 5.26: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Calculados para as Constantes.....	58
Figura 5.27: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Calculados para as Constantes.....	59
Figura 5.28: Tela do Programa Com Inserção das Constantes Empíricas	60
Figura 5.29: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Empíricos para as Constantes	61
Figura 5.30: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Empíricos para as Constantes	62
Figura 5.31: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Empíricos para as Constantes	63
Figura 5.32: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Empíricos para as Constantes	64
Figura 5.33: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Empíricos para as Constantes	65

Figura 5.34: Resposta ao Degrau Aplicado no Oxigênio Dissolvido com valores de Constantes Empíricas.....	66
Figura 5.35: Resposta ao Degrau Aplicado no Oxigênio Dissolvido Utilizando Constantes Empíricas com Reta Tangente ao Ponto de Inflexão.....	67
Figura 8.1: Biorreator TEC-BIO-PLUS	71
Figura 8.2: Display do Equipamento.....	71
Figura 8.3: Dispositivos relacionados ao controle de oxigênio dissolvido	73

1. INTRODUÇÃO

Células animais são cultivadas, tradicionalmente, para serem empregadas na produção de vacinas, sejam elas para uso humano quanto veterinário (VICENTE, 2008). Ultimamente também é utilizada na indústria farmacêutica para a produção de proteínas terapêuticas (POLASTRI, 1997).

A indústria mostra que existe uma limitação no uso de bactérias recombinantes para produção de insulina e hormônios para crescimento humano. Para proteínas de complexidade reduzida, tais microrganismos apresentam resultados que viabilizam sua produção em larga escala. Entretanto, com uma maior complexidade das moléculas e conseqüentemente maior valor agregado às mesmas, o uso de microrganismos se torna inviável (VICENTE, 2008). O cultivo de células animais vem, portanto, principalmente da necessidade de produção destas substâncias não geradas pelos microrganismos recombinantes. Entretanto, é mais difícil o cultivo das células animais em biorreatores, comparando com o de microrganismos.

Tais células podem ser cultivadas em equipamentos conhecidos como biorreatores. Biorreatores se diferenciam de reatores químicos pelo fato de envolverem organismos ou substâncias bioquimicamente ativas derivadas de tais organismos. O processo pode ser aeróbico ou anaeróbico e, neste trabalho, o equipamento utilizado, por ter sistema de inserção de oxigênio, é aeróbico.

2. JUSTIFICATIVA

A aquisição de biorreatores requer altos investimentos financeiros devido às características do equipamento e, no Brasil, também ao fator de importação, já que a indústria brasileira não possui grandes avanços nesta área de conhecimento. Devido ao fato de ser importado, o processo de suporte e manutenção do equipamento também é dificultado.

O Laboratório de Células Animais (LCA) do GEnBio (Grupo de Engenharia de Bioprocessos) localizado no Bloco 20 do Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica da USP possui o biorreator *TEC-Bio-Plus* em colaboração com pesquisadores do Instituto Butantan que não está sendo utilizado atualmente. Tal equipamento foi originalmente fabricado pela empresa Inceltech (França) e o seu modelo é o Discovery 100. A fabricante foi vendida e comprada pela empresa New Brunswick que, após a aquisição, fechou a fábrica original da Inceltech. Após certo tempo, o reator apresentou problemas e não pôde ser concertado pelo fornecedor original, devido à não mais existência da empresa fabricante. Procurou-se, então, a empresa Tecnal, localizada em Piracicaba, SP, para o reparo do equipamento. Tal empresa aproveitou o hardware original do equipamento e utilizou o seu sistema de controle no conserto do reator que, após essas mudanças, apresentou mudanças em seu layout. Após o reparo, o equipamento não foi testado e não mais utilizado pelos pesquisadores do LCA.

Além disso, o estudo de células animais se mostra cada vez mais interessante devido ao fato de se usarem as mesmas em indústrias farmacêuticas para a produção de substâncias não produzidas por bactérias recombinantes.

Com isto, este trabalho é justificado pela necessidade de utilizar um equipamento existente no LCA para pesquisas com células animais sem a necessidade de se investir dinheiro para isso.

3. OBJETIVO

Este trabalho de conclusão de curso tem por objetivo a realização de experimentos para verificar se os controladores de temperatura, agitação e pH estão funcionando corretamente e a confecção de um manual de instruções simplificado para utilizadores. Além disso, é proposto que se verifique o funcionamento do controlador de vazão de gases, bem como o funcionamento do controlador de oxigênio dissolvido e escolha das melhores constantes de um controlador PID (Proporcional-Integral-Derivativa) para este último sistema.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Cultivo de células animais

Segundo Polastri (1997), “o cultivo de células animais é tradicionalmente empregado na produção de vacinas, tanto para humanos como para uso veterinário”. Atualmente esta se tornando cada vez mais importante devido a produção de produtos bioquímicos complexos como anticorpos monoclonais, fator 8 , eritropoietina e outros compostos com alto valor agregado voltados para a indústria farmacêutica.

Nesses casos, um cultivo de bactéria ou fungos não é viável, pois a maquinaria celular desses organismos é muito mais simples e não comporta as modificações pós-traducionais que uma proteína recombinante farmacêutica muitas vezes necessita.

No caso de produção de moléculas simples, como o álcool na fermentação alcoólica, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* desempenha muito bem seu papel, uma vez que cresce com velocidade alta por ser um organismo mais simples e produz em grande quantidade o álcool ajustada as condições favoráveis. Porém, quando se trata de um produto farmacêutico que contém uma função biológica, ele, além de ser produzido, precisa de certas modificações importantes, ainda dentro da célula, como glicosilação, fosforilação, carboxilação, entre outros. Essas modificações, chamadas de pós-traducionais, são feitas por células mais complexas, como as células animais.

O fator crítico das células animais está no fato de elas apresentarem um crescimento mais lento em relação às bactérias e leveduras e serem mais sensíveis às condições do processo.

Segundo Michaels (1996), as células animais necessitam de um cuidado extra quando comparados aos cultivos de micro-organismos realizados em biorreatores, pois não possuem parede celular. Isso significa que são mais sensíveis às tensões de cisalhamento do meio, ou seja, às agitações que se empregam no biorreator. Enquanto a levedura *Saccharomyces cerevisiae* cresce em um meio turbulento de alta agitação e borbulhamento de oxigênio, as células animais não podem passar, geralmente, de 100rpm.

Devido a essa limitação, foram desenvolvidas tecnologias para agitar e aerar os meios de culturas animais. Um exemplo é o uso de membranas de silicone com inserção de gases

(Casey, 1999), *roller tubes*, e outros, que promovem aeração e homogeneização sem romper a membrana plasmática das células.

Dois vertentes principais na área de cultivo de células animais se desenvolvem para a criação do processo. De um lado a engenharia genética manipula os organismos para inserir os genes de interesse. Por meio de vetores como plasmídeos, ou até mesmo vírus, a sequência de bases nitrogenadas é inserida no DNA da célula. Essa parte ligada à biologia celular se desenvolveu significativamente ao longo dos últimos anos. Por outro lado, está a pesquisa em desenvolvimento na área da produção em larga escala. Lidar com processos bioquímicos requer cuidados para não se danificarem as células com alta agitação ou choques osmóticos. O metabolismo dos organismos ligados à produção do produto se comporta de forma diferente frente à concentração de substratos, pH, oxigênio dissolvido etc. Existem muitas pesquisas voltadas à etapa de processo, que viabilizarão, ou não, a produção em larga escala. Nesse contexto, o controle dos processos bioquímicos se torna essencial.

4.2. Biorreatores

Segundo a IUPAC (1992), o termo biorreator se refere a qualquer equipamento ou sistema que dá suporte a um ambiente biologicamente ativo. Eles geralmente são cilíndricos e na ordem de litros a metros cúbicos. Existe uma grande variedade de reatores. Cada um apresentando uma peculiaridade diferente para certa condição de cultivo. Basicamente se pode definir os biorreatores em contínuo, *fed-bach* ou batelada.

O biorreator contínuo possibilita a renovação do meio de cultivo, alimentando as células com os nutrientes necessários e lavando substâncias metabólicas, que, uma vez acumuladas em excesso, podem causar algum tipo de inibição no crescimento ou na produção da substância de interesse. Esse seria o sistema ideal para o cultivo, porém, dependendo do cultivo, os outros biorreatores são também eficientes e muitas vezes mais baratos. O biorreator *fed-batch*, ou descontínuo alimentado, é um reator em batelada alimentado que não possui saída. Esse tipo de reator atende à demanda metabólica de substrato da célula, pois, quando necessário, nutrientes são adicionados no meio de cultura. O cultivo fica, entretanto, mais vulnerável ao acúmulo de metabólitos no meio de cultura,

podendo levar a inibições indesejadas. E, por último, tem-se o reator descontínuo ou *batch* tradicional.

Encontram-se, a seguir, os esquemas dos biorreatores:

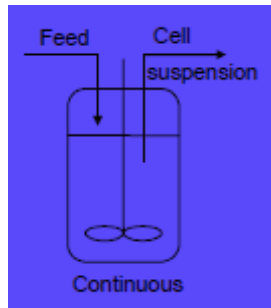


Figura 4.1: Esquema de um biorreator contínuo

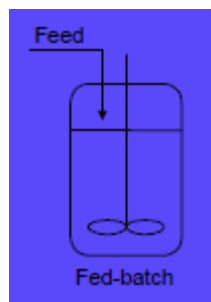


Figura 4.2: Esquema de um biorreator fed-batch, ou descontínuo alimentado

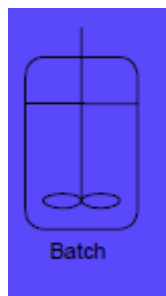


Figura 4.3: Esquema de um biorreator batch, ou descontínuo

A escolha do biorreator vai depender do uso e do cultivo. O modo contínuo é o mais completo. Existe, porém, um *trade-off* entre a operação e os riscos de operação, pois o modo de operação é mais complexo, mas os riscos de contaminação também o são.

Quando se opta por se adotar um sistema estacionário de operação, as linhas de operação e o vaso do biorreator devem ser esterilizados. Em seguida, as células são inoculadas na solução para que cresçam a atinjam uma densidade celular alta. A vazão de alimentação deve, até este momento, estar fechada, e a solução possuir os nutrientes

necessários para que as células cresçam eficientemente. Até este momento é possível que se considere o cultivo como uma batelada. O próximo passo é a abertura das válvulas e a lavagem da solução. Mais nutrientes entram para manter a densidade celular e os componentes da solução, incluído as células, são retirados pela corrente de saída. Para manter o regime estacionário e a concentração celular, a vazão de saída tem que ser ajustada com o tempo para que não arraste todas as células do cultivo. A vazão de saída, que por sua vez é igual à vazão de entrada do reator, depende do volume do biorreator e da velocidade específica de crescimento.

Para o reator contínuo, tem-se a seguinte equação de balanço:

$$\frac{dX}{dt} = \mu \cdot X - \frac{F}{V} \cdot X$$

X: concentração celular [unidade de massa/unidade de volume]

t: tempo [unidade de tempo]

F: Vazão de saída [unidade de massa/unidade de tempo]

μ : velocidade específica de crescimento celular [unidade de tempo⁻¹]

V: Volume da solução [unidade de volume]

Para que se obtenha um estado estacionário, a variação da concentração celular pelo tempo tem que ser igual a zero ($\frac{dX}{dt} = 0$). Para esse caso, a equação fica resumida a:

$$\mu = \frac{F}{V}$$

Isso significa que, para cada vazão, as células atingem uma velocidade específica de crescimento determinada para manter o estado estacionário. A cada vazão imposta, as células se ajustam e mantêm a densidade celular praticamente constante. Conseguem-se, portanto, diferentes estados estacionários, ajustando-se a vazão de saída.

A questão crítica é o limite de crescimento denominado “velocidade máxima específica de crescimento”. Portanto, para se manter o sistema em estado estacionário, a relação entre a vazão e o volume devem ser menores ou iguais a esse μ_{\max} .

$$\frac{F}{V} \leq \mu_{\max}$$

Caso a vazão seja maior que μ_{\max} , as células serão retiradas em excesso, e não será possível obter um regime estacionário.

Para poder operar com vazões acima da vazão crítica, pode-se obter um sistema de reciclo das células, que é denominado “sistema de perfusão”. Existem muitas tecnologias deste tipo, como, por exemplo, a filtração tangencial que “resgata” as células e as recicla para o sistema.

Apesar de possibilitar o uso de vazões mais altas aliadas ao maior rendimento do processo e produção, o sistema de perfusão com este reciclo aumenta, porém, os custos operacionais, não levando, por muitas vezes, à eficácia do processo como um todo.

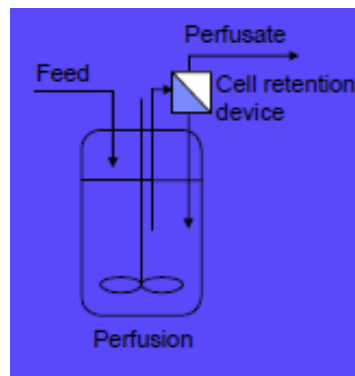


Figura 4.4: Esquema de um biorreator com perfusão

O gráfico a seguir ilustra os sistemas de operação e rendimento dos biorreatores:

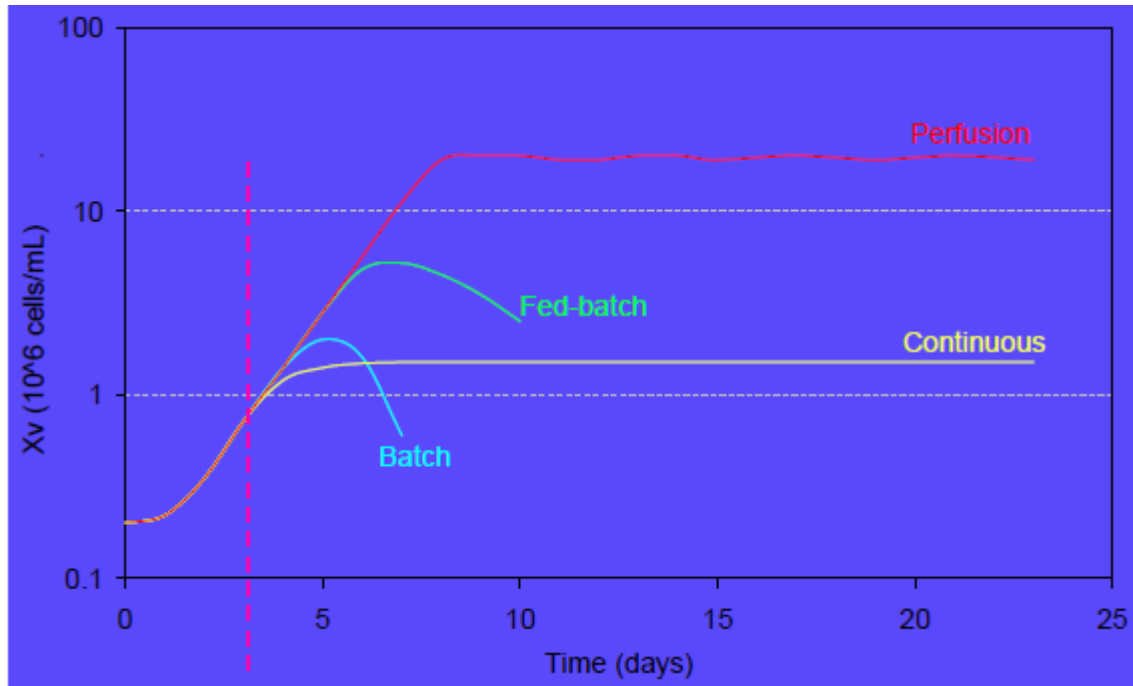


Figura 4.5: Visão comparativa de diferentes modos de operação

Os reatores do tipo *batch* e *fed-batch* operam em um menor período de tempo, pois a concentração de substâncias inibidoras e tóxicas para as células, provenientes de seus próprios metabolismos, causam a diminuição da densidade celular. O *fed-batch* apresenta uma densidade celular maior pela renovação de nutrientes.

A perfusão e o contínuo operam com densidades celulares constantes e por um maior período de tempo. O sistema de perfusão atinge uma maior concentração de células devido à existência de reciclo.

4.3. Formas de classificação dos biorreatores

Os biorreatores podem ser classificados quanto ao tipo de biocatalisador (reatores com enzimas ou com células vivas), quanto à configuração do biocatalisador (células livres em suspensão ou imobilizadas) e, por fim, quanto à maneira de se agitar o líquido no reator (agitados mecanicamente ou pneumaticamente).

As reações que irão ocorrer podem ser aceleradas por enzimas, que são catalisadores biológicos que necessitam de um cuidado com temperatura, pH e outras variáveis para que

seja possível o uso de seu potencial desempenho. No caso da utilização de células vivas, utiliza-se de seu maquinário metabólico para produzir o composto de interesse.

As células podem estar livres ou imobilizadas. O fato de estarem livres, ou em suspensão de liberdade, proporciona vantagem em relação à área de contato e homogeneização. As células em suspensão se distribuem em três dimensões do espaço, podendo reaproveitar melhor o espaço e proporcionar uma maior densidade celular, sendo limitada pelo transporte de nutrientes e metabólitos. Em contrapartida, as células imobilizadas são mais dificilmente “varridas” da solução, pois estão aderidas sempre a um substrato.

A maneira de agitar o biorreator tem grande importância no cultivo, pois está ligado com a aeração do meio também. Existe a preocupação para que a agitação não seja violenta demais para romper a parede celular das células de cultivo, mas também que não seja tão devagar que não forneça a homogeneidade e mistura para o transporte de moléculas. Pode-se agitar mecanicamente, por meio de uma pá que constitui o STR (*stirred tank reactor*) ou a agitação pode ser feita por meio do borbulhamento de gases de interesse.

4.4. Transporte de oxigênio em biorreator

A concentração de oxigênio dissolvido é um valor crítico em muitos processos biotecnológicos. Em um cultivo de célula animal ou de um microrganismo aeróbico, que usa o oxigênio como aceptor final de elétrons, a concentração de oxigênio dissolvido no meio é de fundamental importância.

Uma célula necessita de uma variedade de reagentes para consumir e usá-la em seus processos metabólicos para obtenção de energia e crescimento. Dentre os componentes essenciais, o oxigênio é um dos que apresenta a menor solubilidade em água pelo fato de ser um gás nas condições de operação. A solubilidade média do oxigênio em água está na faixa de 8 mg/L à 25°C, enquanto que a sacarose apresenta um valor de solubilidade em água, nas mesmas condições de operação, na faixa de 2 kg/L. Isso torna o oxigênio um dos componentes mais críticos para o crescimento celular em cultivo.

Nos cultivos de células animais e de microrganismos aeróbicos, o oxigênio é o aceptor final de elétrons na respiração. Ele apresenta um papel fundamental na cadeia de

elétrons durante o processo de oxidação de substratos. Como o oxigênio é muito eletronegativo, comparado com outros aceptores finais de elétrons, ele proporciona uma obtenção elevada de energia com relação a outros processos de respiração.

