UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO DESSENVOLVIMENTO DE PROCESSOS QUIMICOS

DESENVOLVIMENTO E IMPLEMENTAÇÃO DE UM SOFTWARE SENSOR PARA MONITORAÇÃO ON-LINE DE BIOPROCESSOS

Autor: William Eduardo Herrera Agudelo
Orientador: Prof. Dr. Rubens Maciel Filho

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Engenharia Química como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Campinas - São Paulo
Junho 2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA - BAE - UNICAMP

H433d

Herrera Agudelo, William Eduardo
Desenvolvimento e implementação de um software sensor para monitoração on-line de bioprocessos / William Eduardo Herrera Agudelo. --Campinas, SP: [s.n.], 2012.

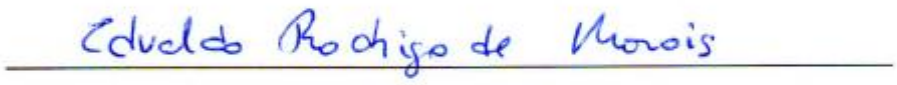
Orientador: Rubens Maciel Filho.
Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Bioetanol. 2. Redes neurais (Computação). 3. Modelagem matemática. 4. Simulação computacional. 5. Modelos matemáticos. I. Maciel Filho, Rubens, 1958-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. III. Título.

Título em Inglês: Development and implementation of a software sensor for monitoring online of bioprocessos
Palavras-chave em Inglês: Bioethanol, Neural networks (Computer), Mathematical modeling, Computer simulation, Mathematical models
Área de concentração: Desenvolvimento de Processos Químicos
Titulação: Mestre em Engenharia Química
Banca examinadora: Gisele Gonçalvez, Edvaldo Morais
Data da defesa: 06-06-2012
Programa de Pós Graduação: Engenharia Química

Dissertação de mestrado defendida por William Eduardo Herrera Agudelo e aprovada em 6 de Junho de 2012 pela banca examinadora constituída pelos doutores:

Prof. Dr. – Rubens Filho Maciel – Orientador



Dr. Edvaldo Morais

Dr. Gisele Gonçalvez

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado em Engenharia Química.

Prof. Dr. – Rubens Filho Maciel – Orientador

Dedicatoria

A mis razones para seguir andando por este hermoso mundo con mucha felicidad, por ellos se esfuerza la maquina de noche y de día. A mi papi Eduardo a mi mami Aminta, a mis hermanas Johanna, Bibiana e Mónica, a mis sobrinos Juan Sebastián y Mateo.

AGRADECIMENTOS

"*Dos caminos se bifurcaban en un bosque y yo tomé el menos transitado, y eso hizo toda la diferencia*." Robert Frost.

"*Caminante, no hay camino, se hace camino al andar*." Antonio Machado.

"*Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas. Que já têm a forma do nosso corpo e esquecer os nossos caminhos que nos levam sempre aos mesmos lugares é o tempo da travessia e se não ousarmos fazê-la e teremos ficado para sempre à margem de nós mesmos."* Fernando Pessoa.

Ao Professor Rubens Maciel Filho pela infinita ajuda em todo momento. Agradeço a seu profissionalismo, confiança e pensamento positivo.

A meu Pai pelas palavras de motivação no momento exato, e pela ajuda incondicional, e a vontade de viver que ele coloca em cada uma das suas ações.

A minha Mae pelo amor e a confiança que sempre me ofereceu, sempre acreditando em mim apesar das minhas loucas ideias.

A Danielle Chamovitz por ser minha amiga nos momentos felizes, não tão felizes e nos momentos que as coisas não estavam dando certo. Obrigado por me ensinar Português e por sua paciência que sei que é pouca.

A meus irmãos do Colombian Dream já que sem eles minha vida tivesse sido muito triste. A Saray, Omar, Jose, Jorge Sanz, Iker, grandes companheiros nessa viagem, é o melhor do mundo rir junto com vocês.

