CONTROLE PREDITIVO DE UM BIORREATOR PARA A PRODUÇÃO DE 1-3 PROPANODIOL USANDO O GLICEROL COMO SUBSTRATO

Tássio M. A. Martins[1], Jéfferson A. V. Silva[1], Giovanilton F. Silva[1], Andrea L. O. Ferreira[1].

[1]Departamento de Engenharia Química, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba
Cidade Universitária, s/n - Castelo Branco III, João Pessoa - PB, Brasil
E-mail:giovanilton@gmail.com

O foco deste trabalho foi controlar um biorreator nas condições necessárias para o crescimento do microrganismo e obtenção do 1,3-propanodiol. O sistema reacional utilizou o glicerol como substrato que foi assimilado como única fonte de carbono pela Klebsiella pneumoniae. Este trabalho analisou o desempenho de controladores preditivos baseado em modelo e os comparou com a teoria de controle clássica. Os controladores preditivos apresentaram um desempenho superior à teoria de controle clássica.

Palavras-chave: *Controle Preditivo; 1,3 propanodiol; Biorreator; Klebsiella pneumoniae*;

INTRODUÇÃO

Várias biomoléculas são produzidas hoje em dia por processos bioquímicos, que muitas vezes são a única alternativa para sua obtenção, ou se mostram extremamente vantajosos quando comparados as rotas químicas. De modo geral, um processo biotecnológico pode ser definido como aquele em que há a utilização de microrganismos e/ou enzimas com o objetivo de produzir compostos químicos, biomassa (ex.: fermento biológico), alimentos, energia ou o tratamento de efluentes.

O 1,3-propanodiol (PDO) está entre um dos mais antigos produtos da fermentação que se tem conhecimento (Biebl et al., 1999). 1,3-PDO possui várias aplicações de interesse, sendo utilizado como monômero para a síntese de poliéteres, poliésteres, poliuretanos e polipropileno tereftalato (Colin et al., 2001); (Du et al., 2006); (Cheng et al., 2004); (Lin et al., 2005) intermediário para a síntese de compostos cíclicos (Knietsch et al., 2003), como solvente (Papanikolaou et al., 2000). Ele pode ser produzido quimicamente através de duas diferentes rotas: hidratação da acroleína e hidroformilação do oxido de etileno (Hao et al., 2006).

A síntese química requer altas temperaturas, altas pressões e catalisadores caros (Lin et al., 2005) e produz intermediários tóxicos (Raynaud et al., 2003); (González-Pajuelo et al., 2004). Por causa dos benefícios ambientais e o uso de matéria prima renovável, a síntese microbiológica do 1,3 PDO apresenta-se como uma alternativa atrativa a síntese química.

Os biocombustíveis, como o biodiesel, representam uma alternativa renovável e ambientalmente segura aos combustíveis fósseis. Sua produção encontra-se em crescimento acelerado, e como consequência a quantidade de subprodutos gerados de sua produção, principalmente o glicerol bruto. O glicerol é considerado uma fonte de carbono altamente assimilável por bactérias e leveduras. Vários estudos apontam principalmente a mecanismos de assimilação de glicerol por estes microrganismos para a produção de compostos intermediários de polímeros, resinas e aditivos para combustíveis, tais como: 1,3-Propanodiol, polihidroxialcanoatos, ácido graxo poliinsaturado Ômega-3, ácido orgânicos e etc, (Cheng et al., 2007).

O controle de biorreatores no passado era restrito a regulação de variáveis como pH e temperatura (Boeck, et al., 1988). Entretanto, variáveis sujeitas a grandes flutuações como a concentração do substrato, podem ser consideradas como um importante fator de melhoramento do crescimento. Por exemplo, substrato em excesso pode ser tóxico enquanto que a escassez pode forçar a uma situação de estado estacionário, ou ainda, levar a formação de produtos indesejados (Cheng et al., 2007). Assim, o controle de biorreatores baseado na concentração de substrato tem se mostrado um problema interessante a ser estudado, tanto no projeto quanto no seu desenvolvimento. Isto é particularmente um desafio para sistemas que envolvem complexas interações microbianas, resultando assim em um comportamento não-linear difícil de controlar.