Na fermentação, por exemplo, o acceptor final de elétron é o próprio substrato. Nesse caso, o rendimento energético é bem inferior à da respiração aeróbica. Na respiração são produzidos 38 ATPs enquanto que na fermentação esse número se limita a 2 ATPs.

Dada a importância desse composto no cultivo celular, é necessário que o mesmo seja controlado no processo. Caso a concentração de oxigênio dissolvido atinja valores criticamente baixos, uma asfixia celular pode ser causada, comprometendo todo o processo.

4.5. Controladores

O controlador basicamente modifica a dinâmica de um sistema, manipulando a relação entrada/saída por meio da atuação sobre um ou mais de seus parâmetros, com o objetivo de satisfazer especificações com relação a sua resposta (Ogata,2003).

Quando se quer controlar um parâmetro de um processo, ou seja, fixar esse valor ao longo do tempo, é necessário que se leia o valor de saída e compare com o valor desejado fixo. O valor fixo é denominado *set-point* e o valor lido, variável controlada. Quando comparado os dois valores, verifica-se o erro, que será emitido para o controlador. Esse, por sua vez, irá tentar fazer com que o erro chegue a zero atuando na variável manipulada, ou seja, atuando em uma variável que produzirá um efeito na variável controlada para tentar diminuir o erro a zero.

Muitas vezes, a variável manipulada atinge um valor estacionário diferente do *set-point*. Essa diferença é conhecida como *offset*. O fato de haver *offset* indica, por muitas vezes, que o controlador está mal sintonizado.

Os elementos da malha de controle são apresentados a seguir:

Sensor: mede a variável do processo.

Transmissor: converte o sinal do sensor em um sinal apropriado para o controlador.

Controlador: Contém a lógica de controle. Produz um sinal de saída para o atuador por meio de funções de transferência, com o objetivo que fazer com que a variável controlada atinja o *set-point*.

Atuador: atua na variável manipulada segundo os comandos que o controlador envia

Em geral, costuma-se representar a malha de controle por um diagrama de blocos. A figura a seguir mostra a representação de um esquema de controle básico a partir de uma válvula:

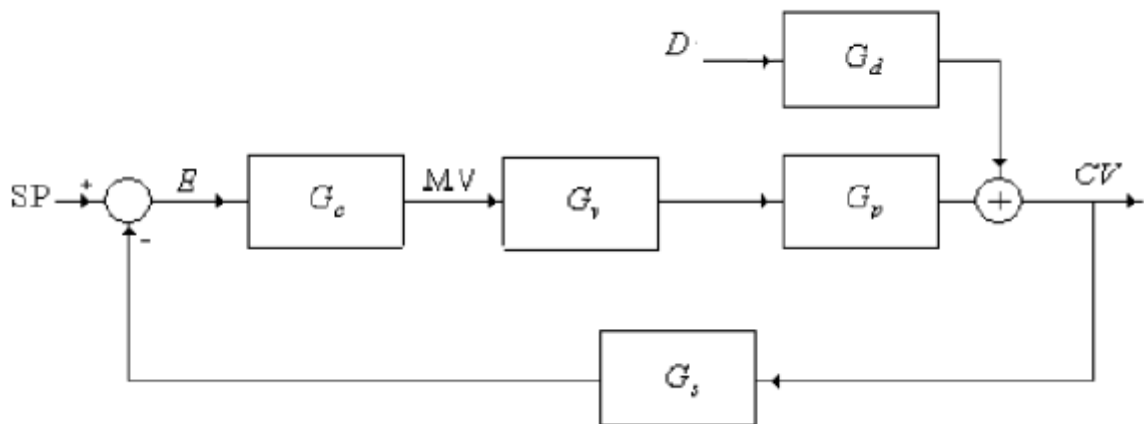


Figura 4.6: Diagrama de blocos para uma malha de controle

SP: *set-point*

D: distúrbio

MV: variável manipulada

CV: variável controlada

E: erro

G_c : função de transferência do controlador

G_s : função de transferência do sensor

G_d : função de transferência distúrbio

G_p : função de transferência do processo

G_v : função de transferência da válvula

Existem dois tipos de classificação de um sistema controlado, o *feedback* e o *feedforward*. No primeiro, a partir dos valores da variável controlada, atua-se na variável manipulada. Já no segundo, ajustes antecipatórios são feitos na variável manipulada, já que a perturbação do processo é conhecida.

4.6. Modelagem do processo

O modelo usado para controle envolve equações diferenciais ordinárias lineares que constituem as funções de transferência. Ela relaciona a variável de saída do elemento na malha de controle com a entrada. Para casos em que essas equações diferenciais se tornam muito complicadas, faz-se o uso das transformadas de Laplace como ferramenta simplificadora da solução.

O modelo de primeira ordem com tempo morto é aplicado quando o sistema é bem agitado e bem homogêneo. Isso implica os efeitos quase que instantâneos que a variável manipulada terá sobre o processo, gerando um possível atraso chamado de tempo morto.

O tempo morto corresponde ao intervalo de tempo em que nenhuma resposta é observada na variável de saída após a perturbação na variável de entrada.

A equação do modelo é mostrada a seguir:

$$\delta \frac{Dy(t)}{Dt} + y(t) = K_p \cdot x(t)$$

t: tempo;

x(t): variável de entrada;

y(t): variável de saída;

δ : constante de tempo;

K_p : ganho proporcional;

A constante de tempo define a velocidade de resposta do sistema frente ao distúrbio. O ganho proporcional é quanto o valor de saída ganharia em relação à entrada caso o tempo fosse infinito.

Aplicando-se a transformada de Laplace à equação, tem-se:

$$G_p(s) = \frac{y(s)}{x(s)} = \frac{K_p}{\delta s + 1}$$

A função de transferência para o tempo morto é, portanto,

$$G_{TM}(s) = \frac{y(s)}{x(s)} = e^{-\theta s} .$$

Θ : tempo morto

Quando os elementos da malha fechada encontram-se em série, a função de transferência da combinação desses elementos é a multiplicação das mesmas. Portanto, para uma malha com o tempo morto considerável, tem-se a função de transferência do processo como a mostrada a seguir:

$$G_p(s) = \frac{y(s)}{x(s)} = \frac{K_p}{\delta s + 1} e^{-\theta s}$$

Para determinar os parâmetros do processo, utiliza-se, nesse caso, um distúrbio do tipo degrau unitário e é possível verificar o comportamento da variável manipulada:

$$X(s) = \frac{1}{s}$$

$$Y(s) = \frac{K_p}{\delta s + 1} e^{-\theta s} \cdot x(s)$$

$$Y(s) = \frac{K_p}{\delta s + 1} e^{-\theta s} \frac{1}{s}$$

Aplicando-se o Laplaciano na função $y(s)$, o resultado é uma função que depende do tempo:

$$Y(t) = Kp \left(1 - e^{-\frac{t-\theta}{\delta}} \right)$$

A curva resultante ao distúrbio é mostrada a seguir:

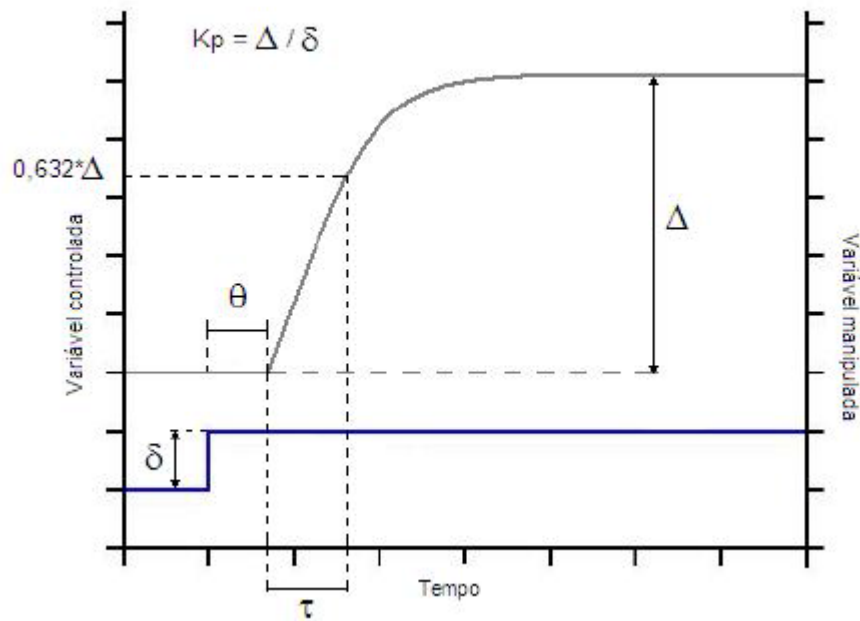


Figura 4.7: Curva da variável manipulada resultante a um degrau unitário

O valor de K_p é numericamente igual ao Δ (variação) da figura, que revela a diferença entre os valores da variável controlada antes e depois do degrau.

O tempo morto Θ , como definido, está explícito na figura como o tempo de atraso até a variável controlada começar a perceber os efeitos do controle após o distúrbio.

O valor da constante de tempo é numericamente igual ao instante, a partir do degrau, não levando em conta o tempo morto, em que a variável controlada atinge o valor de $0,632 \Delta$, ou seja, 63,2% do valor do ganho.

Existem muitos tipos de controladores, como os *on-off*, proporcionais, integrais, proporcionais-integrais e os proporcionais-integrais-derivativos, por exemplo.

4.7. Controladores *ON-OFF*

Nesse tipo de controlador, a variável manipulada vai se comportar de duas formas, somente. Para controlar a partir de um erro $e(t)$, o controlador verifica se o erro é maior ou menor que zero. Caso seja maior, envia um sinal de atuação U_1 para o atuador, caso contrário, envia um sinal U_2 . O atuador possui, portanto, duas posições fixas, ligado e desligado. Com isso, no controle *on-off*, a saída do controlador possui apenas dois estados, 0 ou 1.

4.8. Controladores PID

Controladores industriais do tipo PID surgiram na década de 30 devido à sua simplicidade, ao claro entendimento de seu funcionamento por parte de operadores e engenheiros de chão de fábrica e ao baixo custo. Eles vêm sendo largamente utilizados até os dias de hoje em diferentes tipos de processos. Esses fatores garantiram sua permanência, estimando-se que quase 95% das malhas utilizam tais controladores atualmente (PEREIRA; HAFFNER, 2010).

O controlador Proporcional-Integral-Derivativo (PID) é o algoritmo de controle *feedback* mais utilizado na indústria, dada a simplicidade de ajuste de seus parâmetros e graças à sua implementação em grande parte dos equipamentos industriais. Seu funcionamento é baseado no cálculo do desvio (erro) entre o valor desejado para uma variável controlada (*set-point*) e a medida dessa variável. A partir da adoção de um modelo, o controlador gera um sinal de saída a fim de eliminar esse desvio. Para se produzir o sinal de saída, o controlador pode se utilizar de três modos distintos, o proporcional (P), o integral (I) e/ou o derivativo (D). (KICHISE e OTA,2010)

4.9. Modo proporcional

No controle proporcional, a resposta da variável manipulada é proporcional ao erro que a variável controlada lê com relação ao *set-point*. Podemos ajustar a ação de controle a partir da constante K_c , que é o fator de proporcionalidade.

A função de transferência é definida como

$$G_c(s) = \frac{MV(s)}{E(s)} = K_c$$

E a equação também pode ser escrita na forma de

$$MV(t) = K_c \cdot E(t) + IP$$

t: tempo

MV: variável manipulada

K_c : ganho do controlador

E(t): erro

IP: valor da variável manipulada no estado estacionário

A lógica do fator de proporcionalidade é a de quanto maior o erro, mais ele atua, tentando minimizar o *offset* criado por um distúrbio. À medida que a variável controlada se aproxima do *set-point*, o valor do erro diminui e a ação proporcional, como de se esperar, também é diminuído.

Para este tipo de sistema, sempre haverá um erro residual, ou seja, um *offset*, que pode constituir uma desvantagem para esse tipo de controle.

4.10. Modo integral

O controlador puramente integral faz com que a variável manipulada responda em relação à integral do erro.

A função de transferência para o PI (Proporcional-Integrativo) é

$$G_c(s) = \frac{MV(s)}{E(s)} = K_c \left(1 + \frac{1}{T_i \cdot s} \right)$$

Explicitando o erro, a equação assume a forma de

$$MV(t) = \frac{Kc}{Ti} \int_0^t E(t) dt + Ii$$

Ti: tempo integral

Ii: variável manipulada no estado estacionário

A vantagem do controlador integral combinado com o proporcional, é que este elimina o *offset* intrínseco que controladores puramente proporcionais possuem.

4.11. Modo Derivativo

Esse modo leva em conta a derivada do erro para atuar. Ele tenta impedir que a variável controlada se afaste muito do valor do *set-point* e tenta prever a tendência de crescimento do erro ou da variável manipulada. A atuação PI pode ser muito lenta comparada com a variação da velocidade do erro, o que causaria uma instabilidade do sistema. O termo derivativo percebe esse aumento e atua para que o sistema atinja o *set-point* de maneira mais eficaz.

Portanto a combinação dos três modos de controle resulta em uma ação de controle eficaz e seu equacionamento é

$$MV(t) = Kc \left(E(t) + \frac{1}{Ti} \int_0^t E(t)dt + Td \frac{dE(t)}{dt} \right) + I$$

em que T_d é o tempo derivativo do sistema.

O controlador PID considera, portanto, a soma dos três fatores ao mesmo tempo, conforme observados na figura a seguir:

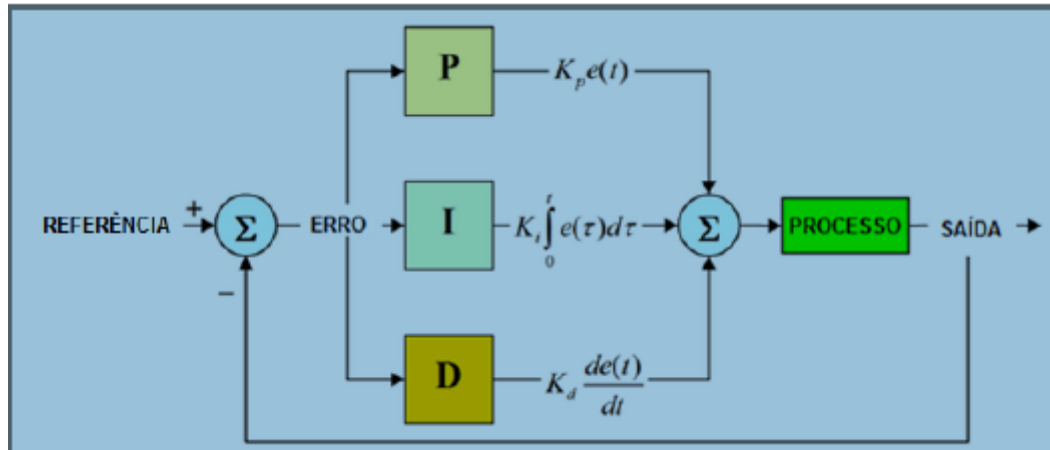


Figura 4.8: Esquema de atuação de um controlador PID (proporcional-integral-derivativo)

O ganho proporcional K_p diminui o *offset*, mas faz o sistema ficar mais oscilatório. O termo integral torna a aproximação ao set point mais suave, mas causa uma lentidão nessa aproximação. Já o termo derivativo diminui as oscilações causadas em uma malha PI.

É importante frisar que nem sempre os controladores PID são recomendados. Um exemplo é quando o processo apresenta bastante ruído, ou seja, derivadas bruscas, positivas e negativas, que a variável manipulada apresenta com o tempo. Nesse caso o controle PID causaria instabilidade no controle.

O processo é quem define os valores dos parâmetros K_c , T_i e T_d . O ajuste desses números é denominado sintonização do controlador. Estabelecer essa sintonia depende do processo e pode apresentar uma série de dificuldades. Os três parâmetros podem estar muitas vezes relacionados entre si, dificultando o ajuste.

4.12. Critério de estabilidade de BODE

Esse critério serve para testar a estabilidade do sistema. Inicialmente provoca-se um distúrbio senoidal e estuda-se a variação com o tempo. Caso a amplitude do distúrbio aumente com o tempo, a malha é determinada instável. A amplitude irá aumentar indefinidamente, neste caso.

Em sistemas de terceira ordem ou que, pelo menos, apresente tempo morto, é possível definir a frequência crítica, ω_c , que definirá se o sistema é estável. Portanto, para uma malha fechada, sendo $G(s)$ a função de transferência, tem-se:

$$\phi(G(j\omega_c)) = -180^\circ$$

$$\text{SENDO } \phi(G(j\omega c)) = \text{ARCTG}\left(\frac{\text{Im}(G(j\omega c))}{\text{Re}(G(j\omega c))}\right)$$

$$AR | \phi(G(j\omega c)) | < 1$$

$$\text{Sendo } AR = \frac{1}{\sqrt{\omega^2 \tau^2 + 1}}$$

O gráfico abaixo representa o diagrama de Bode. As respostas características de um modelo de função de transferência são constituídas por parcelas da margem de ganho (AR) e em função de ω . É possível determinar, também, a margem de fase (Φ), a partir de ω .

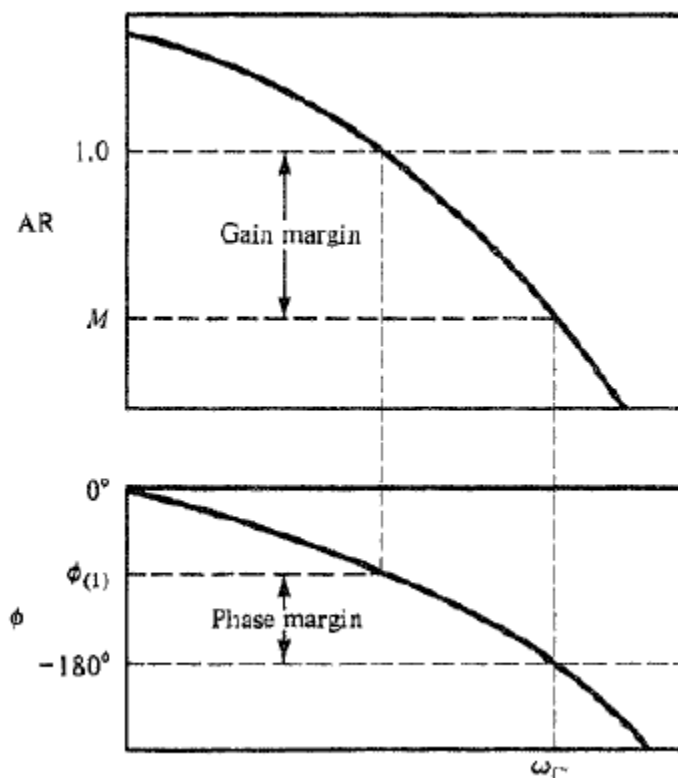


Figura 4.9: Diagramas de BODE de resposta a um sistema

4.13. Método de Ziegler & Nichols

O uso do método sintonização de *Zielger-Nichols* não leva em conta a função de transferência do controlador. Utiliza-se uma função geral, que englobe todos os elementos da malha de controle. Denominando-se essa função de transferência como $G_p(s)$, determina-se o valor da frequência última

$$\phi(G_p(j\omega c)) = -180^\circ$$

A partir do valor obtido, definem-se os valores de K_u e P_u :

$$K_u = \frac{1}{(G_p(j\omega_u))}$$

$$P_u = \frac{2\pi}{\omega_u}$$

A partir desses valores é possível sintonizar o controlador a partir da tabela abaixo:

Tabela 4.1: Sintonia do controlador segundo o Método de Ziegler & Nichols

Controlador	K_c	T_I (min)	T_D (min)
P	$K_u/2$	-	-
PI	$K_u/2,2$	$P_u/1,2$	-
PID	$K_u/1,7$	$P_u/2$	$P_u/8$

Caso não se conheça a função de transferência do sistema, existem dois métodos para sintonizar o controlador, determinando os valores dos parâmetros K_p , T_i e T_d a partir do comportamento da resposta transitória.