A os meus colegas da Unicamp que me ensinaram o valor da amizade, do trabalho em equipe, e das capacidades ainda não exploradas de nós mesmos.

À Unicamp pelo campús universitário e as experiências tão lindas que aconteceram ali.

À FAPESP que financiou este projeto de pesquisa, viabilizando a realização deste trabalho.

RESUMO

Pesquisas estão sendo conduzidas em todo o mundo para o desenvolvimento de novas tecnologias para a produção de combustíveis líquidos a partir de recursos renováveis. Neste contexto a produção de bioetanol a partir de cana de açúcar é uma forma de reduzir o consumo de petróleo bruto e de contribuir com a redução da poluição ambiental, tornando-se uma importante alternativa para a obtenção de um combustível sustentável. Dentro do panorama exposto, pretende-se avaliar uma forma efetiva de diminuir os custos de produção do etanol combustível, o que contribui com a viabilidade econômica desta alternativa.

Levando isso em consideração, nesse trabalho se desenvolveu um software sensor para determinação de Biomassa, Substrato e Produto a partir de medidas secundarias como turbidez, pH, vazão de CO_2 e temperatura, usando um modelo híbrido neural que combina as equações de balanço de massa com redes neurais que descrevem a cinética do processo de fermentação. O processo fermentativo tem como matéria prima uma mistura de hidrolisado de bagaço e melaço de cana 75% e 25% em volume utilizado neste trabalho, respectivamente. Este tipo de composição é típica de processos de produção de etanol de 2ª geração (que fazem uso da hidrólise do bagaço) acoplada com processos de 1ª geração (que fazem uso do caldo extraído da cana, processo convencional já existente). Desta forma os desenvolvimentos realizados neste trabalho podem ser aplicados tanto para os processos convencionais quanto os processos de 2ª geração.

Palavras chaves: Bioetanol, Redes Neurais (Computação), Modelagem matemática, Simulação computacional, Modelos matemáticos.

ABSTRACT

Researches are being conducted worldwide to the development of new technologies for the production of liquid fuels from renewal resources. In this context, the production of bioethanol from sugar cane is one way to reduce consumption of petroleum crude, and to contribute with the reduction of environmental pollution, becoming an important alternative for the achivement of a sustainable development. Within the proposed scenario, the goal is to evaluate an effective way to reduce costs of the production of ethanol biofuel, which contributes to the economic viability of this alternative

Taking this into consideration, this work has developed a software sensor for determination of biomass, substrate and product from secondary measures such as turbidity, pH, CO_2 flow rate and temperature, using an artificial neural network that combines the mass balance equations with neural networks that describe the kinetics of the fermentation process. The fermentation process is as raw material a mixture of hydrolyzed and cane molasses 75% and 25% volume, respectively. This type of composition could be typical of the second generation of the ethanol production process (making use of the bagasse hydrolysis) coupled with processes of first generation (making use of the juice extracted from sugar cane, which it's a conventional process already exists).Thus the developments made in this work can be applied not only to conventional processes, but also to possible processes of second generation.

Key Words: Bioethanol, Neural networks (Computer), Mathematical modeling, Computer simulation, Mathematical models

TABELA DE CONTEÚDO

RESUMO iv
ABSTRACT viii
NOMENCLATURA xvi
1. INTRODUÇÃO 1
1.1. Objetivo 2
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 3
2.1. Fermentação Alcoólica 3
2.1.1. Matéria-Prima Utilizada Em Fermentações Alcoólicas 5
2.1.2. Hidrólise 5
2.1.2.1. Hidrólise Enzimática 5
2.1.3. Processo Fermentativo 6
2.1.4. Tipos de Operações De Processos Fermentativos. 7
2.1.4.1. Processos de Batelada 7
2.1.4.2. Processos de Batelada Alimentada 7
2.1.4.3. Processos Contínuos 8
2.1.5. Controle da Fermentação 9
2.2. Software Sensors 10
2.2.1. O Sistema Nervoso e Neurônios 10
2.2.1.1. Propriedades de Redes Neurais Artificiais 11
2.2.2. Modelo Matemático de um Neurônio 13
2.2.3. Redes Neurais do Tipo MLP 17
2.2.4. Treinamento da Rede 18
2.2.5. Algoritmo de "*Back-Propagation*" 19
2.2.5.1. Treinamento do Algoritmo 20
2.2.6. Controle Por Meio de Redes Neurais 21
2.2.7. Controle dos Processos Fermentativos por Meio de Redes Neurais 21
2.3. Modelo Híbrido Neural 23
3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL E DO *SOFTWARE SENSOR* 26
3.1. Materiais 27
3.1.1. Microrganismo 27
3.1.2. Substrato 27
3.1.3. Cultura do Microrganismo 27
3.1.4. Inóculo 28