Para o sistema aqui estudado, a quantidade de substrato depende da taxa de consumo, da taxa de diluição e da concentração celular. Sendo o 1,3-propanodiol o principal produto de interesse obtido a partir da utilização do glicerol pela Klebsiella pneumoniae. O ponto chave do sistema de controle foi a sua capacidade em alterar a concentração do substrato baseado na taxa de

consumo do microrganismo e na quantidade desejada de produto. Assim, este trabalho teve como objetivo propor estratégias de controle a um fermentador contínuo ideal para a produção do 1,3-propanodiol pela Klebsiella pneumoniae tendo o glicerol oriundo da indústria do biodiesel como fonte de carbono.

MATERIAL E MÉTODOS

As equações que governam o balanço de massa da fermentação que ocorre no biorreator para os produtos, substrato e biomassa são apresentadas a seguir nas equações 1 a 11 (Xiu et al., 2004).

$$\frac{dC_b}{dt} = C_b(\mu - D) \quad (1)$$

$$\frac{dC_S}{dt} = D(C_{S0} - C_S) - C_b \cdot \varsigma_S \quad (2)$$

$$\frac{dC_{Pd}}{dt} = -D \cdot C_{Pd} + C_b \cdot \chi_{Pd} \quad (3)$$

$$\frac{dC_{Ac}}{dt} = -D \cdot C_{Ac} + C_b \cdot \chi_{Ac} \quad (4)$$

$$\frac{dC_{Et}}{dt} = -D \cdot C_{Et} + C_b \cdot \chi_{Et} \quad (5)$$

$$\mu = \mu_m \left(\frac{C_S}{K_S + C_S}\right)\left(1 - \frac{C_S}{C_S^*}\right)\left(1 - \frac{C_{Pd}}{C_{Pd}^*}\right)\left(1 - \frac{C_{Ac}}{C_{Ac}^*}\right)\left(1 - \frac{C_{Et}}{C_{Et}^*}\right) \quad (6)$$

$$\zeta = m_s + \frac{\mu}{\gamma_S^m} + \Delta\eta_S^m \frac{C_S}{C_S + K_S^*} \quad (7)$$

$$\chi_{Pd} = m_{Pd} + \mu\gamma_{Pd}^m + \Delta\eta_{Pd}^* \frac{C_S}{C_S + K_{Pd}^*} \quad (8)$$

$$\chi_{Ac} = m_{Ac} + \mu\gamma_{Ac}^m + \Delta\eta_{Ac}^* \frac{C_S}{C_S + K_{Ac}^*} \quad (9)$$

$$\chi_{Et} = \zeta\gamma_{Et}^m \quad (10)$$

$$\gamma_{Et}^m = \frac{b_1}{(c_1 + D \cdot C_S)} + \frac{b_2}{(c_2 + D \cdot C_S)} \quad (11)$$

Para a Klebsiella pneumoniae cultivada sobre condições anaeróbica de pH 7,0 e temperatura de 37°C (Mendes, 2010), a taxa de crescimento de biomassa (μ) e a constante de saturação para o glicerol KS são 0,67 h^{-1} e 0,28 mmol/L, respectivamente. As concentrações críticas de glicerol, 1,3-propanodiol, ácido acético e etanol para a taxa de crescimento da biomassa foram 2039, 934,3, 1026 e 360,9 mmol/L, respectivamente (Mendes, 2010). Os parâmetros c1, c2, b1 e b2 da Equação 11 são 0,025, 5,18, 0,06 e 50,45 mmol/L.h, respectivamente. Os demais parâmetros cinéticos são apresentados na Tabela 1. Para o projeto de controladores, foi necessária a determinação das condições operacionais do biorreator em estado estacionário. Essas condições foram investigadas realizando várias simulações avaliando os parâmetros descritos na Tabela 2.

Tabela 1. Parâmetros cinéticos utilizados no modelo para simulação (Xiu et al., 2004).

Reagentes/ Produtos	Parâmetros cinéticos*			
	m	γ^m	Δη*	K^*
Glicerol	2,2	0,0082	28,58	11,43
1,3-Propanodiol	-2,69	67,69	26,59	15,5
Ácido acético	-0,97	33,07	5,74	85,1

* m (mmol.$g^{-1}h^{-1}$), γ^m (g.$mmol^{-1}$), Δη* (mmol.$g^{-1}h^{-1}$), K^* (mmol.L^{-1}).

Tabela 2. Variáveis avaliadas nas simulações da fermentação pela Klebsiella pneumoniae.