O primeiro método é baseado em um distúrbio unitário na forma de degrau e a verificação da resposta. A variável controlada irá variar conforme uma curva em S. Caso não se comporte como o gráfico abaixo, o modelo de sincronização não é aplicado.

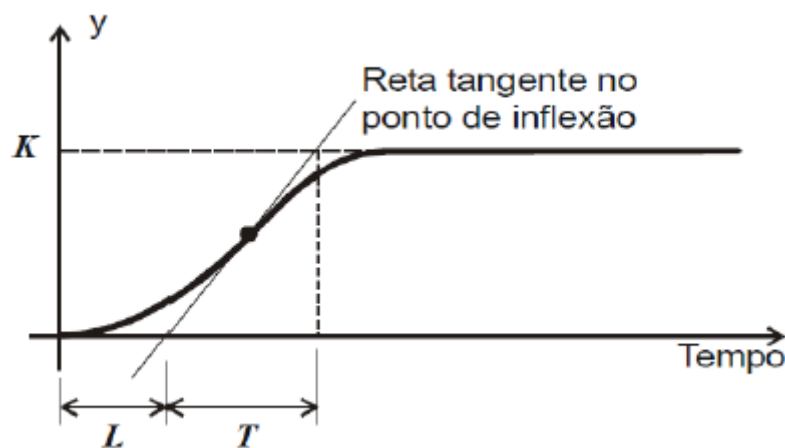


Figura 4.10: Resposta ao Degrau Unitário para o método Ziegler-Nichols

Os valores de L e T apresentados no gráfico são obtidos a partir do cruzamento da reta tangente no ponto de inflexão com o eixo do tempo. A partir desses valores conseguimos estimar os parâmetros de interesse, conforme tabela a seguir:

Tabela 4.2: Sintonia de Ziegler-Nichols

Tipo de Controlador	K_p	τ_i	τ_d
P	$\frac{T}{L}$	∞	0
PI	$0,9\frac{T}{L}$	$\frac{L}{0,3}$	0
PID	$1,2\frac{T}{L}$	$2L$	$\frac{L}{2}$

O segundo método consiste em desligar as funções integrais e derivativas igualando as constantes T_i e T_d a zero, deixando somente o valor proporcional do controlador diferente de zero. Aplicando-se um valor baixo de K_p , aumenta-se o valor do sinal de saída até que ele comece a apresentar um comportamento oscilatório. Caso o sistema não oscile esse método não é eficaz.

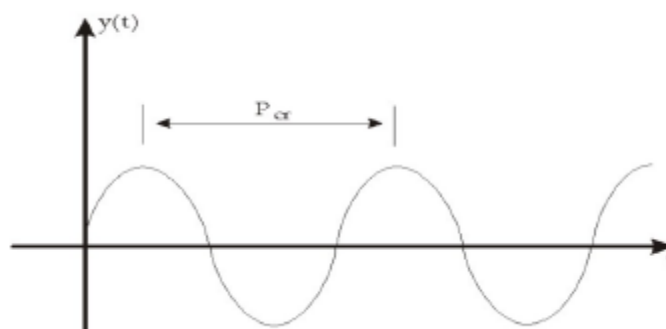


Figura 4.11: Método oscilatório de Ziegler-Nichols

O valor de K_p em que o sistema se torna oscilatório é denominado K_{cr} (crítico). O comprimento de onda crítico da resposta oscilatória é denominado P_{cr} . Por meio dos destes dois valores, estimam-se as outras constantes do sistema, de acordo com o tipo desejado.

Tabela 4.3: Método oscilatório Ziegler-Nichols

Tipo de Controlador	K_P	τ_i	τ_d
P	$0,5K_{cr}$	∞	0
PI	$0,45K_{cr}$	$\frac{0,5P_{cr}}{1,2}$	0
PID	$0,6K_{cr}$	$0,5P_{cr}$	$0,125P_{cr}$

5. METODOLOGIA, RESULTADOS E DISCUSSÕES

O trabalho pode ser dividido em três partes, descritas a seguir:

5.1. Reconhecimento do Biorreator



Figura 5.1: Biorreator TEC-BIO-PLUS

Primeiramente foi necessário o conhecimento do biorreator e entendimento de seu funcionamento. Esta parte do equipamento é responsável pelo controle da temperatura, da agitação e do pH. O controle da vazão de gases para o controle do oxigênio dissolvido é feita por outro equipamento e o mesmo será discutido posteriormente.

Os valores de *set-point* de cada uma das três variáveis citadas são inseridos na tela ao centro do biorreator, conforme a Figura 5.2: Tela de inserção de *set-point* e leitura de valor medido. Tal tela também mostra os valores medidos pelo equipamento.



Figura 5.2: Tela de inserção de set-point e leitura de valor medido

O módulo de medição e de atuação do equipamento está mostrado na figura a seguir, conforme o manual de instruções do fornecedor.



Figura 5.3: Módulo de medição e de atuação do biorreator (TEC-BIO-PLUS) parcialmente alterado

A Figura 5.3: Módulo de medição e de atuação do biorreator (TEC-BIO-PLUS) parcialmente alterado mostra um esquema de como é o módulo de medição e atuação do biorreator. O equipamento presente no laboratório não é fisicamente idêntico ao mostrado na figura acima, porém possui os mesmos componentes, como a chave geral, o painel frontal com o display e o painel para conexão com módulos e sensores.

A tampa do vaso de reação possui diversas entradas, sendo que as principais, para os casos estudados, são as entradas dos sensores de pH, oxigênio dissolvido e de temperatura,

além do motor de rotação das pás, conforme a Figura 5.4: Tampa do vaso de reação do biorreator.

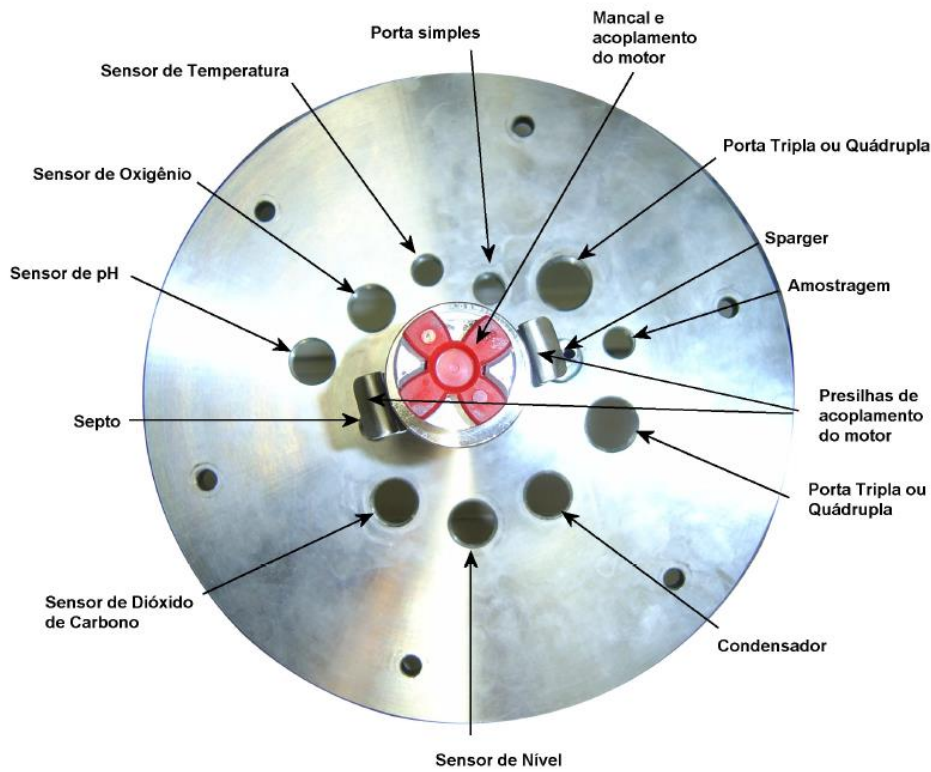


Figura 5.4: Tampa do vaso de reação do biorreator

Os sensores devem ser conectados ao módulo de atuação do equipamento, por meio de cabos de 4 ou de 8 pinos, conforme a Figura 5.5: Pinos de conexão dos sensores.

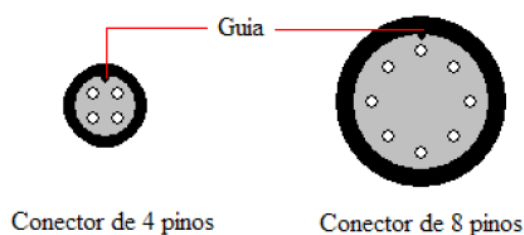


Figura 5.5: Pinos de conexão dos sensores

O extremo do cabo que vem da conexão no vaso de reação é do tipo “fêmea” com rosca, o qual se adapta ao painel de conexões, que possui o conector “macho”. Já o outro extremo do cabo é específico para cada tipo de sensor.

Para o sensor de temperatura, existe um poço que é autoclavado juntamente com o equipamento, fazendo com que este sensor não entre em contato direto com o meio, não

necessitando de autoclavagem. É recomendado pelo fornecedor do equipamento que se adicione 1ml de glicerina ou óleo mineral neste poço para que a transferência de calor entre o meio interno e o sensor seja favorecida. O cabo do sensor de temperatura possui 4 pinos.

Já o sensor de pH deve ser autoclavado juntamente com o biorreator e antes do processo de autoclavagem, a tampa vermelha fornecida junto ao sensor de pH deve ser retirada.

5.1.1. Funcionamento do Biorreator

O reator é ligado no botão vermelho no canto superior direito do mesmo. A tela mostrada na Figura 5.2: Tela de inserção de set-point e leitura de valor medido mostra algumas informações, ao se ligar o equipamento. Após o final destas informações, pode-se escolher qual das variáveis se quer atualizar. Para tal, os botões *para cima* ou *para baixo* são pressionados até aparecer a variável desejada na tela. Com isso, aperta-se o *botão 1* para se escolher o valor *set-point* desejado e confirmar tal escolha. O número à esquerda da primeira linha mostra o valor medido pelo equipamento e o número à direita, o *set-point*.

Após o entendimento do equipamento, um manual simplificado para operação do biorreator foi confeccionado e o mesmo está em anexo no final deste trabalho.

5.2. Estudo dos Controladores de Agitação, Temperatura e pH

Após a familiarização com o equipamento, experimentos foram propostos para se identificar se o controle de cada uma das variáveis ocorre de maneira correta.

5.2.1. Estudo do Controlador de Agitação, Resultados e Discussão

A primeira variável a ser estudada foi a agitação. Para tal estudo, diferentes valores de *set-point* foram inseridos, observando-se os valores medidos pelo equipamento e, visualmente, a velocidade de rotação do agitador.

Tabela 5.1: Set-Point e Valores Medidos do Controlador de Agitação

Set-Point [rpm]	Valor Medido [rpm]
20	20
40	40
60	60
80	80
100	100

A Tabela 5.1: Set-Point e Valores Medidos do Controlador de Agitação mostra que os valores medidos e os de *set-point* são equivalentes. Visualmente também foi notado que quanto maior o valor do set-point, mais rápido as pás giravam.

Com isso, pode-se concluir que o controlador de agitação do sistema está atuando dentro do esperado, de maneira correta.

5.2.2. Estudo do Controlador de Temperatura, Resultados e Discussão

O estudo do controlador de temperatura consistiu na inserção de diferentes valores de *set-point* e acompanhamento dos valores medidos com o decorrer do tempo, conforme gráficos mostrados a seguir. A agitação do sistema foi mantida em 40 rpm em todos os casos.