3.1.5. Fermentador 32
3.2. Métodos 32
3.2.1. Matriz de Planejamento de Bateladas 32
3.3. Métodos Analíticos 33
3.3.1. Determinação de Concentração de Açucares Redutores e Etanol. 33
3.3.2. Determinação de Concentração de Células 34
3.4. Desenvolvimento do *Software Sensor* 35
3.4.1. Modelo Híbrido Neural 35
3.4.2. Tratamento de Dados 36
3.4.3. Rede Neural Artificial 38
3.4.4. Treinamento, Validação e Teste das Redes Neurais. 39
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 41
4.1. Dados Experimentais das Fermentações em Bateladas 41
4.2. Coleta de Dados por Meio do “LabView” 44
4.3. Conformação dos Modelos Híbridos. 46
4.3.1. Resultados dos Modelos Híbridos Neurais de Etanol. 47
4.3.2. Resultados dos Modelos Híbridos Neurais de ART (Substrato) 61
4.3.3. Resultados dos Modelos Híbridos Neurais de Crescimento Celular. 74
5. CONCLUSÔES. 87
6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS 89
7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS. 90
8. ANEXOS 1 95

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sequência de reações da formação de etanol, ANDRADE (2007). 4
Figura 2. Esquema de um Neurônio como Constituinte de uma Rede Neural Artificial 13
Figura 3. Função Logística 14
Figura 4. Função Tangente Hiperbólica 15
Figura 5. Rede Neural com Diferentes Tipos de Camadas 15
Figura 6. Estrutura de uma Rede Neural MLP "*Multilayer Perceptron*". (VON ZUBEM et al. 2010) 17
Figura 7. Metodologia Usada Para o Desenvolvimento do Projeto..... 26
Figura 8. Meios de Ativação e Meio Sintético de Crescimento da Levedura 28
Figura 9. Crescimento dos Microrganismos em Erlenmeyers Aletados, Mantidos em Agitação por 24 horas a 150 rpm e 30 °C em *shaker*..... 29
Figura 10. Centrifugação e Separação da Levedura. 30
Figura 11. Etapas de Preparo do Inóculo para a Fermentação. Adaptação de ANDRADE (2007). 31
Figura 12. Reator com Meio de Produção e Inoculação das Leveduras..... 31
Figura 13. Fermentador. 32
Figura 14. Estrutura Geral das Redes Neurais Usadas..... 38
Figura 15. Dados experimentais e ajustados (–) dos dados cinéticos da batelada 1 na temperatura de 30ºC sem reciclo. Dados experimentais são para concentração de substrato, S(•); biomassa, X(▲); produtos, P(♦)..... 43
Figura 16. pH ao Longo do Tempo de Fermentação. 44
Figura 17. Turbidez ao Longo do Tempo de Fermentação. 44
Figura 18. Vazão de CO2 ao Longo do Tempo de Fermentação. 45
Figura 19. Conformação dos Modelos Híbridos. 47
Figura 20. Resultados dos Critérios de Qualidade de Predição da Rede Neural do Etanol. Os Critérios São para o Valor R, R(■), Desvio Padrão Residual, DPR (▲), Erro Quadrático Médio, EQM (♦)..... 49
Figura 21. Rede Neural Usada Para Predizer a Taxa de Produção de Etanol. 49
Figura 22. Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B1 Sem Reciclo de Células, T = 30ºC..... 51
Figura 23. Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B3 Sem Reciclo de Células, T = 32ºC 52