Variável	Valores
Concentração de glicerol alimentado – C_{s0} (mmol/h)	900 – 2000
Concentração inicial de biomassa – X_0 (g/L)	0,1 – 5
Taxa de diluição – D (1/h)	0,1 – 0,5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra a melhor simulação obtida para o menor tempo de estabilização das variáveis do processo, aproximadamente 30 horas. Este tempo é importante para o projeto do controlador porque, a qualquer perturbação que ocorrer nas condições operacionais do biorreator, ele será estabilizado mais rapidamente. A Tabela 3 apresenta os valores das variáveis nominais aplicadas a estratégia de controle aqui desenvolvida.

Estratégias de Controle Propostas: O objetivo principal deste trabalho foi controlar a quantidade de 1,3-propanodiol produzido através do processo fermentativo. Com base na teoria de controle proposta para os biorreatores e nas investigações de estado estacionário, foi proposta inicialmente uma malha de controle que manipulasse a taxa de diluição do biorreator. A taxa de diluição é: D=F/V, onde V é o volume do reator (L3) e F (L3/h) a vazão volumétrica de alimentação ao biorreator. Neste trabalho foi utilizada a taxa de diluição em vez do controle de fluxo (F) devido às condições de estudo do modelo utilizado empregar internamente a taxa de diluição (D). Na prática, o controlador manipula a vazão de alimentação através de uma válvula de controle de fluxo, o que altera diretamente

a taxa de diluição do biorreator. A concentração de glicerol alimentado ao biorreator é proveniente de um reservatório de concentração definida que tem a sua injeção regulada através de uma válvula de controle. Para operar corretamente, é necessária a especificação das condições operacionais do estado estacionário. Essas condições foram levantadas e apresentadas na Tabela 3.

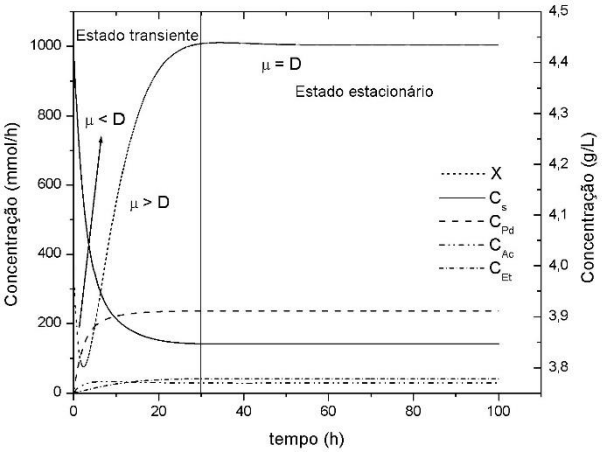


Figura 1. Concentração inicial de glicerol (Cs0) - 1000 mmol/h, Concentração inicial de biomassa (X0) – 4 g/L, taxa de diluição (D) – 0,4 1/h.

Tabela 3. Variáveis nominais aplicadas ao projeto do controlador.

Variáveis	Valores nominais
D	0,4
X	4,43
Cs	141,63
Cpd	236,29
Cac	29,02
Cet	41,89
Cs0	1000

A estratégia de controle apresentada na Figura 2 é caracterizada por um controlador que controla uma saída manipulando apenas uma entrada, sendo classificado como um controlador do tipo SISO (Single-Input Single-Output). As demais variáveis apesar de interagirem entre si não incorporam a sua inter-relação no modelo interno do controlador, importando apenas o efeito de entrada e saída das variáveis controlada e manipulada. Para determinar os parâmetros do MPC no MATLAB/SIMULINK, o sistema foi inicialmente linearizado ao redor das condições operacionais de estado estacionário: D=0,4 h^{-1} e Cs0=1000 mmol/h. Foi incorporada internamente uma restrição operacional que limitasse a ação de controle visando preservar o processo. Foi ela: $0 \leq D \leq 0{,}6$. Essa limitação teve como objetivo evitar ações bruscas que pudessem levar a um arraste de células (washout) ou em entrada extremamente grande de substrato que limitasse o crescimento da biomassa.

As estratégias de controle propostas nas Figuras 2 e 3 foram avaliadas apenas levando em consideração uma mudança no valor de referência (set-point) da ordem de -10%, ou seja, uma situação em que ocorra a mudança de especificação da concentração de saída do 1,3-Propanodiol de 236 mmol/h para 212 mmol/h.