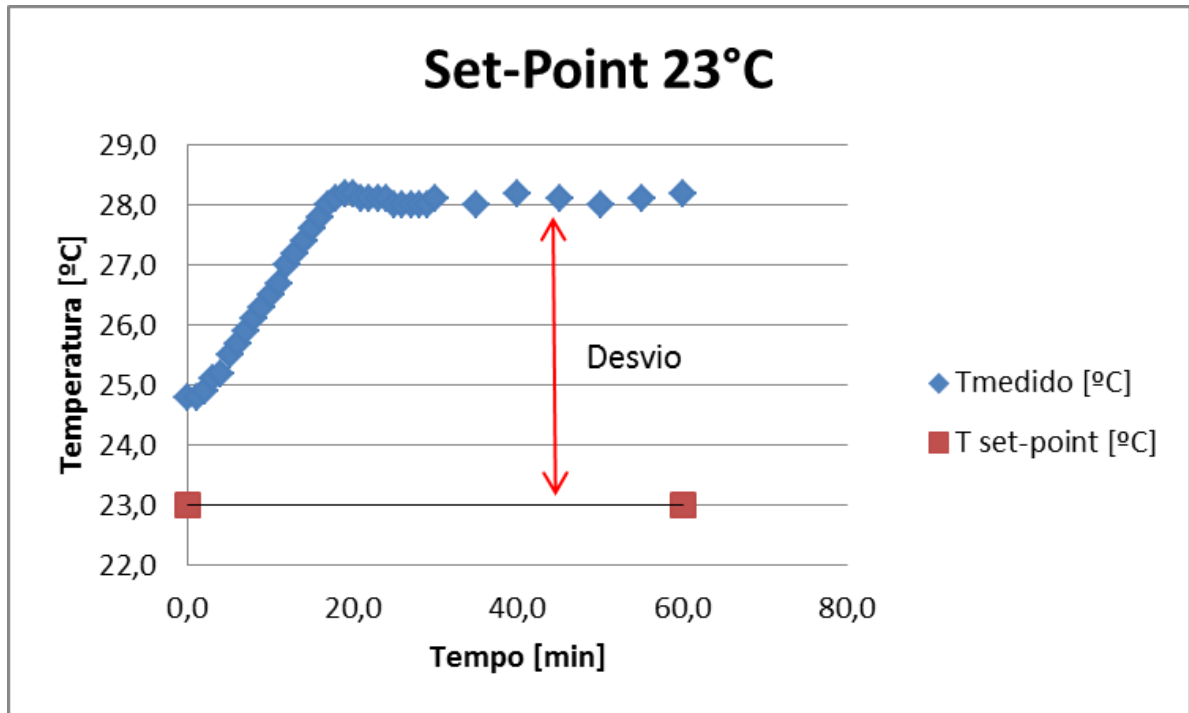


Figura 5.6: Estudo da Temperatura Set-Point 23°C

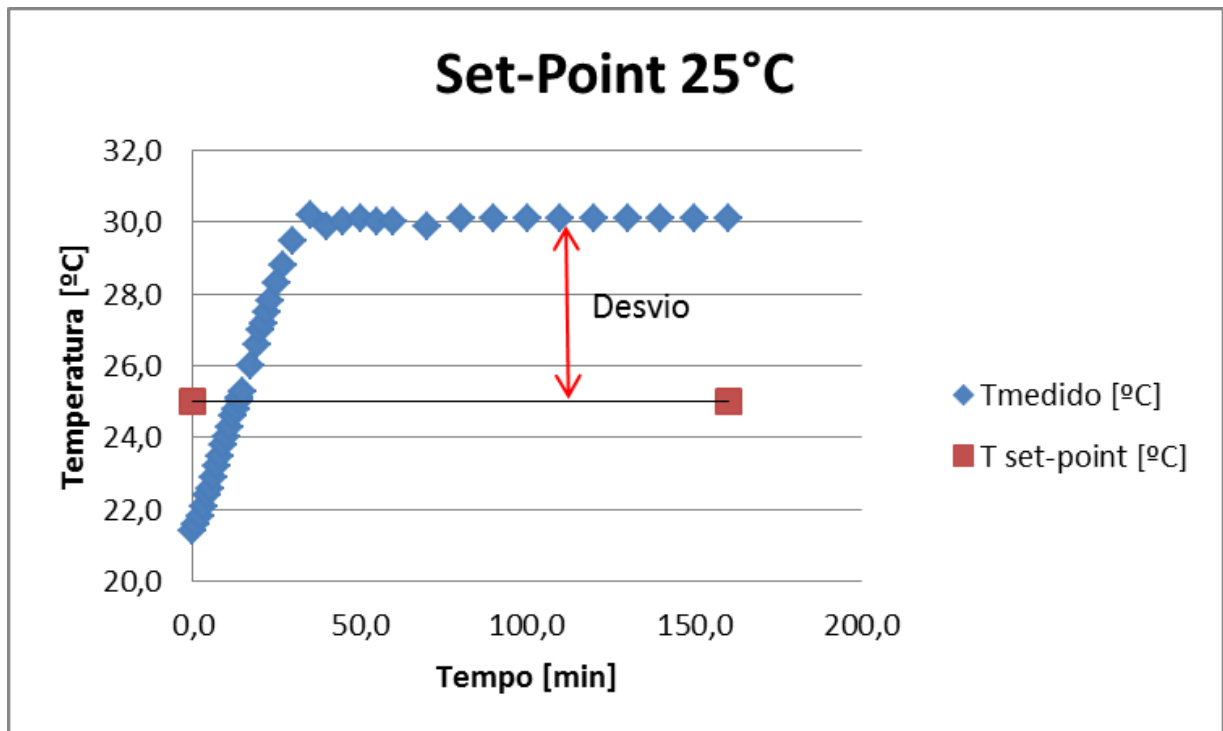


Figura 5.7: Estudo da Temperatura Set-Point 25°C

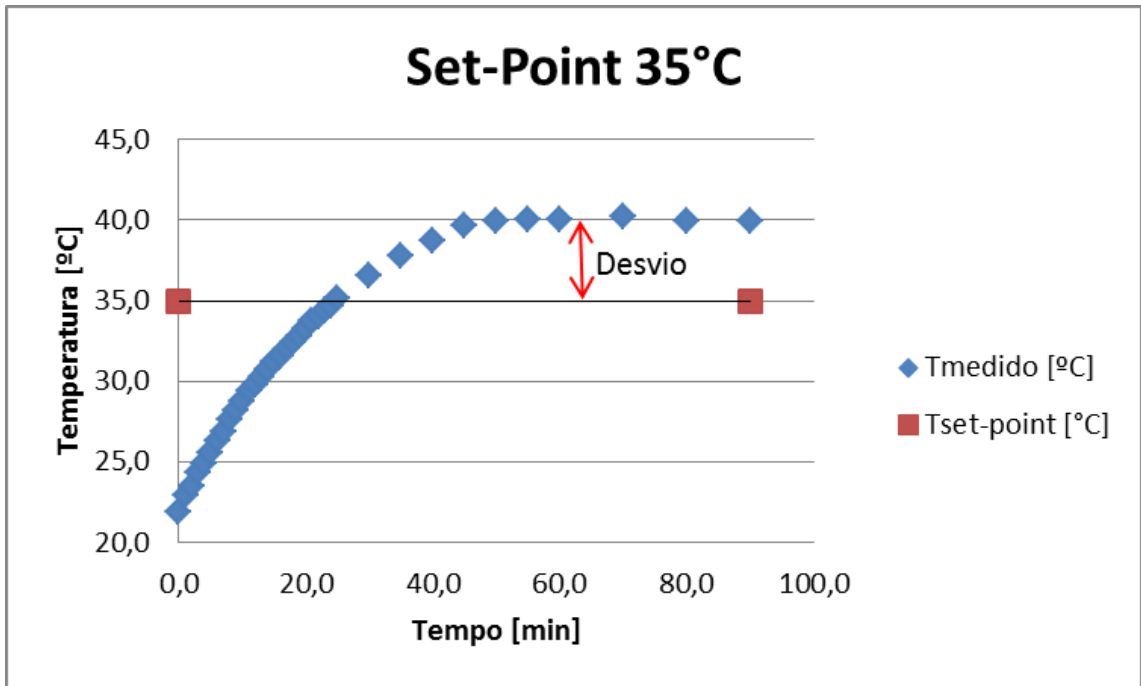


Figura 5.8: Estudo da Temperatura Set-Point 35°C

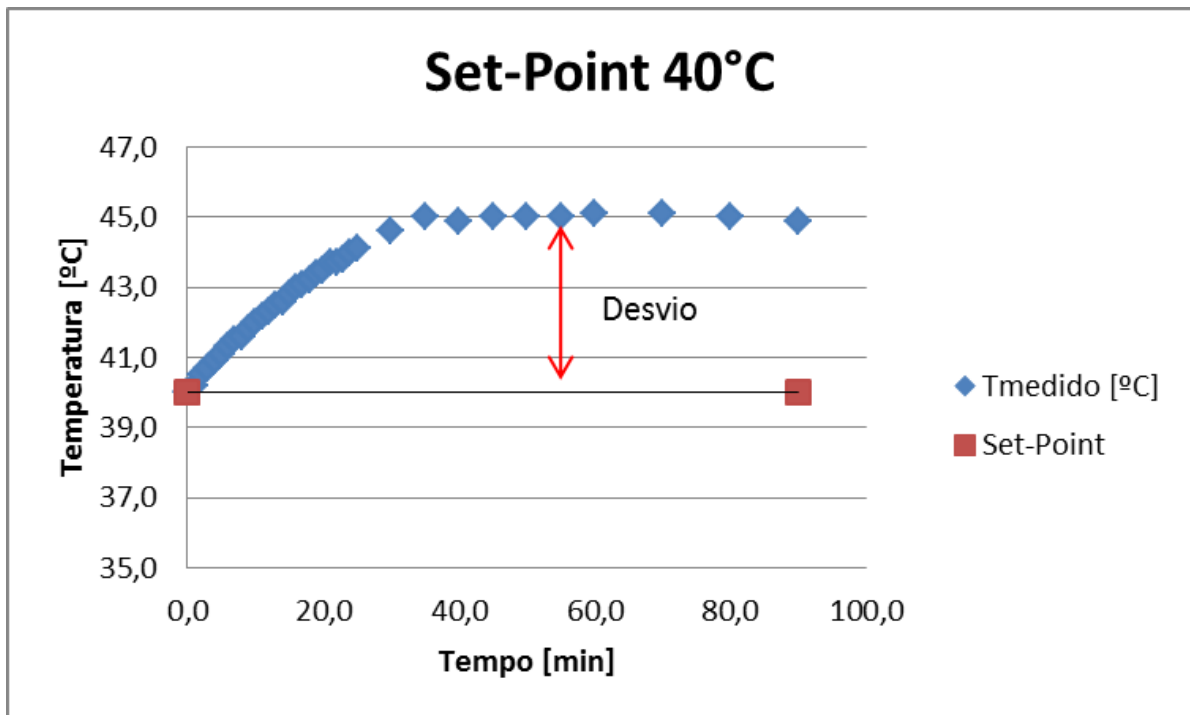


Figura 5.9: Estudo da Temperatura Set-Point 40°C

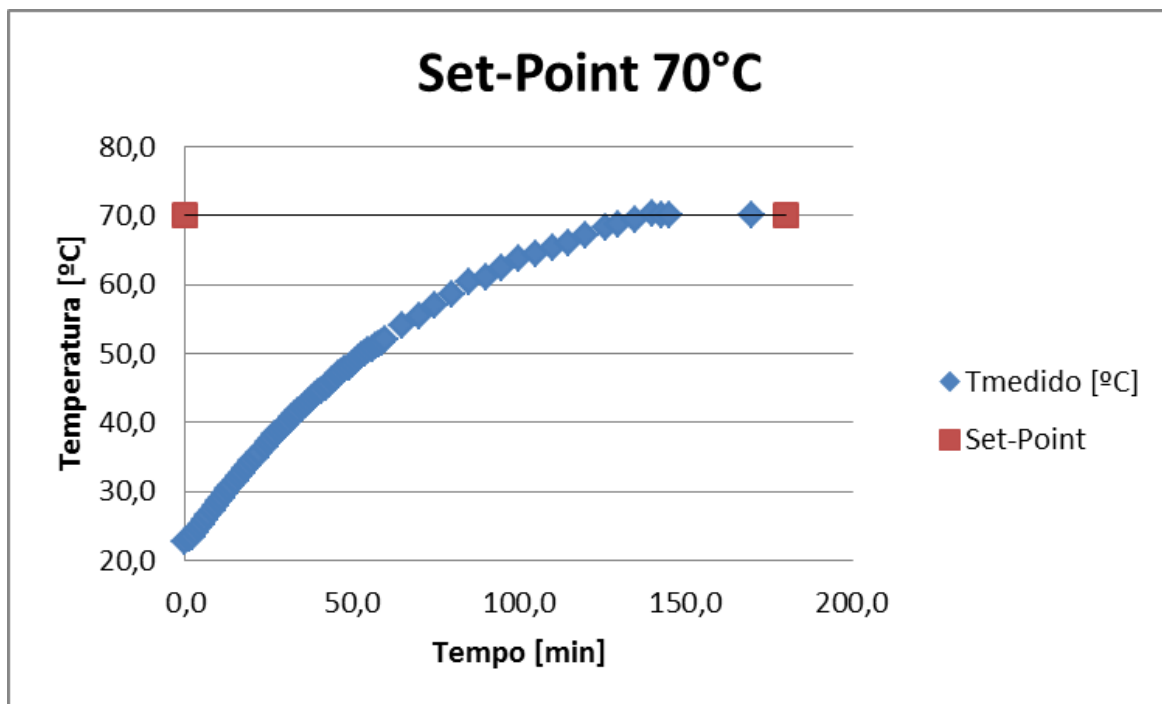


Figura 5.10: Estudo da Temperatura Set-Point 70°C

Tabela 5.2: Estudo do Controlador de Temperatura para Set-Point Abaixo de $T_{inicial}$

Set-Point [°C]	$T_{inicial}$ [°C]	T_{final} [°C]
18,6	23,8	23,8
18,8	23,8	*
18,9	23,8	*
19,8	23,8	24,8

A Figura 5.6: Estudo da Temperatura Set-Point 23°C, a Figura 5.7: Estudo da Temperatura Set-Point 25°C, a Figura 5.8: Estudo da Temperatura Set-Point 35°C e a Figura 5.9: Estudo da Temperatura Set-Point 40°C indicam que a temperatura é controlada 5°C acima do set-point. Foi proposto mais um experimento, com o valor do set-point abaixo da temperatura inicial, conforme dados da Tabela 5.2: Estudo do Controlador de Temperatura para Set-Point Abaixo de $T_{inicial}$. Nesta tabela, se set-point de 18,6°C (5,2°C menor que $T_{inicial}$), a manta de aquecimento não liga e, como não há sistema de arrefecimento neste biorreator, a temperatura se mantém constante. Para set-point de 18,8°C e 18,9°C, notou-se que a manta foi ligada, indicando que o sistema iria controlar a temperatura acima do set-point. Estas temperaturas foram estudadas apenas para perceber se a manta iria funcionar, porém o experimento não foi seguido. Optou-se por

utilizar o *set-point* de 19,8°C e esperar para observar em qual temperatura o sistema seria controlado. Como esperado, a temperatura foi controlada 5°C acima do valor inserido. Esta faixa de 5°C é válida para temperaturas menores que a máxima aceita pelo equipamento, como notado na Figura 5.10: *Estudo da Temperatura Set-Point 70°C*. A temperatura máxima que pode ser inserida no equipamento como *set-point* é 70°C. Para este caso, a temperatura controlada é a mesma do valor inserido.

Conclui-se, portanto, que, para *set-point* menor que $T_{inicial}$, se a diferença entre eles for maior que 5°C, a temperatura será mantida na $T_{inicial}$. Se a faixa de temperatura do *set-point* for $[(T_{inicial} - 5), 65]$ [°C], a temperatura controlada será de $(T_{set-point} + 5)$ [°C]. Caso a temperatura do *set-point* seja maior que 65°C, a temperatura será controlada em 70°C. Como este biorreator será utilizado pelo LCA e as células estudadas necessitam de temperatura de 28°C ou 37°C, para o primeiro caso, o *set-point* deve ser de 23°C. Para o segundo, de 32°C, ou seja, a temperatura de *set-point* com relação à desejada será dada por:

$$T_{set-point} = T_{desejada} - 5 \text{ [}^\circ\text{C]}$$

5.2.3. *Estudo do Controlador de pH, Resultados e Discussão*

A primeira etapa do estudo do controlador de pH foi a calibração do sensor de pH utilizando soluções tampões de de pH 4 e 7, conforme indicação do manual de instruções do fornecedor do equipamento.

Um teste preliminar foi feito para se analisar a resposta do atuador. No teste, utilizou-se uma solução de pH medido pelo sensor igual a $pH_{solução} = 2,65$. O $pH_{setpoint} = 8,0$ foi inserido e a temperatura medida foi de $T_{ambiente} = 25,3^\circ\text{C}$. Manteve-se as outras variáveis constantes, Histerese = 0,02, seg ciclo e seg atraso em 3 e intensidade em 100. Ao posicionar o interruptor em base, notou-se que a bomba ligou, mostrando concordância com o esperado. Adicionou-se base à solução e quando $pH_{medido} > pH_{setpoint}$, a bomba de base parou de atuar. Quando $pH_{medido} > 8,02$ (valor do $pH_{setpoint}$ mais o da histerese) e o interruptor foi mudado para ácido, a bomba de ácido ligou, indicando, também concordância com o esperado.

Os testes seguintes foram feitos utilizando soluções de ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de sódio (NaOH), conforme informações das tabelas a seguir:

Tabela 5.3: Informações da solução de Hidróxido de Sódio Utilizada no Experimento

Solução NaOH 2M	
Temperatura da Solução [°C]	20,4
pH_{teórico}	14,3
pH_{medido}	13,35

Tabela 5.4: Informações da solução de Ácido Clorídrico Utilizada no Experimento

Solução HCl 2M	
Temperatura da Solução [°C]	20,6
pH_{teórico}	-0,3
pH_{medido}	- 0,03

O “pH_{teórico}” foi calculado por meio de $\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$. Os valores medidos e teóricos estão próximos e a diferença pode ser devido ao fato de não considerarmos a diferença de temperatura com relação aos 25°C teóricos ou à imprecisão na formulação das soluções.

A seguir são apresentados os dados referentes a quatro estudos realizados, com posterior discussão dos mesmos.

Tabela 5.5: Dados referentes ao Primeiro Teste para Análise do Controlador de pH

Teste 1: Interruptor em "base"			
Constantes do Experimento			
Solução inicial	HCL 2M	pH_{medido}	Volume adicionado de NaOH 2M [ml]
Temperatura [°C]	20,6	-0,03	0
Volume inicial [mL]	10	0,09	2,5
pH _{setpoint}	5	0,4	5
Histerese	0,02	0,7	7,5
Seg ciclo	3	1,2	12,5
Seg atraso	3	7,21	15
Intensidade	100		

Na

Tabela 5.5: Dados referentes ao Primeiro Teste para Análise do Controlador de pH, é notado que ao se adicionar 15ml de solução 2M de NaOH, o pH passa a ser acima de 7 e ultrapassa o valor do *set-point*. Ao atingir este patamar, foi notado que a bomba de base parou. Ao mudarmos o interruptor para ácido, a bomba volta a funcionar. Indicando que, para este caso, a bomba está funcionando corretamente.

Tabela 5.6: Dados referentes ao Segundo Teste para Análise do Controlador de pH

Constantes do Experimento		Teste 2: Interruptor em "base"	
Solução inicial	HCL 2M	pH_{medido}	Volume adicionado de NaOH 2M [ml]
Temperatura [°C]	21,6	0,2	0
Volume inicial [mL]	5	0,4	2,5
pH _{setpoint}	3	1,12	5
Histerese	0,02	8,54	7,5
Seg ciclo	3		
Seg atraso	3		
Intensidade	100		

Na Tabela 5.6: Dados referentes ao Segundo Teste para Análise do Controlador de pH, é notado que ao se adicionar 7,5ml de solução 2M de NaOH, o pH passa a ser acima de 8 e ultrapassa o valor do set-point. Ao atingir este patamar, foi notado que a bomba de base parou. Ao mudarmos o interruptor para ácido, a bomba volta a funcionar. Indicando que, para este caso, a bomba também está funcionando corretamente.

Tabela 5.7: Dados referentes ao Terceiro Teste para Análise do Controlador de pH

Constantes do Experimento		pH _{medido}	Volume adicionado de NaOH 2M [ml]
Solução inicial	NaOH 2M alterada	12,07	0
Temperatura [°C]	27,9	12,17	0,05
Volume inicial [mL]	15	12,21	0,1
pH _{setpoint}	13	12,23	0,15
Histerese	0,02	12,24	0,2
Seg ciclo	3	12,29	0,25
Seg atraso	3	12,26	0,3
Intensidade	100	12,31	0,35
		12,32	0,4
		12,34	0,45
		12,32	0,5
		12,31	0,6
		12,34	0,85
		12,4	1,35
		12,45	1,85
		12,51	2,35
		12,56	3,35
		12,65	4,85
		12,64	6,35
		12,71	7,85
		12,77	9,35
		12,83	11,85
		12,86	14,35
		12,89	16,85
		12,93	19,35
		12,98	58

Para o caso presente na

Tabela 5.7: Dados referentes ao Terceiro Teste para Análise do Controlador de pH, a solução inicial de NaOH 2M foi alterada com adição de solução de HCL 2M para diminuição de seu pH para que pudéssemos estudar a função de Histerese. Nota-se que após a adição de 58ml de solução 2M de NaOH, o pH foi medido em 12,98 e a bomba de base parou de funcionar, indicando que a função Histerese está funcionando corretamente. Como também era de se esperar, ao mudar o interruptor para ácido, a bomba também não funciona.

Tabela 5.8: Dados referentes ao Quarto Teste para Análise do Controlador de pH

Teste 4: Interruptor em "ácido"			
Constantes do Experimento		pH_{medido}	Volume adicionado de HCl 2M [ml]
Solução inicial	NaOH 2M		
Temperatura [°C]	21,3	13,05	0
Volume inicial [mL]	10	12,73	2,5
pH _{setpoint}	12,93		
Histerese	0,02		
Seg ciclo	3		
Seg atraso	3		
Intensidade	100		

Já na Tabela 5.8: Dados referentes ao Quarto Teste para Análise do Controlador de pH, é notado que ao se adicionar 2,5ml de solução 2M de HCl, o pH passa a ser 12,73 e fica abaixo do valor do set-point. Ao atingir este patamar, foi notado que a bomba de ácido parou. Ao mudarmos o interruptor para base, a bomba volta a funcionar. Indicando que, para este caso, também, a bomba está funcionando corretamente.

Com base nos experimentos realizados, concluímos que o controlador de pH está funcionando corretamente.

5.3. Estudo dos Medidores de Vazão de Gás e do Controlador de Oxigênio Dissolvido

O medidor de vazão de gases é um equipamento externo ao *TEC-BIO-PLUS* e o medidor de oxigênio dissolvido está acoplado a ele, porém pertence a outra empresa, conforme figuras a seguir:

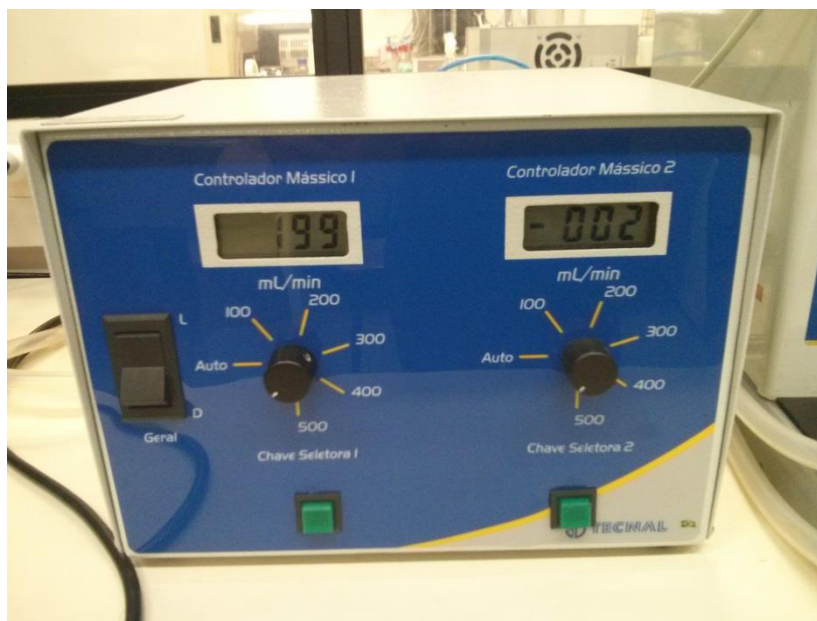


Figura 5.11: Equipamento para Medição e Controle da Vazão de Gás



Figura 5.12: Tela com o Valor Medido de Oxigênio Dissolvido

O controle do sistema de oxigênio dissolvido é feito por meio do programa *FloStat.v*, confeccionado na linguagem do programa *Lab View*.