Figura 24 Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B5 Sem Reciclo de Células, T = 34ºC 52
Figura 25. Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B7 Sem Reciclo de Células, T = 36ºC 53
Figura 26. Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B9 Sem Reciclo de Células, T = 38ºC 53
Figura 27. Resultados dos Critérios de Qualidade de Predição da Rede Neural de Etanol com Reciclo. Os critérios são para o valor R, R(■), Desvio Padrão Residual, DPR (▲), Erro Quadrático Médio, EQM (♦)..... 55
Figura 28. Rede Neural Usada para Predizer a Taxa de Etanol Com Reciclo..... 55
Figura 29. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B2 com Reciclo de Células, T = 30ºC..... 57
Figura 30. Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B4 com Reciclo de Células, T = 32ºC 57
Figura 31. Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B6 com Reciclo de Células, T = 34ºC 58
Figura 32. Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B8 com Reciclo de Células, T = 36ºC 58
Figura 33. Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B10 com Reciclo de Células, T = 38ºC 59
Figura 34. Resultados dos Critérios de Qualidade de Predição da Rede Neural dos ART. Os critérios são para o valor R, R(■), desvio padrão residual, DPR (▲), Erro quadrático médio, EQM (♦)..... 62
Figura 35. Ótima rede neural usada para predizer a taxa de ART (açucares redutores totais)..... 62
Figura 36. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B1 Sem Reciclo de Células, T = 30ºC 64
Figura 37. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B3 Sem Reciclo de Células, T = 32ºC 65
Figura 38. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B3 Sem Reciclo de Células, T = 34ºC 65
Figura 39. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B7 Sem Reciclo de Células, T = 36ºC 66

Figura 40. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B9 Sem Reciclo de Células, T = 38ºC 66
Figura 41 Resultados dos Critérios de Qualidade de Predição da Rede Neural dos ART. Os Critérios São Para o Valor R, R(■), Desvio Padrão Residual, DPR (▲), Erro Quadrático Médio, EQM (♦). 68
Figura 42 Ótima Rede Neural Usada Para Predizer a Taxa de ART. 68
Figura 43. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B2 Com Reciclo de Células, T = 30ºC 70
Figura 44. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B4 Com Reciclo de Células, T = 32ºC 71
Figura 45. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B6 Com Reciclo de Células, T = 34ºC 71
Figura 46. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B8 Com Reciclo de Células, T = 36ºC 72
Figura 47. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B10 Com Reciclo de Células T = 38ºC 72
Figura 48. Resultados dos Critérios de Qualidade de Predição da Rede Neural das Células. Os Critérios São Para o Valor R, R(■), Desvio Padrão Residual, DPR (▲), Erro Quadrático Médio, EQM (♦). 75
Figura 49. Ótima Rede Neural Usada Para Predizer a Taxa das Células. 75
Figura 50. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B1 Sem Reciclo de Células, T = 30ºC 77
Figura 51. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B3 Sem Reciclo de Células, T = 32ºC 78
Figura 52. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B3 Sem Reciclo de Células, T = 34ºC 78
Figura 53. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B7 Sem Reciclo de Células, T = 36ºC 79
Figura 54. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B9 Sem Reciclo de Células, T = 38ºC 79
Figura 55. Resultados dos Critérios de Qualidade de Predição da Rede Neural de Células. Os Critérios São Para o Valor R, R(■), Desvio Padrão Residual, DPR (▲), Erro Quadrático Médio, EQM (♦). 81
Figura 56. Ótima rede neural usada para predizer a taxa de células. 81

Figura 57. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B2 Sem Reciclo de Células, T = 30ºC 83
Figura 58. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B4 Sem Reciclo de Células, T = 32ºC 84
Figura 59. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B6 Sem Reciclo de Células, T = 34ºC 84
Figura 60. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B8 Sem Reciclo de Células, T = 36ºC 85
Figura 61. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B10 Sem Reciclo de Células, t = 38ºc 85