Controlador Preditivo: A estratégia proposta na Figura 2 possui uma variável de entrada com alimentação fixa de substrato, e a taxa de diluição é manipulada de forma a regular o crescimento da biomassa e a formação de produtos dentro biorreator.

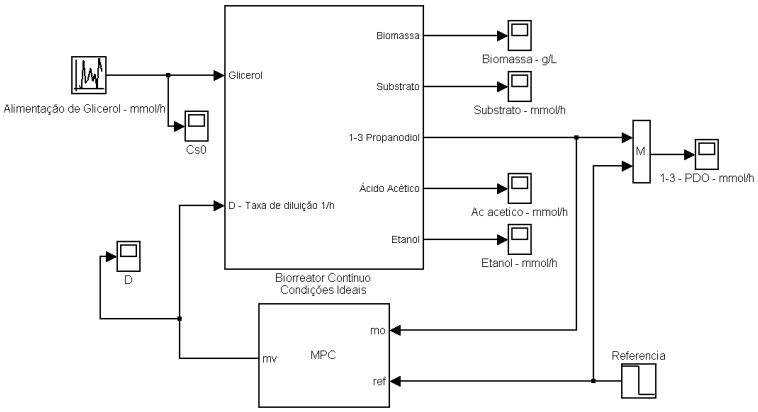


Figura 2. Estratégia de controle preditivo por modelo. Uma variável controlada, 1,3-PDO, e uma variável manipulada, taxa de diluição.

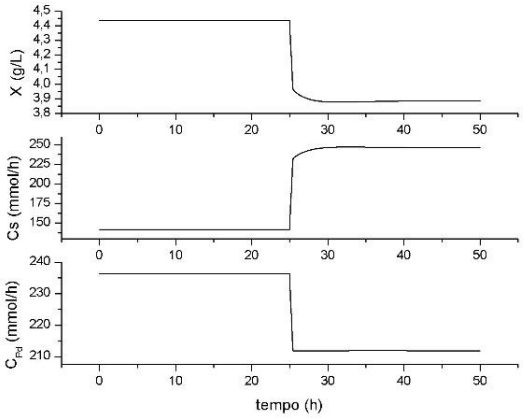


Figura 3. Comportamento dinâmico das concentrações de Biomassa (X), Glicerol (Cs) e 1,3-Propanodiol (CPd) para um a variação de -10% no valor do set-point do controlador.

Conforme observado na Figura 3, após uma perturbação degrau de -10% no valor de referência da variável controlada, o controlador diminui a concentração de células internas aumentando a concentração de substrato não reagido. Examinando a mudança de concentração do 1,3-Propanodiol, é possível observar que o sistema muda as concentrações do meio e estabiliza completamente em um curtíssimo período de tempo. Os efeitos sobre as demais variáveis do processo e o efeito da ação de controle regulatório na variável D apresentaram o mesmo comportamento. Como ocorre uma mudança de set-point em que o valor da concentração de referência é diminuído, o controlador aumenta momentaneamente a taxa de diluição até o máximo estabelecido na restrição para diminuir a concentração de células presentes no meio e depois retorna novamente ao valor próximo ao anterior a perturbação. Outra estratégia de controle testada foi a de controle PID com uma variável manipulada e uma variável controlada, um sistema do tipo SISO. Essa malha de controle apresentou um bom desempenho para os critérios da teoria de controle. Quando comparada com a malha de controle proposta na Figura 2, essa estratégia apresentou um ganho proporcional maior comparado com o controlador MPC. O tempo de estabilização das concentrações dos produtos nas novas condições operacionais ficou em torno de dez horas.

CONCLUSÃO

Durante as simulações dinâmicas de investigação do estado estacionário foi observado a forte não linearidade do sistema, as simulações mostraram que uma pequena variação das condições operacionais do biorreator poderia levar ao arraste das células e consequentemente a perda do produto. Duas condições operacionais viáveis foram encontradas: na primeira, concentração inicial de biomassa de 4 g/L, concentração de alimentação de glicerol de 1000 mmol/h e taxa de diluição 0,4 1/h; e na segunda concentração inicial de biomassa de 3 g/L, alimentação de glicerol de 1300 mmol/h e taxa de diluição de 0,3 1/h. A variável que alterou significativamente as condições do sistema foi a taxa de diluição D. Foram propostas no total quatro estratégias de controle, duas que monitoravam uma saída e manipulava uma entrada, uma estratégia com um controlador do tipo MPC e outra do tipo PID. Foi observado que todas as estratégias propostas foram capazes de controlar o biorreator proposto, porém, a técnica de controle MPC foi superior no seu desempenho comparado com o controlador clássico PID. Com base nas estratégias propostas foi possível observar que o controlador com apenas uma entrada manipulada e uma saída controlada foi o suficiente para manter o biorreator operando dentro das condições estabelecidas.