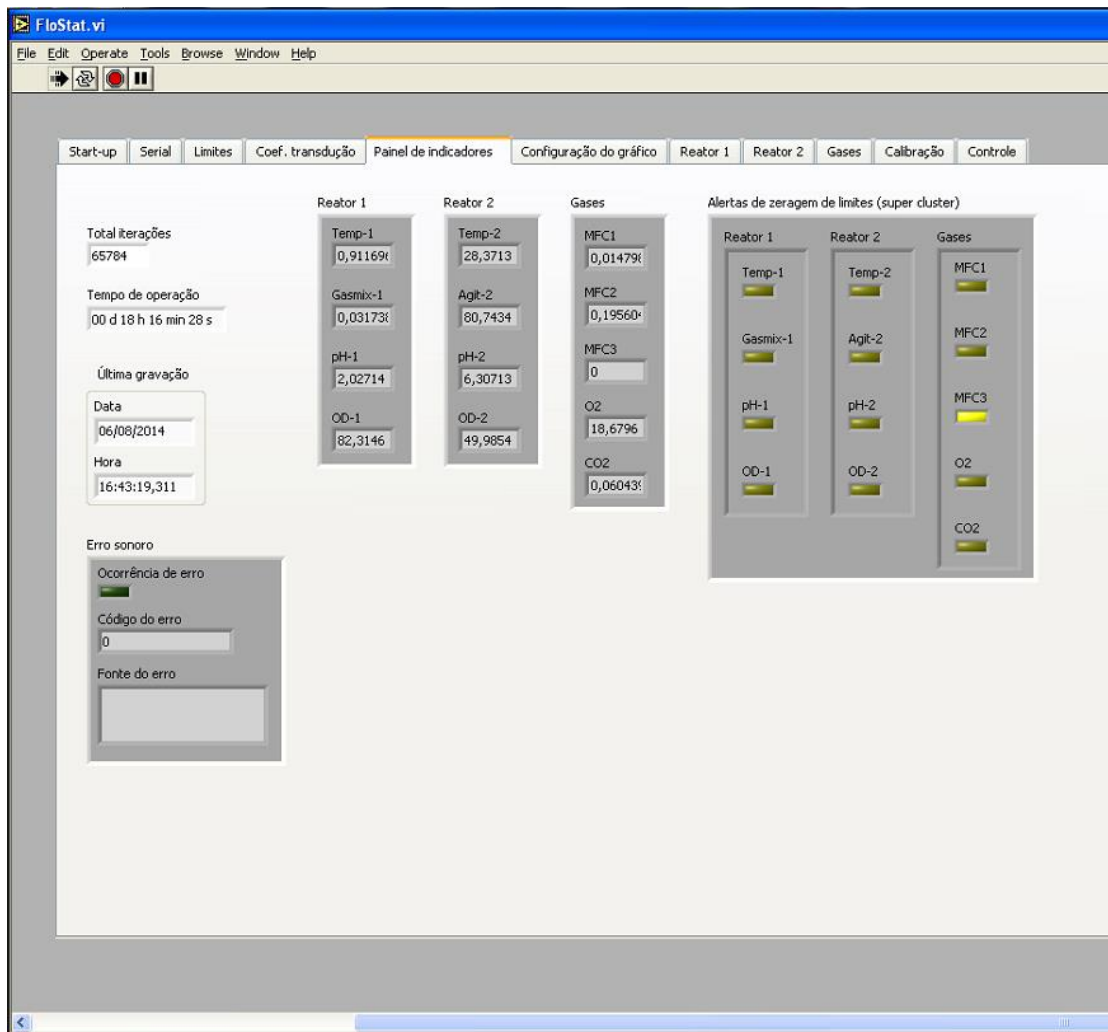


Figura 5.13: Tela do Lab View com Valores Medidos de Oxigênio Dissolvido (OD-1) e das Vazões de Gases (MFC1 e MFC2)

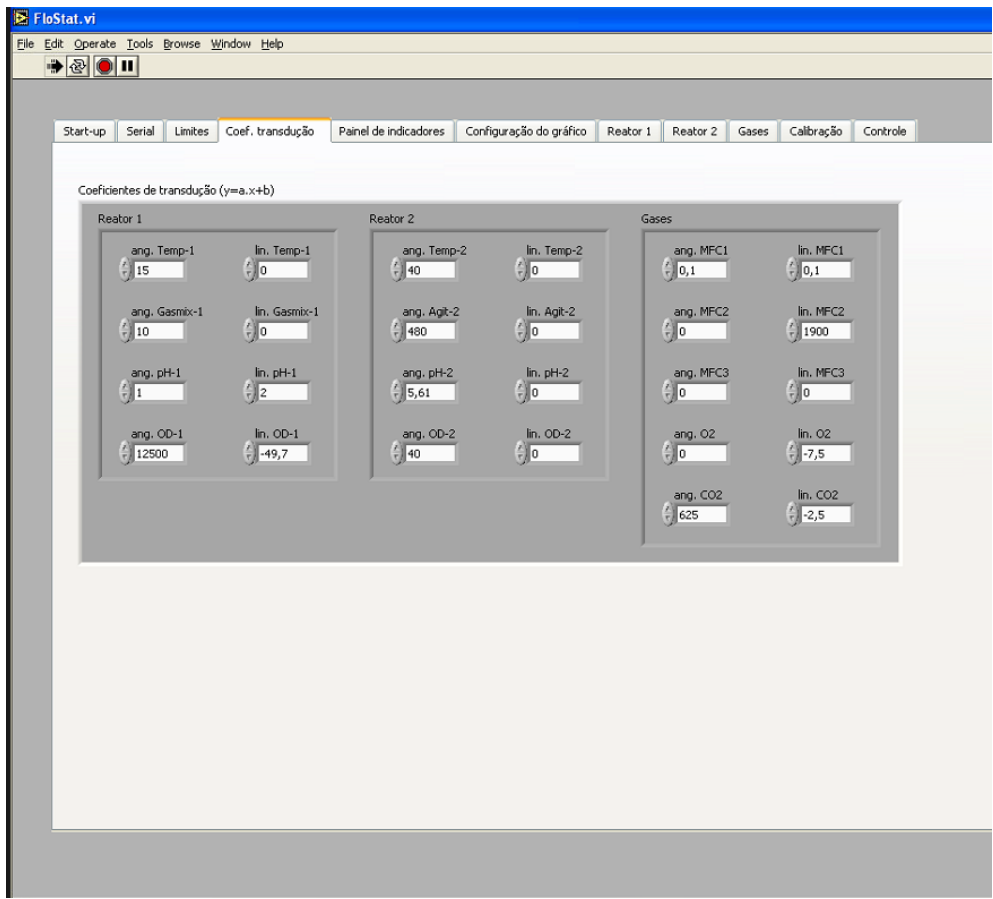


Figura 5.14: Valores dos Coeficientes Angular e Linear para Transformar a Medição de Corrente em Porcentagem de Oxigênio Dissolvido (OD-1)

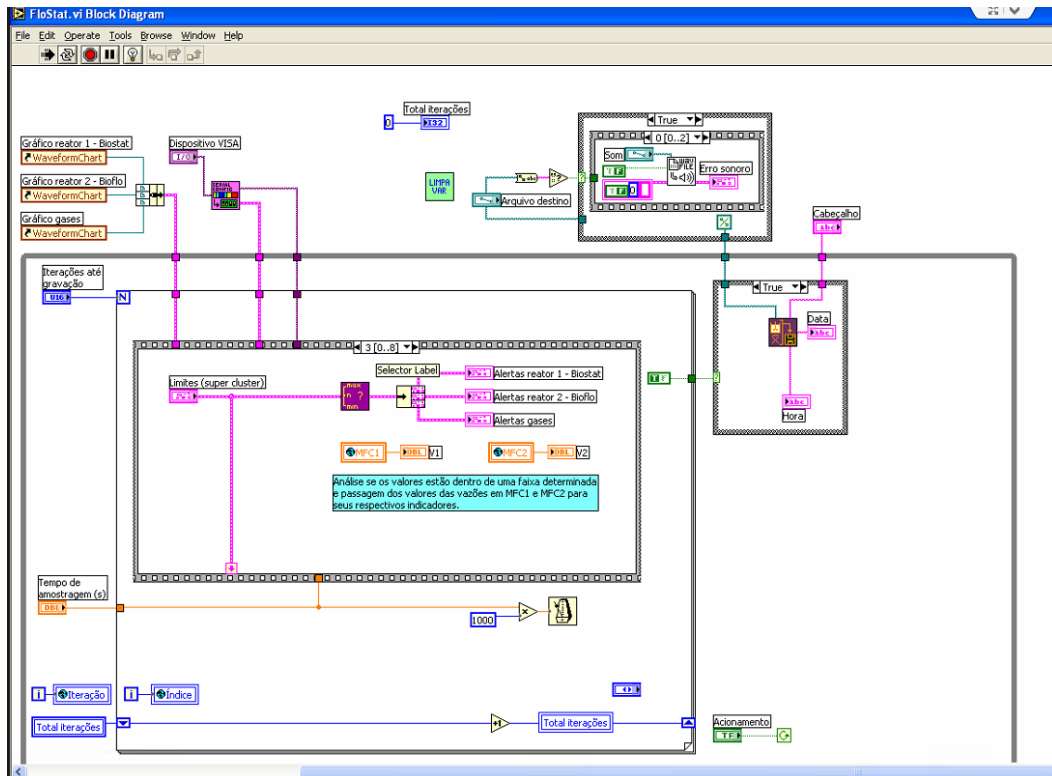


Figura 5.15: Representação de Parte do Programa em Lab View para Controle de Oxigênio Dissolvido

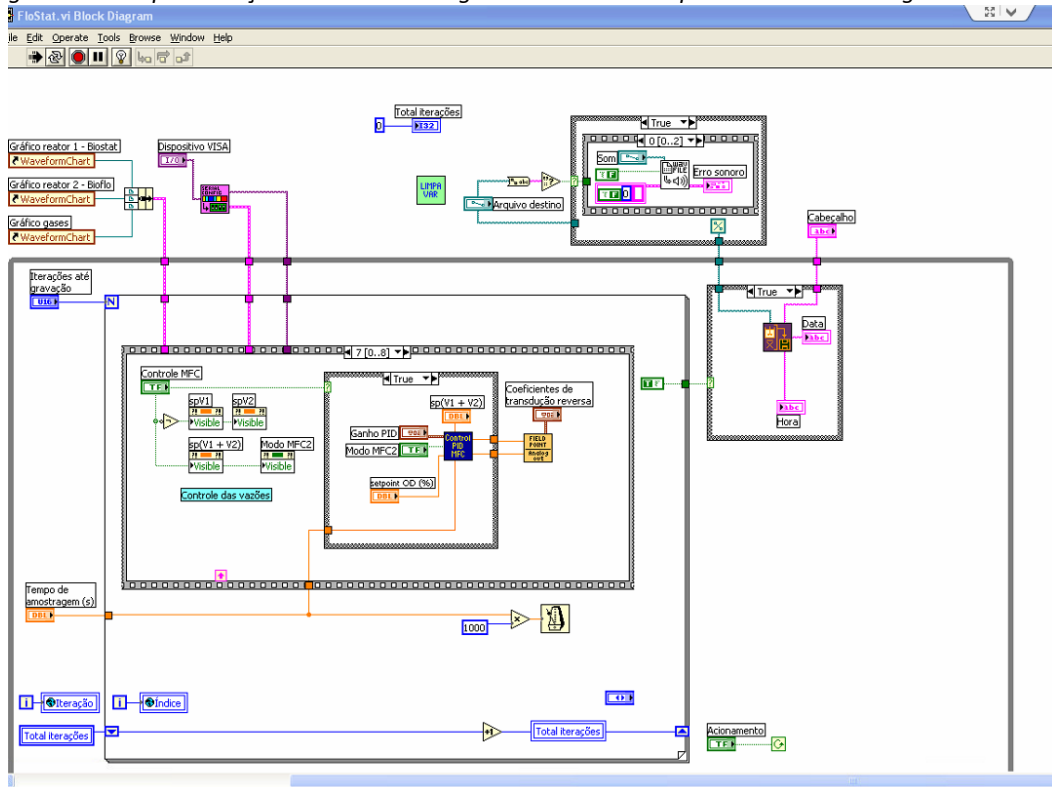


Figura 5.16: Representação de Parte do Programa em Lab View para Controle de Oxigênio Dissolvido

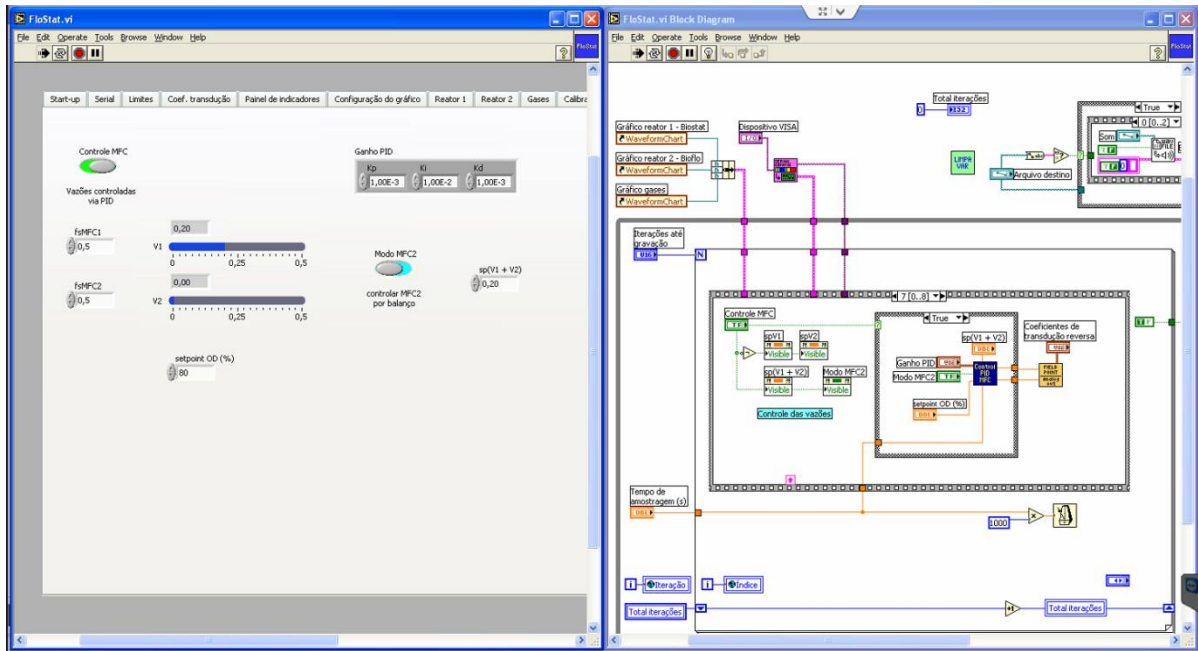


Figura 5.17: Tela Vista pelo Usuário e Programa em Lab View

Observam-se duas telas na Figura 5.17: Tela Vista pelo Usuário e Programa em Lab View, a da esquerda mostra a tela em que o usuário insere valores das constantes do controlador de oxigênio dissolvido, do *set-point* de OD-1 e da vazão total dos gases. Também acompanha os valores medidos dos gases. Na tela da direita está a parte do programa em Lab View responsável pela tela da esquerda.

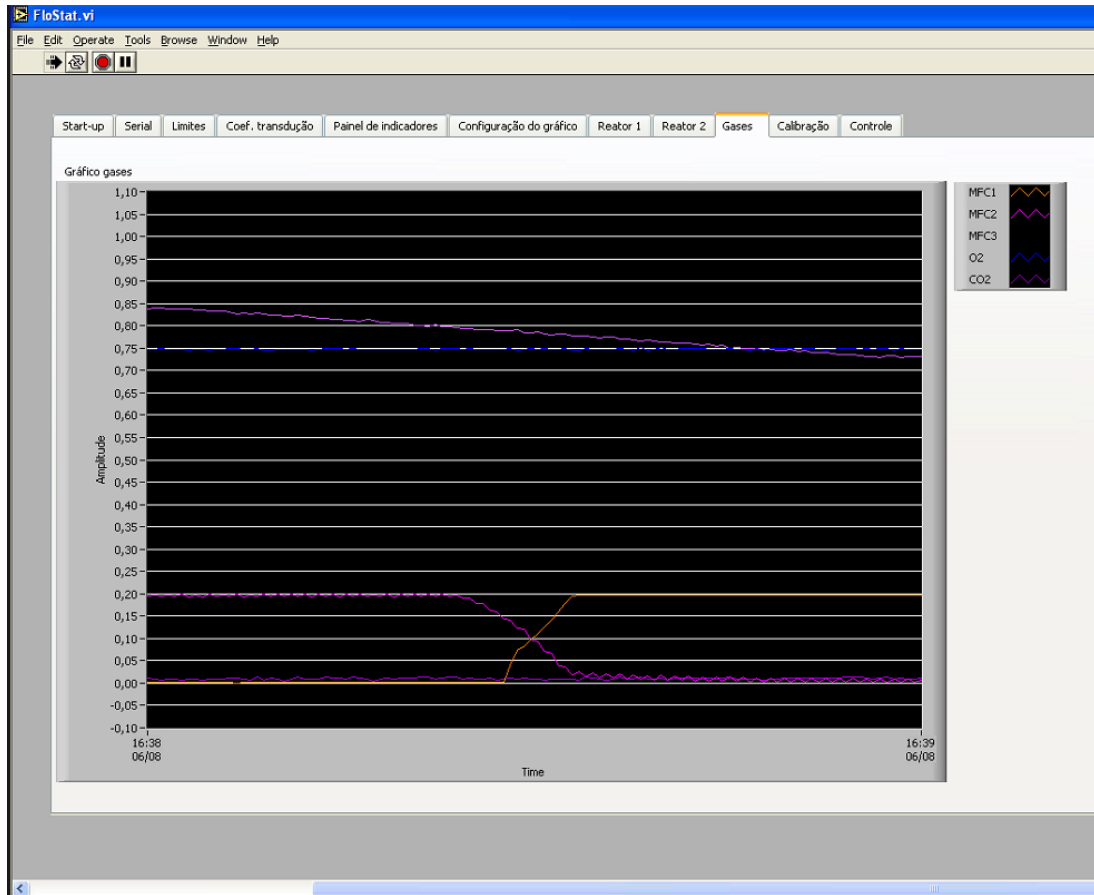


Figura 5.18: Valores Medidos de Oxigênio Dissolvido e das Vazões do Gases

A Figura 5.18: Valores Medidos de Oxigênio Dissolvido e das Vazões do Gases mostra a tela do programa que mostra ao usuário os valores medidos de oxigênio dissolvido e das vazões de cada um dos gases em função do tempo. Pode-se notar que quando o valor medido de oxigênio dissolvido ultrapassa o valor de *set-point*, há atuação do controlador e as vazões de cada gás se invertem.