INDICE DE TABELAS

Tabela 1. Composição do Meio de Ativação para Cultivo de *S. cerevisiae*. 27
Tabela 2. Composição do Meio de Crescimento Utilizado para o Inóculo. 28
Tabela 3. Matriz de Planejamento das Bateladas 33
Tabela 4. Condições do Equipamento 34
Tabela 5. Algoritmos e Funções Usadas no Desenvolvimento da Rede. 39
Tabela 6. Dados Experimentais da Batelada nº1. 42
Tabela 7. Ajustes de Dados Experimentais à Curva Sigmoidal. 43
Tabela 8. Teste feito na Rede Neural da Taxa de Produção de Etanol sem Reciclo. 48
Tabela 9. Parâmetros Otimizados da Rede Neural. 50
Tabela 10. Teste Feito na Rede Neural de Etanol 54
Tabela 11. Parâmetros Otimizados (pesos e bias) do Modelo Neural. 56
Tabela 12. Teste Feito na Rede Neural de ART. 61
Tabela 13. Parâmetros Otimizados (pesos e bias) do Modelo Neural. 63
Tabela 14 Teste Feito na Rede Neural de ART 67
Tabela 15. Parâmetros Otimizados (pesos e bias) do Modelo Neural. 69
Tabela 16. Teste Feito na Rede Neural de Células 74
Tabela 17. Parâmetros Otimizados (pesos e bias) do Modelo Neural. 76
Tabela 18. Teste Feito na Rede Neural de Células. 80
Tabela 19. Parâmetros Otimizados (pesos e bias) do Modelo Neural. 82

NOMENCLATURA

pH	Potencial Hidrogeniônico.
DNA	Ácido desoxirribonucleico.
X_i	Entrada na rede neural
W_i	Peso Neurônio
b	Constante chamada Viés (Bias)
U_k	Função de Ativaçao
MSE	Mean Square Error
MLP	MultiLayer Perceptron
RNA	Redes Neurais Artificias
FLN	“Funtional Link”
FNN	“Forward Neural Network”
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier
HPLC	High Performance Liquid Cromatography
CSTR	Continuos Stirred Tank Reactor
X_t	Células Totais
M_t	Massa de tubo de ensaio
M_s	Massa tubo de ensaio seco
V_c	Volume de liquido centrifugado
X_v	Células Viáveis
X_d	Células Mortas
r_x	Taxa cinética de crescimento de células totais.
r_d	Taxa cinética de morte celular
r_s	Taxa cinética de consumo de substrato
r_p	Taxa cinética de produtos
F	Vazão Volumétrica de alimentação
V	Volume do fermentador
S	Concentração de Substrato
SF	Concentração de Substrato na alimentação

P	Concentração de Produto
RN	Rede Neural
t_I	Dados Objetivo
a_i	Dados de entrada
ART	Açucares Redutores Totais
EQM	Erro Quadrático Médio
DPR	Desvio Padrão Residual
R	Valor de Regressão
B	Batelada
t	Tempo
V	Velocidade

1. INTRODUÇÃO

Entre os problemas atuais relacionados ao processo industrial de fermentação alcoólica está a falta de robustez da fermentação na presença de flutuações na qualidade da matéria-prima, o que leva a mudanças no comportamento cinético e influencia o rendimento, produtividade e conversão de substratos a produtos. Esta falta de robustez pode ser corrigida fazendo-se ajustes nas condições de operação e controle do processo, o que requer uma monitoração eficiente usando-se sensores eficientes e eficazes para manter o processo operando nas condições ideais e evitar a influência de perturbações pelas variações na qualidade da matéria-prima e alterações no metabolismo dos microrganismos. Como na maioria dos bioprocessos, as variáveis importantes na fermentação alcoólica são principalmente concentrações de reagentes e produtos. Sabe-se que medidas de concentração em tempo real costumam ser caras e introduzir atrasos significativos, além do alto custo e relativa falta de robustez dos equipamentos de medida em ambientes industriais. Existe uma grande necessidade de estudar formas de realizar estas medidas com precisão e de forma econômica, para facilitar a avaliação do processo e possibilitar a interferência por meio de técnicas de controle e otimização.