REFERÊNCIAS

BIEBL, H; MENZEL, K; ZENG, A.P; DECKWER, W.D. Microbial production of 1,3-propanediol. **Appl. Microbiol. Biotechnol**., v. 52, p. 289–297, 1999.

BOECK, L; WETZEL, R; BURT, S; HUBER, F; FOWLER, G; ALFORD. J. Sterilization of bioreactor media on the basis of computer-calculated thermal input, designated as Fo. **J. of Ind. Microbiol**., v. 3, p. 305–310, 1988.

LIMA, U. A.; AQUORONE, E; BORZANI, W; SCHIMIDELL, W. **Biotecnologia industrial: Fundamentos**. 1. ed. São Paulo: Edgard Blücher, v. 3, 2001.

CHENG, KK; ZHANG, JA; LIU, D.H; SUN, Y; LIU, H.J; YANG, M.D; XU, J.M. Pilot-scale production of 1,3-propanediol using Klebsiella pneumoniae. **Process. Biochem**, v. 42, p. 740, (2007)

CHENG KK; LIU DH; SUN, Y; LIU, WB. 1,3-propanediol production by Klebsiella pneumoniae under different aeration strategies. **Biotechnol Lett**; v. 26, p. 911–915, (2004).

COLIN, T; BORIES, A; LAVIGNE, C; MOULIN, G. Effects of acetate and butyrate during glycerol fermentation by Clostridium butyricum. **Curr Microbiol.,** v. 43, p. 238–243, 2001.

DU, C; YAN H; ZHANG, Y; LI, Y. Use of oxidoreduction potential as an indicator to regulate 1,3-propanediol fermentation by Klebsiella pneumoniae. **Appl Microbiol Biotechnol**, v 69, p 554–563, 2006.

GONZÁLEZ-PAJUELO, M; ANDRADE, J.C; VASCONCELOS, I. Production of 1,3-propanediol by Clostridium butyricum VPI 3266 using a synthetic medium and raw glycerol. **J Ind Microbiol Biotech**, v. 31, p. 442–446, 2004.

KNIETSCH, A; BOWIEN, S; WHITED, G; GOTTSCHALK, G; DANIEL, R. Identification and characterization of coenzyme B12-dependent glycerol dehydratase- and diol dehydratase-encoding genes from metagenomic DNA libraries derived from enrichment cultures. **Appl Env Microbiol**, v 69, p. 3048–3060, 2003.

LIN, R; LIU, H; HAO, J; CHENG, K; LIU, D. Enhancement of 1,3-propanediol production by Klebsiella pneumoniae with fumarate addition. **Biotechnol Lett**, v. 27, p. 1755–1759, 2005.

MENDES, J. S. **Produção de etanol a partir da fermentação de glicerol bruto usando Klebsiella Pneumoniae**. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

PAPANIKOLAOU, S; RUIZ-SANCHEZ, P; PARISET, B; BLANCHARD, F; FICK, M. High

production of 1,3-propanediol from industrial glycerol by a newly isolated Clostridium butyricum strain**.. J Biotechnol**., v.77, p. 191–208, 2000.

RAYNAUD, C; SARÇABAL, P; MEYNIAL-SALLES, I; CROUX, C; SOUCAILLE, P. Molecular characterization of the 1,3-propanediol (1,3-PD) operon of Clostridium butyricum. **Proc Natl Acad Sci**, v. 100, p. 5010–5015, 2003.

XIU, Z. L; SONG, B. H; WANG, Z. T; SUN, L.H; FENG, E.M; ZENG, A. P. Optimization of dissimilation of glycerol to 1,3-propanediol by klebsiella pneumoniae in one- and two-stage anaerobic cultures. **Biochem. Eng. J.**, v 19, p. 189-197, 2004.