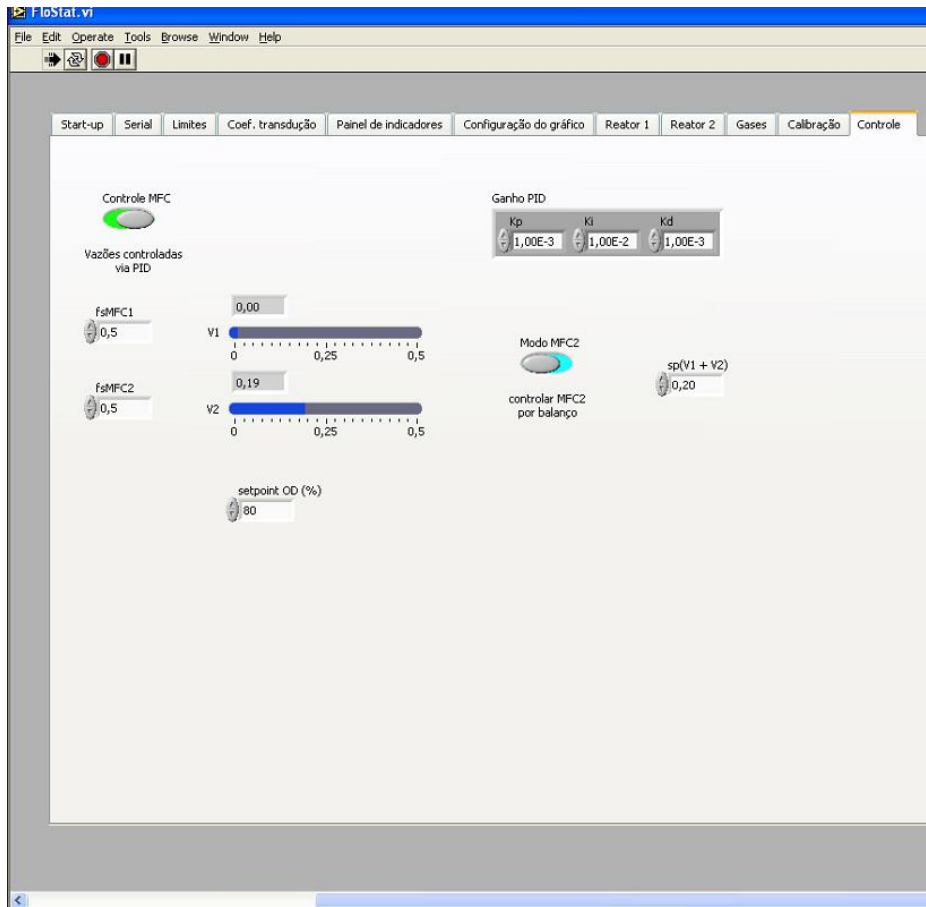


Figura 5.19: Tela Vista pelo Usuário

5.3.1. Estudo do Controlador de Oxigênio Dissolvido e Vazão de Gases, Resultados e Discussão

O objetivo dos experimentos foi a descoberta dos valores das constantes K_p , K_i e K_d do controlador de oxigênio dissolvido. Para tal, fez-se uma adaptação do método de Ziegler-Nichols em que, originalmente, aplica-se um degrau na variável controlada ($O_{2\text{dissolvido}}$, no caso) para a obtenção destas constantes, conforme figura e tabela a seguir. Escolheu-se um intervalo de tempo em que existe aproximadamente um degrau na variável controlada e, a partir daí se fez a primeira estimativa dos valores.

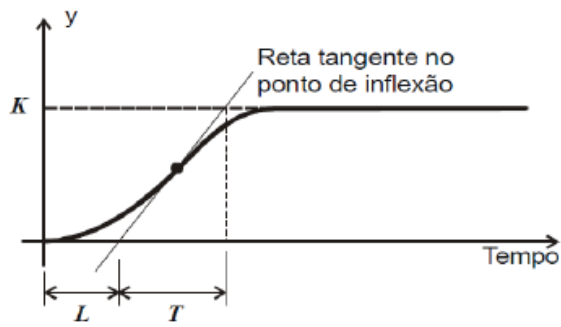


Figura 5.20: Resposta ao Degrau Unitário para o método Ziegler-Nichols

Tabela 5.9: Sintonia de Ziegler-Nichols

Tipo de Controlador	K_P	τ_i	τ_d
P	$\frac{T}{L}$	∞	0
PI	$0,9\frac{T}{L}$	$\frac{L}{0,3}$	0
PID	$1,2\frac{T}{L}$	$2L$	$\frac{L}{2}$

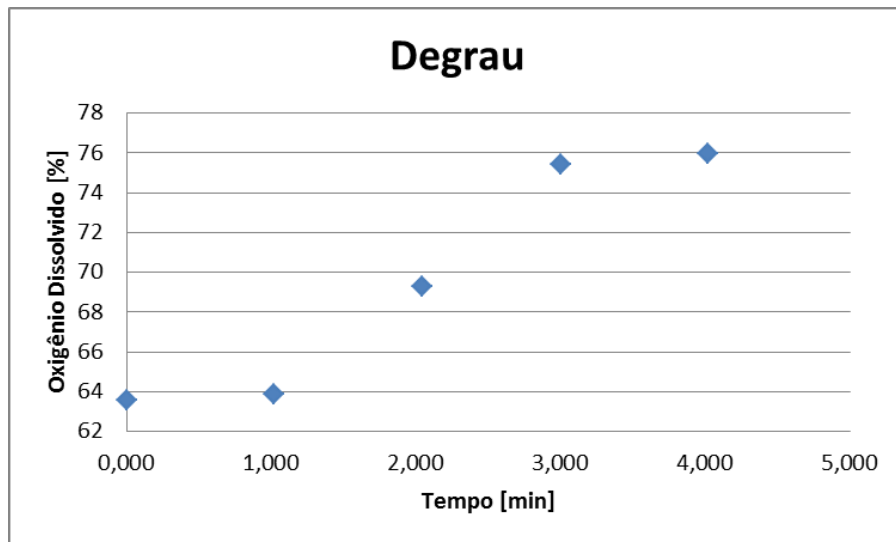


Figura 5.21: Resposta ao Degrau Aplicado no Oxigênio Dissolvido

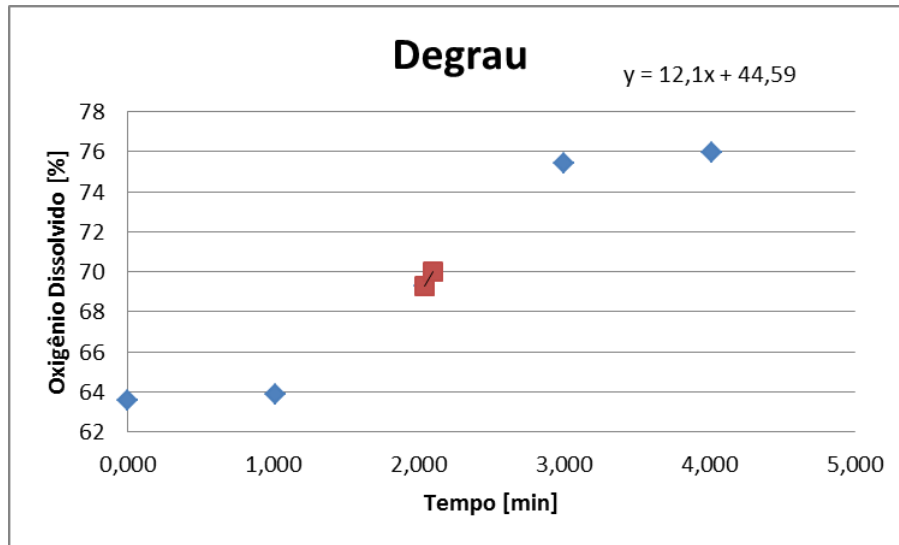


Figura 5.22: Resposta ao Degrau Aplicado no Oxigênio Dissolvido com Reta Tangente ao Ponto de Inflexão

Após a obtenção dos dados conforme a Figura 5.22: Resposta ao Degrau Aplicado no Oxigênio Dissolvido com Reta Tangente ao Ponto de Inflexão, calcularam-se valores de T e L, de acordo com a Figura 5.20: Resposta ao Degrau Unitário para o método Ziegler-Nichols e, a partir da linha PID da Tabela 5.9: Sintonia de Ziegler-Nichols. Sabendo que

$$G_c = K_p \left(1 + \frac{1}{T_i s} + T_d s \right)$$

$$K_i = \frac{K_p}{T_i}$$

$$K_d = K_p \times T_d.$$

os resultados obtidos são:

Tabela 5.10: Valores Calculados para as Constantes

L	0,571983
T	2,019008
Kp	4,235804
Ti	1,143967
Td	0,285992
Ki	3,702733
Kd	1,211405

Estudos com o controlador indicaram que a ordem de grandeza de cada uma das constantes é 10^{-2} , portanto os valores inseridos no programa foram os mostrados na Tabela 5.11: Valores das Constantes do Controlador de Oxigênio Dissolvido Inseridos no Programa, a seguir.

Tabela 5.11: Valores das Constantes do Controlador de Oxigênio Dissolvido Inseridos no Programa

Kp	Ki	Kd
0,042358	0,037027	0,012114

Os resultados obtidos para este caso são mostrados a seguir.

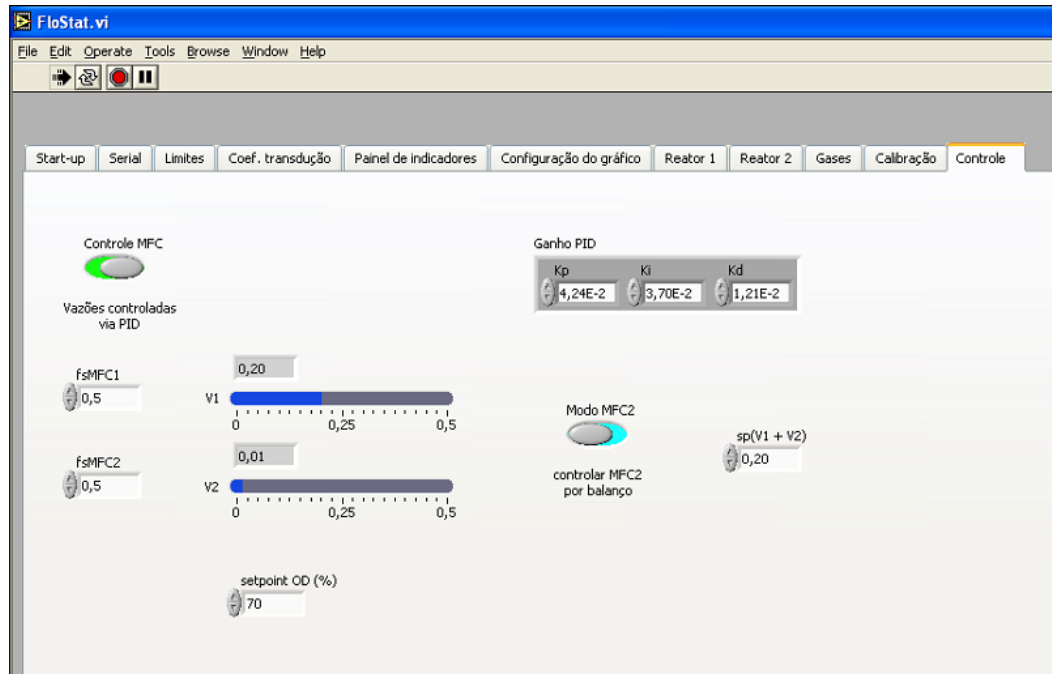


Figura 5.23: Tela do Programa Com Inserção das Constantes Calculadas

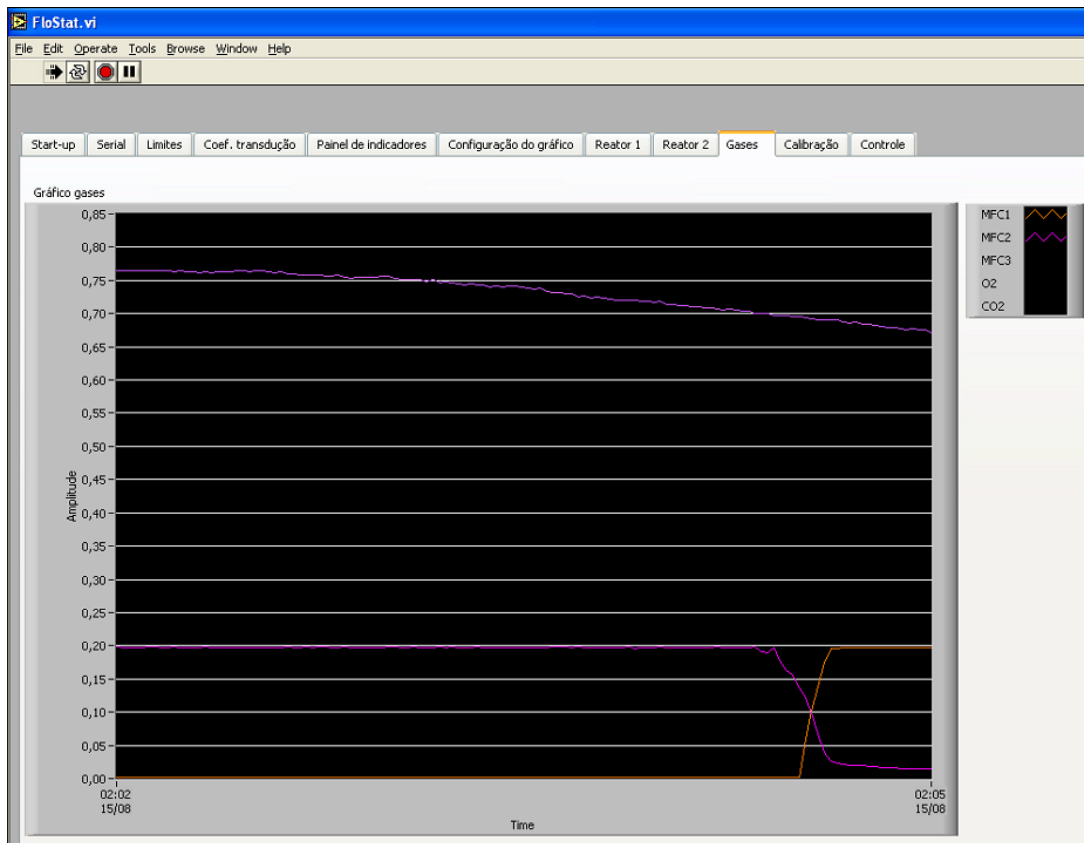


Figura 5.24: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Calculados para as Constantes

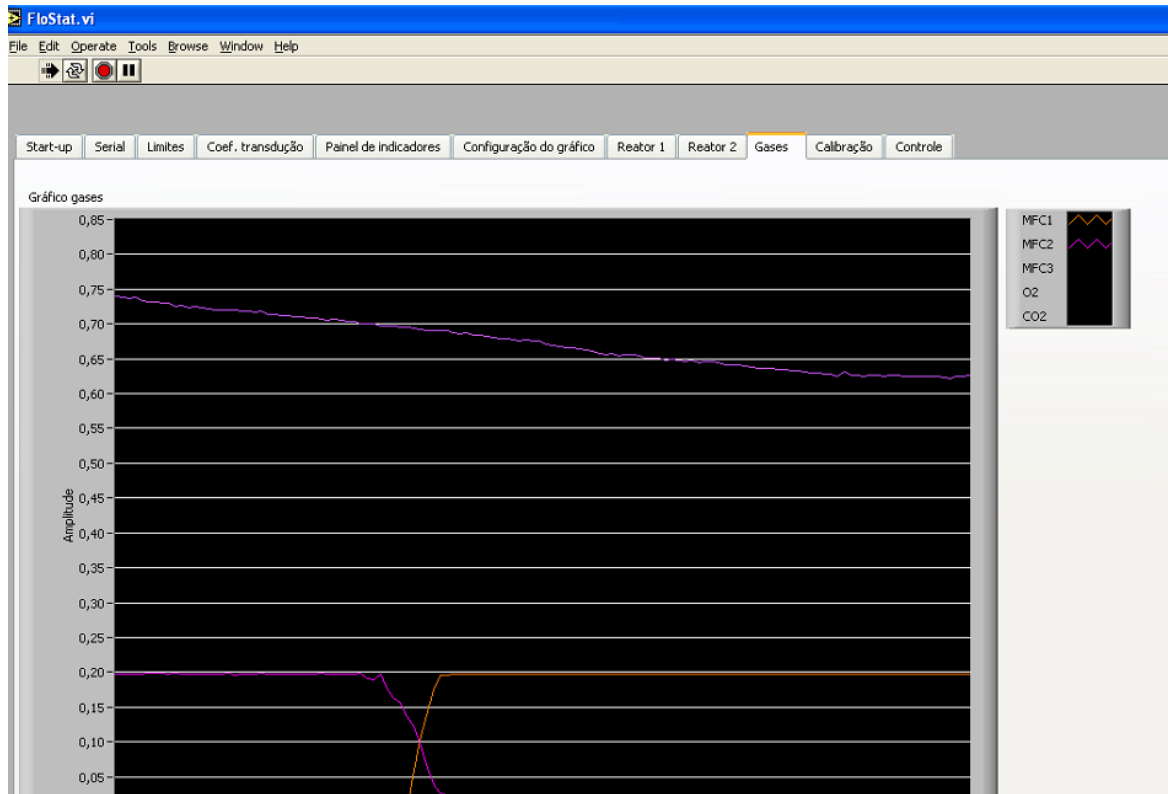


Figura 5.25: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Calculados para as Constantes

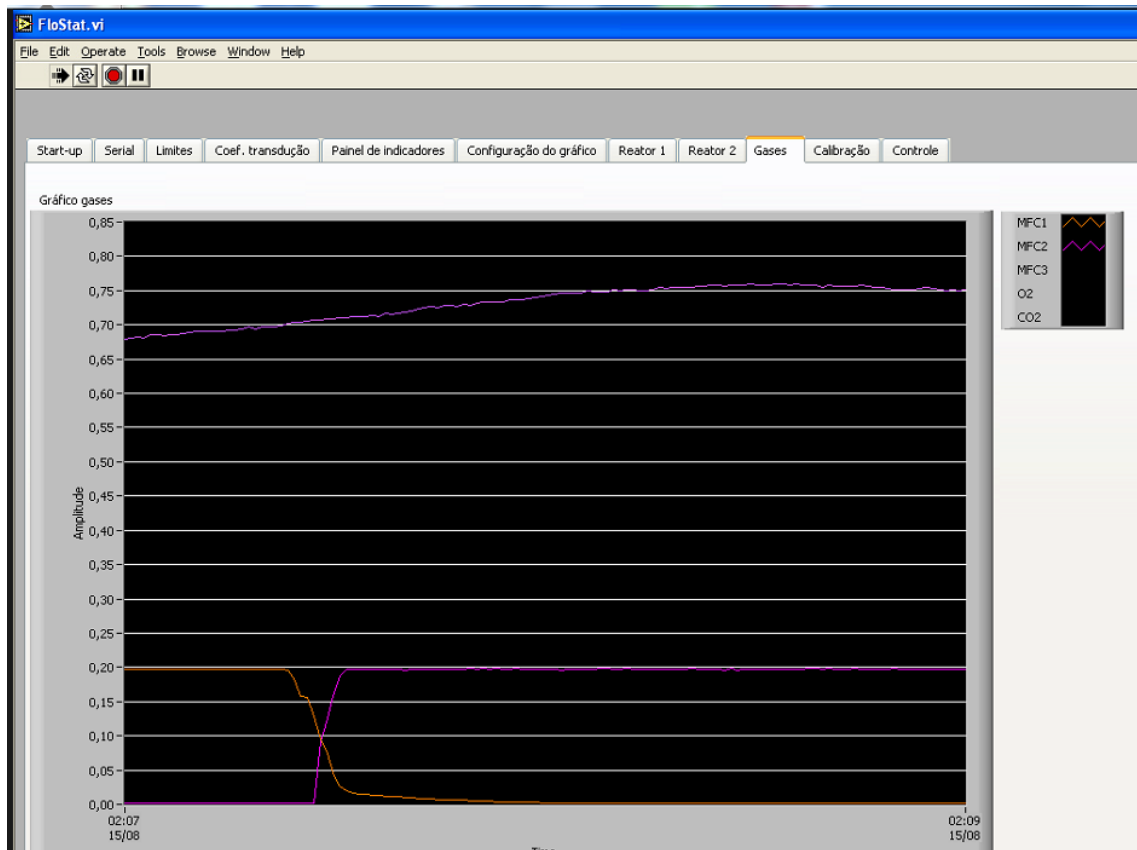


Figura 5.26: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Calculados para as Constantes

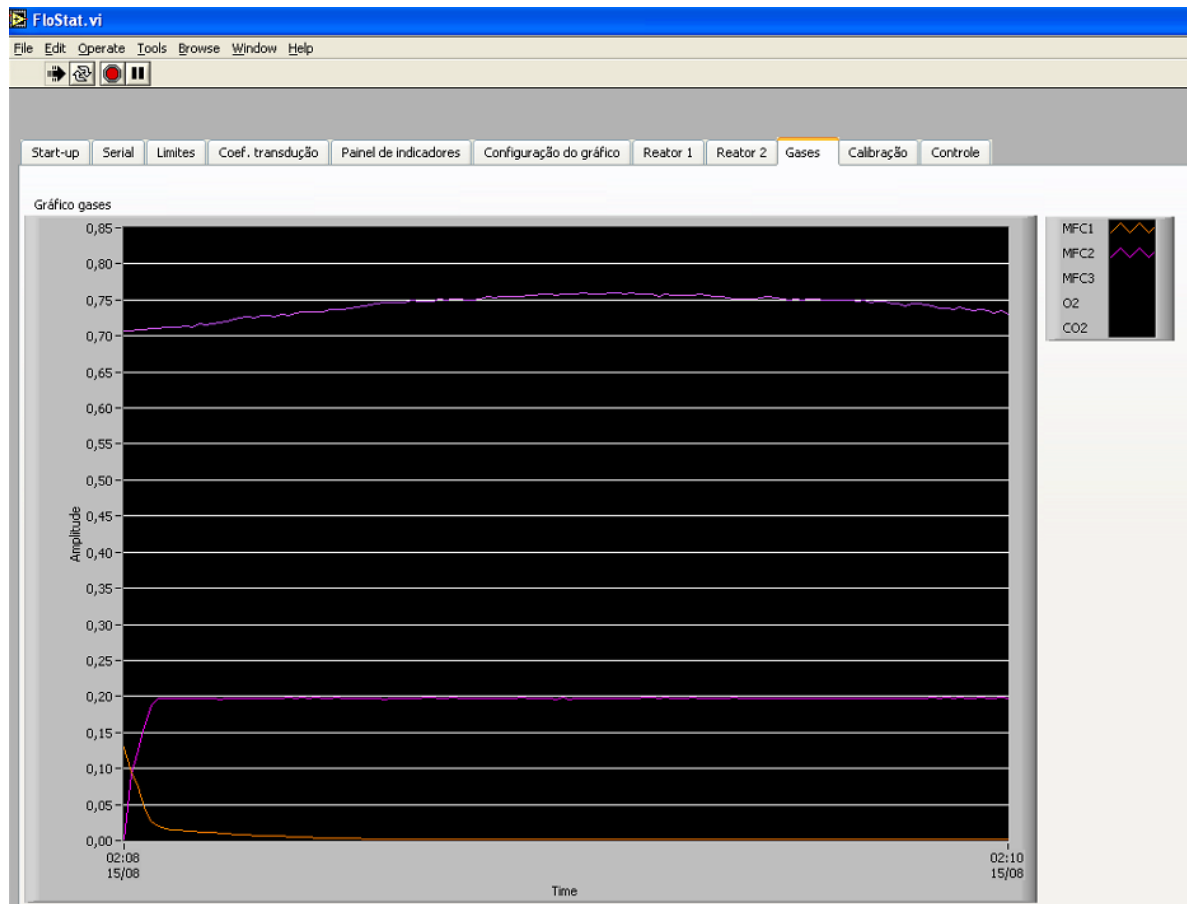


Figura 5.27: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Calculados para as Constantes

Como é de se notar da Figura 5.23: Tela do Programa Com Inserção das Constantes Calculadas, Figura 5.24: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Calculados para as Constantes, Figura 5.25: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Calculados para as Constantes, Figura 5.26: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Calculados para as Constantes e Figura 5.27: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Calculados para as Constantes, para um *set-point* de oxigênio dissolvido em 70%, só existe uma alteração nas vazões dos gases a partir do instante em que é percebido pelo sistema que o patamar do *set-point* foi atingido, indicando o comportamento de um controlador do tipo *on-off*. Tal modo de atuação não é interessante, uma vez que uma válvula é completamente fechada e a outra totalmente aberta em um curto intervalo de tempo. Além disso, o oxigênio dissolvido varia de

aproximadamente 63% até 77%. Tais fatos indicam que os valores das constantes do controlador não foram bem escolhidos.

Tentou-se aplicar o mesmo método em outros experimentos, porém sem êxito. Dessa forma optou-se por descobrir empiricamente melhores valores para tais constantes, observando o comportamento das variáveis manipuladas e controlada por meio do gráfico do programa. Após alguns testes, mantendo duas variáveis constantes e variando a terceira, chegou-se ao melhor resultado para os valores estudados, conforme tabela a seguir:

Tabela 5.12: Valores Empíricos para as Constantes do Controlador

Kp	Ki	Kd
0,053189	0,00575	0,123

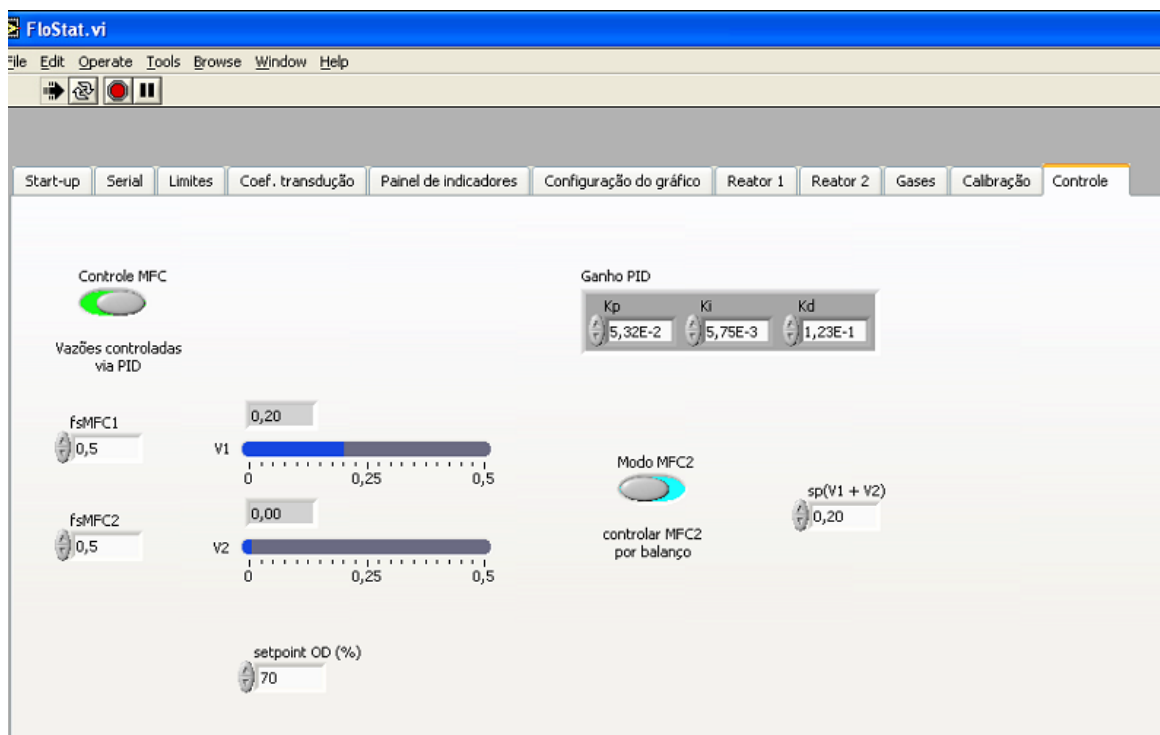


Figura 5.28: Tela do Programa Com Inserção das Constantes Empíricas

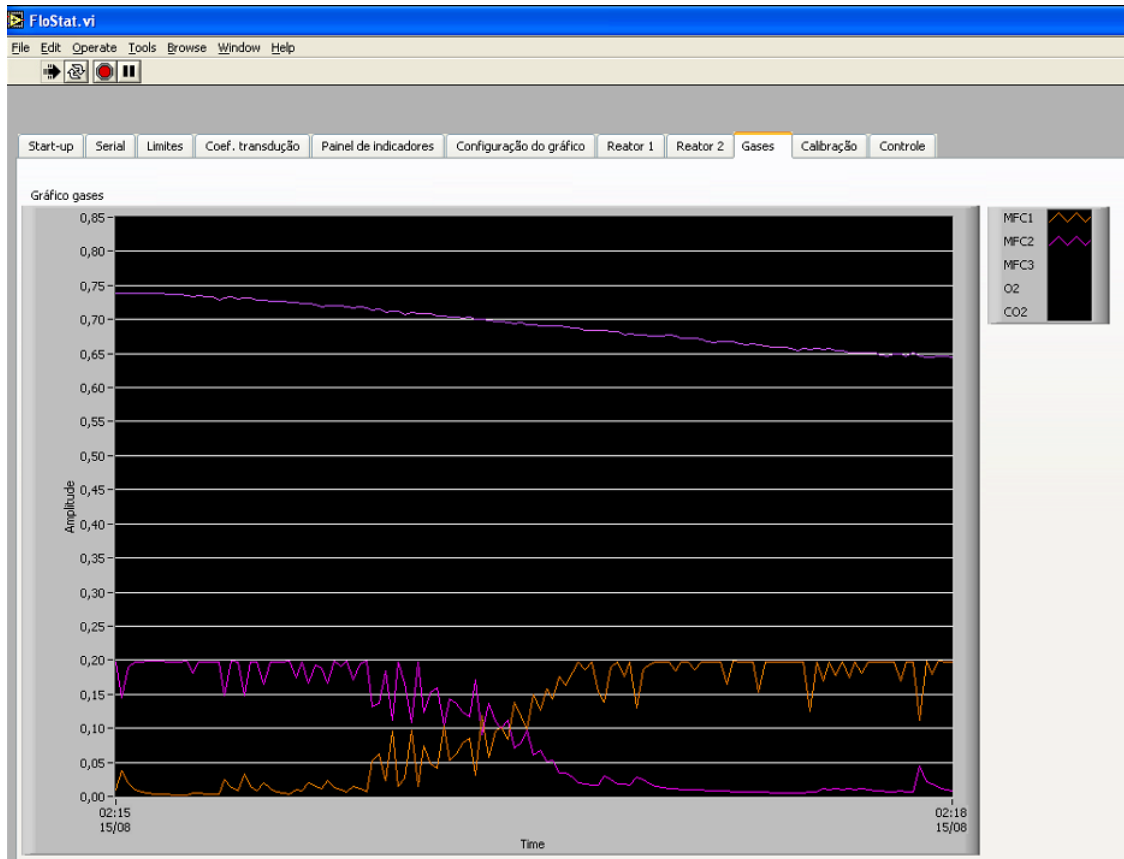


Figura 5.29: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Empíricos para as Constantes

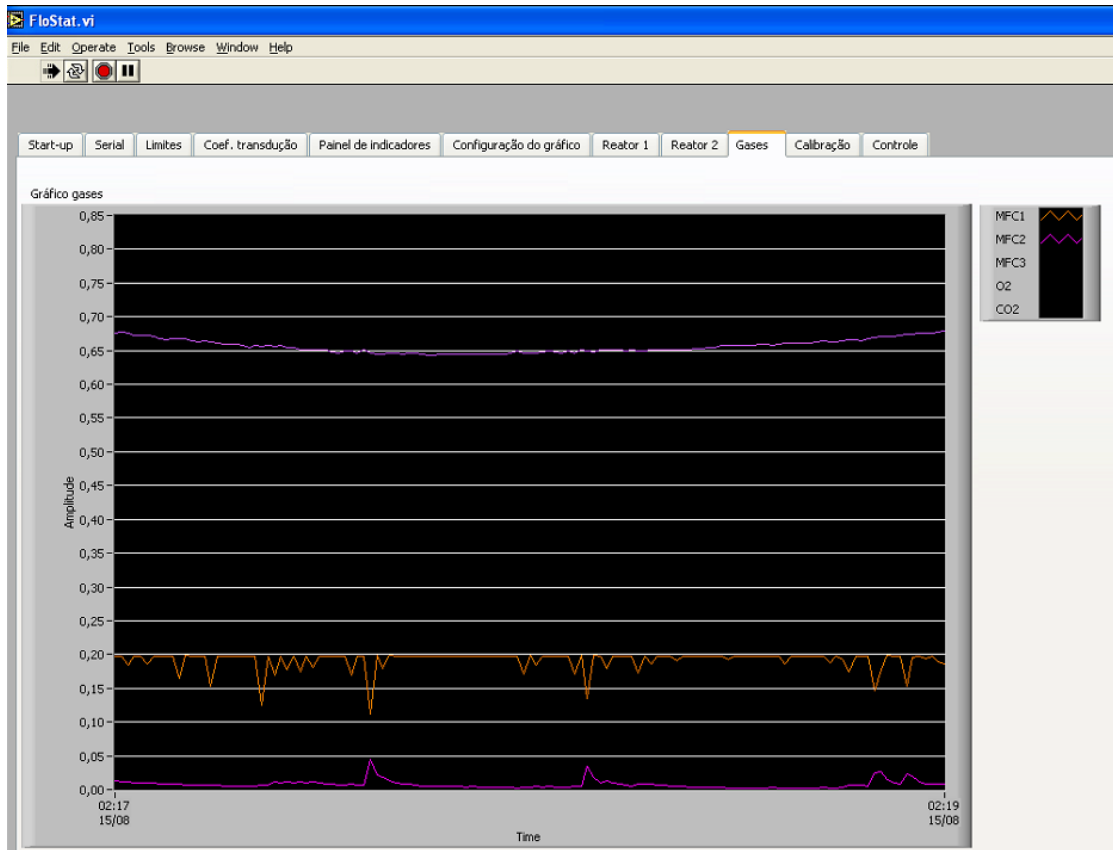


Figura 5.30: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Empíricos para as Constantes

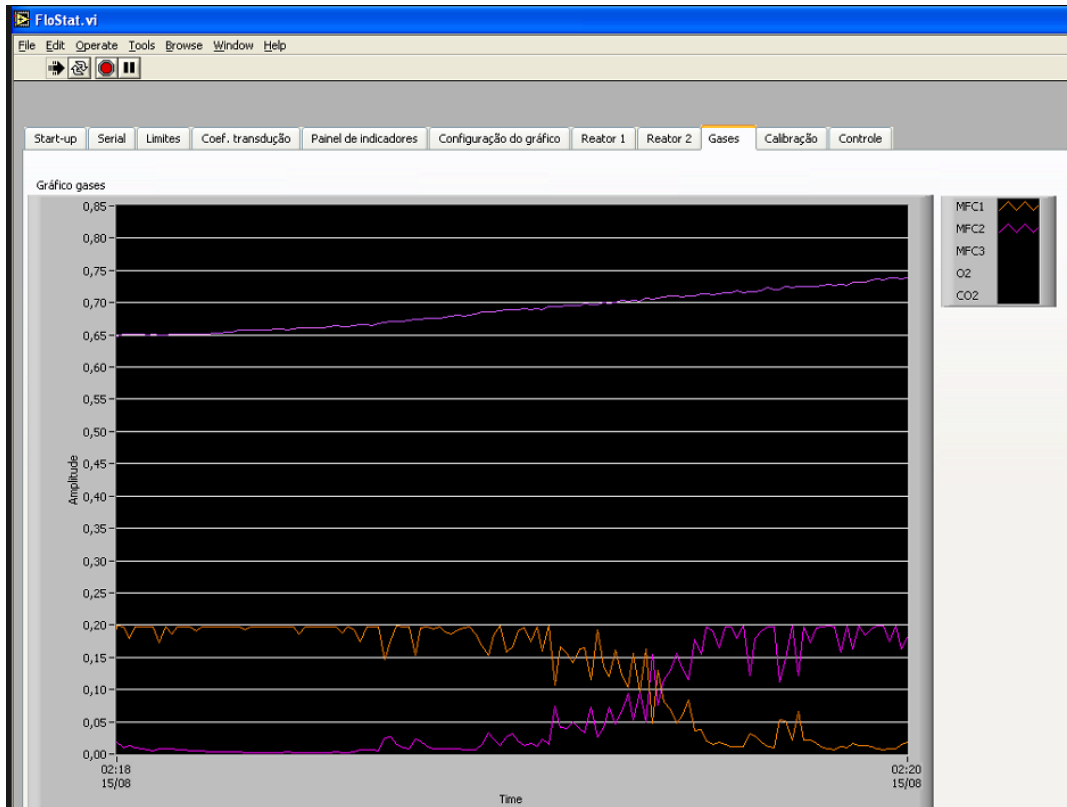


Figura 5.31: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Empíricos para as Constantes

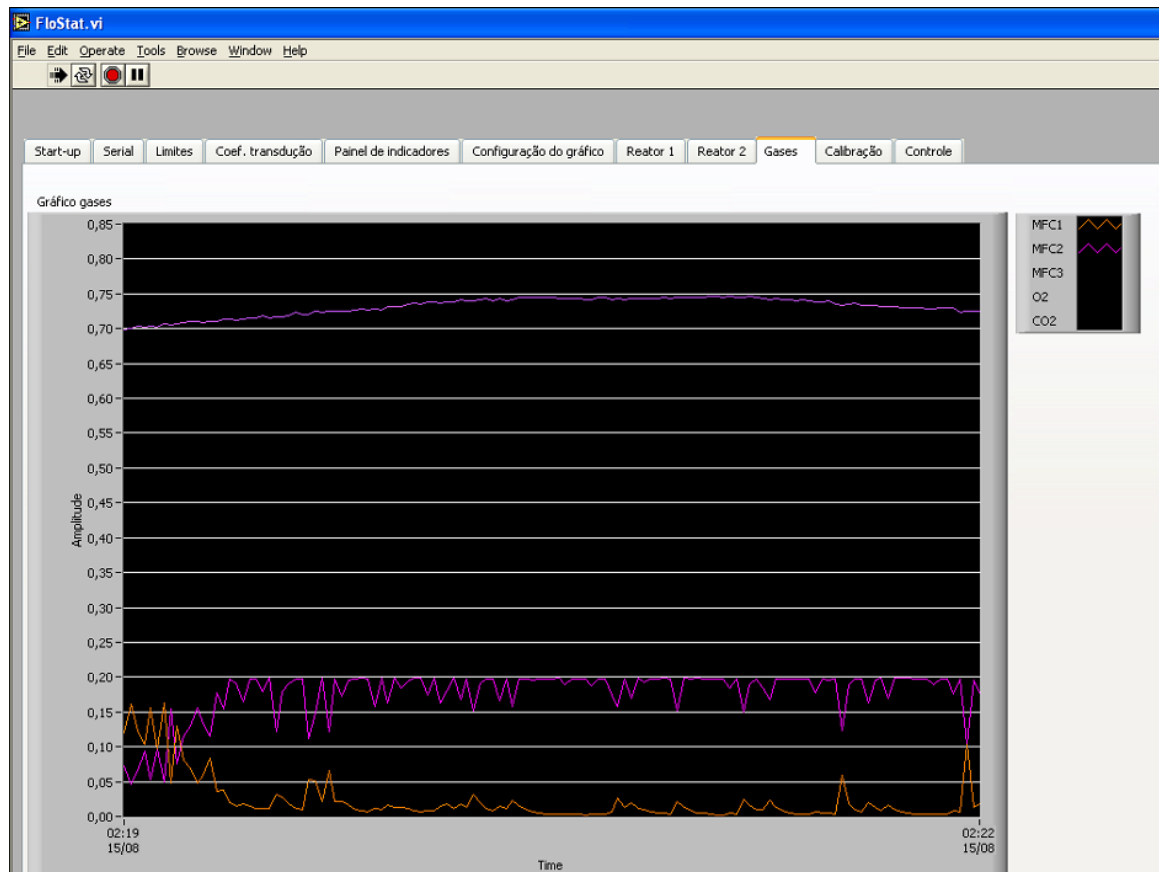


Figura 5.32: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Empíricos para as Constantes

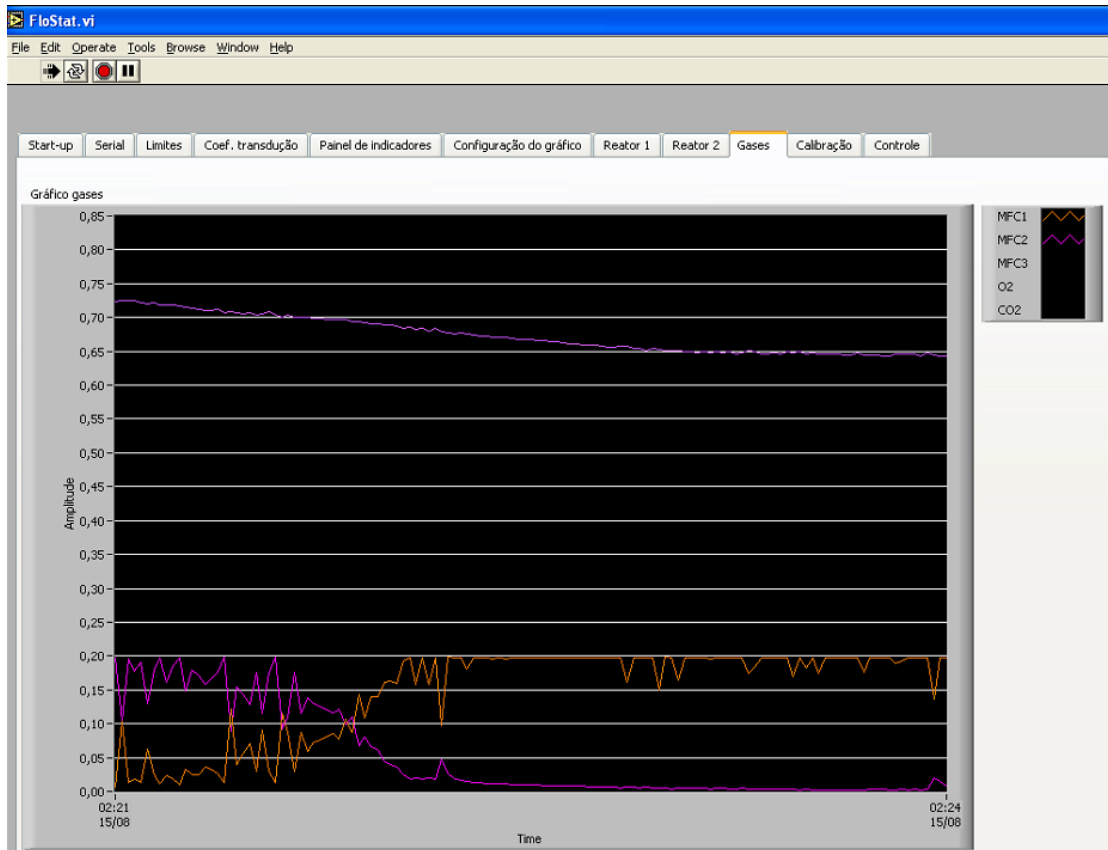


Figura 5.33: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Empíricos para as Constantes

Nota-se que os gráficos da Figura 5.29: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Empíricos para as Constantes, Figura 5.30: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Empíricos para as Constantes, Figura 5.31: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Empíricos para as Constantes, Figura 5.32: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Empíricos para as Constantes e Figura 5.33: Resposta das Variáveis Manipuladas (Vazões de Gás) e Controlada (Oxigênio Dissolvido) para os Valores Empíricos para as Constantes, referentes às constantes presentes na Figura 5.28: Tela do Programa Com Inserção das Constantes Empíricas apresentam resultados mais satisfatórios comparados ao das constantes calculadas, pois o gráfico das variáveis manipuladas (vazões de gás) indica que existe uma atuação não apenas no instante em que o valor do set-point é ultrapassado. Isso indica que existe uma leve alteração de um controlador *on-off* para um controlador PID. Além disso, os valores de oxigênio dissolvido

variam em valores mais próximos do *set-point*, comparativamente ao se usarem os valores das constantes calculados, variam de 65% a 75%, ou seja, 5% em torno do *set-point*.

Este trabalho foi finalizado escolhendo-se, portanto, os valores empíricos para as constantes, conforme a Tabela 5.12: Valores Empíricos para as Constantes do Controlador. Como sugestão de refino das constantes, para o caso em que o programa roda com as constantes empíricas, será aplicada a mesma metodologia presente na Figura 5.20: Resposta ao Degrau Unitário, porém a resposta do sistema para estes novos valores não serão apresentados neste trabalho, pois o experimento não foi realizado.

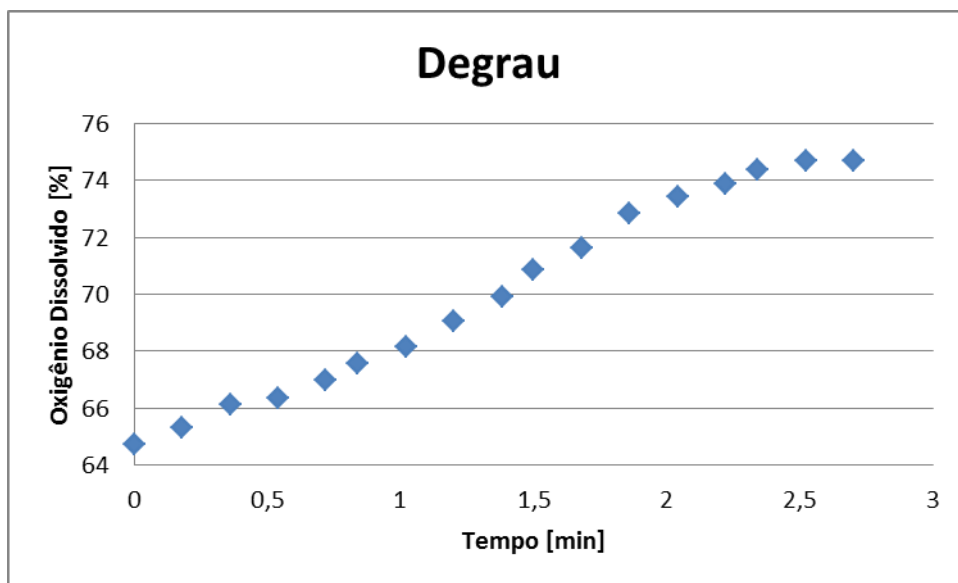


Figura 5.34: Resposta ao Degrau Aplicado no Oxigênio Dissolvido com valores de Constantes Empíricas

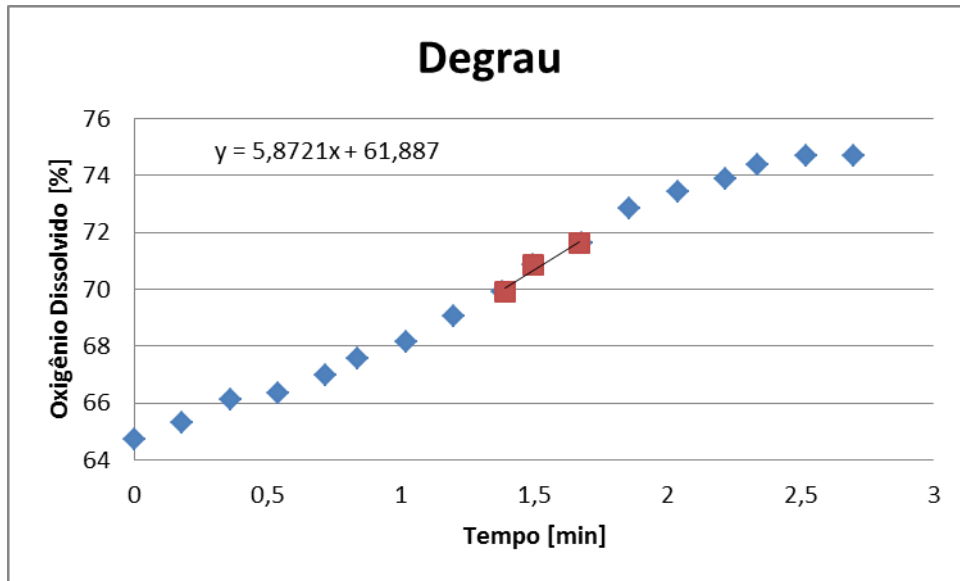


Figura 5.35: Resposta ao Degrau Aplicado no Oxigênio Dissolvido Utilizando Constantes Empíricas com Reta Tangente ao Ponto de Inflexão

Os pontos vermelhos da Figura 5.35: Resposta ao Degrau Aplicado no Oxigênio Dissolvido Utilizando Constantes Empíricas com Reta Tangente ao Ponto de Inflexão indicam pontos inseridos como forma de aproximação de uma reta tangente (que cruza a curva original em apenas um dos pontos azuis) ao ponto de inflexão da curva, não sendo, portanto, parte dos dados experimentais. Estes são representados na cor azul.

O tratamento dos dados foi feito do mesmo modo que as informações presentes na Tabela 5.10: Valores Calculados para as Constantes, com isso tem-se:

Tabela 5.13: Valores Calculados para Novas Constantes

L	0,484494
T	1,696838
Kp	4,202742
Ti	0,968989
Td	0,242247
Ki	4,337244
Kd	1,018103

Da mesma forma, as constantes são da ordem de grandeza 10^{-2} .

Tabela 5.14: Valores recomendados de Constantes

Kp	Ki	Kd
0,042027	0,043372	0,010181

É de se esperar que tais valores de constantes impliquem melhor resposta do controlador de oxigênio dissolvido, já que os dados utilizados neste cálculo apresentam melhores características que os usados na primeira tentativa, quando as válvulas dos gases abriam ou fechavam logo que a mudança no *set-point* era percebida pelo sistema.

6. CONCLUSÃO

Os experimentos realizados indicam que os controladores de agitação e de pH do sistema estão funcionando de maneira adequada. Já o sistema para o controle da temperatura apresenta uma defasagem de 5°C com relação ao *set-point*, porém como o sistema é controlado, basta que o utilizador altere o valor de *set-point* para que o sistema fique na temperatura desejada.

Para o sistema de controle do oxigênio dissolvido, nota-se que a porcentagem de oxigênio dissolvido está variando em torno de 5% para mais ou para menos com relação ao *set-point*. Tal fato indica que as constantes obtidas para o controle necessitam de um refino para que o sistema tenha melhor desempenho.

7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

TIEMI, J. T. ; OTA, V. H. A. **Projeto e Simulação do Controle de um Reator Slar Híbrido para Degradação de Fenol**. São Paulo: Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2010.

VICENTE, B. G. G. L. Z. **Modelagem do Transporte de O₂ em um Biorreator para Cultivo de Célula Animal**. São Carlos: Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2008.

FALEIROS, G. F. Heurística. **Iterated Local Search Aplicada a Problemas de Sintonia de Controladores PID**. Ouro Preto: Universidade Federal de Ouro Preto, 2012.

Reator / Biorreator / Fermentador TEC-BIO-PLUS MANUAL DE INSTRUÇÕES (v. 1.2)

MANUAL DE INSTRUÇÕES MODELOS : 1,5; 4,5; 7,5; 15,0 , **TECNAL – Equipamentos para Laboratórios**. V1.2. Piracicaba,2010.

Tonso, A. **Biorreatores**. São Paulo: Epusp, 2011. Slides para Disciplina de graduação do Departamento de Engenharia Química, PQI- 2410 -Engenharia Bioquímica 2.

8. ANEXO: MANUAL DE INSTRUÇÕES SIMPLIFICADO DO BIORREATOR *TEC-BIO-PLUS*

O equipamento é ligado ao se pressionar o botão vermelho localizado no canto superior direito, conforme figura:



Figura 8.1: Biorreator *TEC-BIO-PLUS*

1. Controle da Agitação do Sistema



Figura 8.2: Display do Equipamento

- Utilizando o “botão ‘flecha’”, selecionar a opção de controle da rotação;
- Pressionar o “botão 1” para escolher a opção “PRG”;

- Utilizando o “botão ‘flecha’”, escolher o *set-point* desejado para a rotação;
- Pressionar o “botão 1” para confirmar a opção.

2. Controle da Temperatura do Sistema

- Verificar se o tubo receptor do sensor de temperatura está preenchido com glicerina ou, em alguns casos, água. Caso não esteja, completar com uma dessas duas substâncias. Após estar completo, inserir o sensor de temperatura;
 - Utilizando o “botão ‘flecha’”, selecionar a opção de controle da temperatura;
 - Pressionar o “botão 1” para escolher a opção “PRG”;
 - Utilizando o “botão ‘flecha’”, escolher o *set-point* desejado para a temperatura;
- *O valor do *set-point* deve ser 5°C menor que a temperatura desejada.
- Pressionar o “botão 1” para confirmar a opção.

3. Controle do pH do Sistema

- Caso o sistema utilizado diminua o pH em função do tempo, o interruptor deve estar posicionado na base (para aumentar o pH que está diminuindo). Caso contrário, se o pH aumentar em função do tempo, o interruptor deve estar posicionado no ácido;
- Utilizando o “botão ‘flecha’”, selecionar a opção de controle do pH;
- Pressionar o “botão 1” para escolher a opção “PRG”;
- Utilizando o “botão ‘flecha’”, escolher o *set-point* desejado para o pH;
- Pressionar o “botão 1” para confirmar a opção.

4. Controle do Oxigênio Dissolvido no Sistema

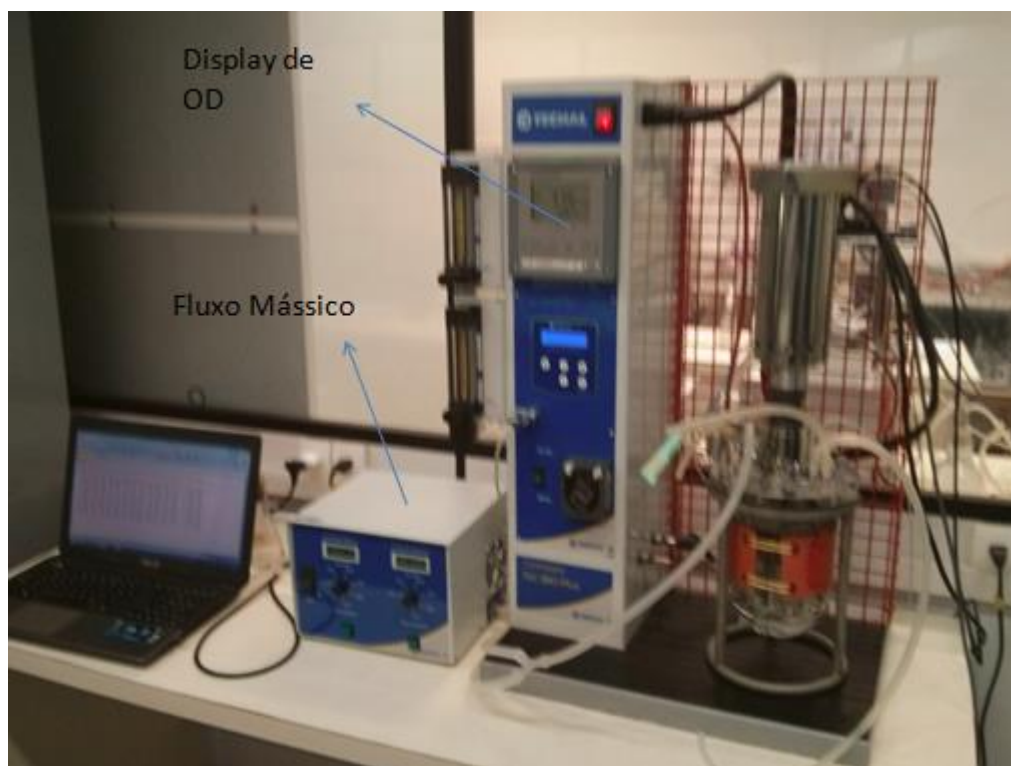


Figura 8.3: Dispositivos relacionados ao controle de oxigênio dissolvido

A Figura 8.3: Dispositivos relacionados ao controle de oxigênio dissolvido indica o local em que a leitura do oxigênio dissolvido e do fluxo mássico são feitos. O equipamento indicado por “fluxo mássico” possui controlador manual de vazão de gás e a vazão pode ser controlada pelo programa em *LabView*, conforme sequência a seguir:

- Abrir o programa *FloStat.vi* no *LabView*;
- Escolher a aba “controle”;
- No botão “Controle MFC”, escolher a opção de cor verde, “Vazões controladas via PID”;
- No botão “MFC2”, escolher a opção azul claro, “controlador MFC2 por balanço”;
- Na janela “setpoint OD(%)”, escolher a porcentagem desejada de oxigênio dissolvido;
- Na janela “FsMFC1”, escolher a vazão máxima de corrente gasosa rica em oxigênio (não ultrapassar 0,5 para não sobrecarregar o sistema);

- Na janela “FsMFC2”, escolher a vazão máxima de corrente gasosa pobre em oxigênio (não ultrapassar 0,5 para não sobrecarregar o sistema);
- Na janela “sp(V1+V2)”, escolher a vazão mássica máxima da soma das vazões de cada um dos gases de entrada;
- Apertar o botão *play* no canto superior esquerdo do programa para que o mesmo comece a atuar.