Os chamados *softwares sensors*, são algoritmos usados para inferir variáveis de difícil medida a partir de medidas simples e de baixo custo (variáveis secundárias) e podem ser uma alternativa interessante e aplicável para o caso de medidas de concentração. Resultados preliminares de um trabalho, RADKE (2002), mostraram que é possível usar medidas secundárias simples, como vazão de CO_2, turbidez e pH para inferir concentrações de biomassa, substrato e produto em fermentação alcoólica.

Aproveitando as vantagens apresentadas e aplicando com o uso de redes neurais o objetivo do trabalho proposto foi o desenvolvimento de um *software sensor* para determinação das taxas de concentração de biomassa, substrato e produto a partir de medições secundarias como turbidez, pH, vazão de CO_2 e

temperatura usando um modelo híbrido neural que combina as equações de balanço com redes neurais que descrevem a cinética.

Esse projeto esta inserido no projeto temático “Um Processo Integrado para Produção Total de Bioetanol e Emissão Zero de CO_2” (Processo FAPESP - 2008/57873-8).

1.1. Objetivo

O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de um “*software sensor*” que controle os processos fermentativos por meio da determinação de concentrações de biomassa, substrato e produto a partir de medidas secundárias (turbidez, pH, vazão de CO_2 e temperatura) utilizando um modelo híbrido neural que combina as equações de balanço de massa com redes neuronais que descrevem a cinética da fermentação. Para isso algumas etapas foram realizadas:

- Realização de experimentos em batelada com a finalidade de obter dados de concentração de células, substrato (ART) e etanol ao longo do experimento.
- Realização do tratamento de dados tanto das medições das variáveis secundarias quanto das taxas cinéticas calculadas com a finalidade de obter uma quantidade de dados ótima para a determinação dos parâmetros dentro das redes neurais.
- Determinação da estrutura da rede neural e junção com as equações de balanço de massa.
- Execução do treinamento das redes neurais e determinação dos parâmetros iniciais (pesos e bias) e ajuste da rede de acordo com o erro.
- Realização da validação da rede neural para medir a generalização do modelo neural e finalização do treinamento no melhor desempenho.
- Realização do teste para proporcionar uma medida independente do rendimento da rede depois do treinamento e determinação da capacidade de predição das variáveis de resposta.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo será apresentada a revisão bibliográfica do presente trabalho. Foram abordados os principais aspectos relacionados ao tema de estudo proposto, tais como fermentação alcoólica, *software sensors*, redes neurais, e modelos híbridos.

2.1. Fermentação Alcoólica

Os processos de fermentação alcoólica já eram utilizados pelo homem há cerca de dez mil anos. Muitas bebidas alcoólicas eram fabricadas pelos antigos egípcios, germanos e israelitas.

Embora as bebidas alcoólicas sejam diferenciadas por suas propriedades, tais como suas matérias-primas e diferentes teores alcoólicos, todas elas têm uma origem básica comum, isto é, todas derivam de um processo bioquímico denominado fermentação alcoólica. A fermentação alcoólica é um processo bioquímico, no qual, por vias metabólicas, o substrato é metabolizado principalmente etanol, gás carbônico e glicerol, sob a ação enzimática das leveduras. Uma vez iniciada a fermentação alcoólica, surgem às transformações inerentes do processo, ou seja, desprendimento de gás carbônico, produção de etanol e elevação da temperatura do mosto de fermentação.

O processo fermentativo para produção de álcool acontece em diferentes estágios desde a preparação do meio, crescimento celular até a destilação. Segundo BASSO et al. (2001), a sequência de formação do etanol ocorre em 12 reações sendo cada uma delas catalisada por uma enzima, conforme figura 1.

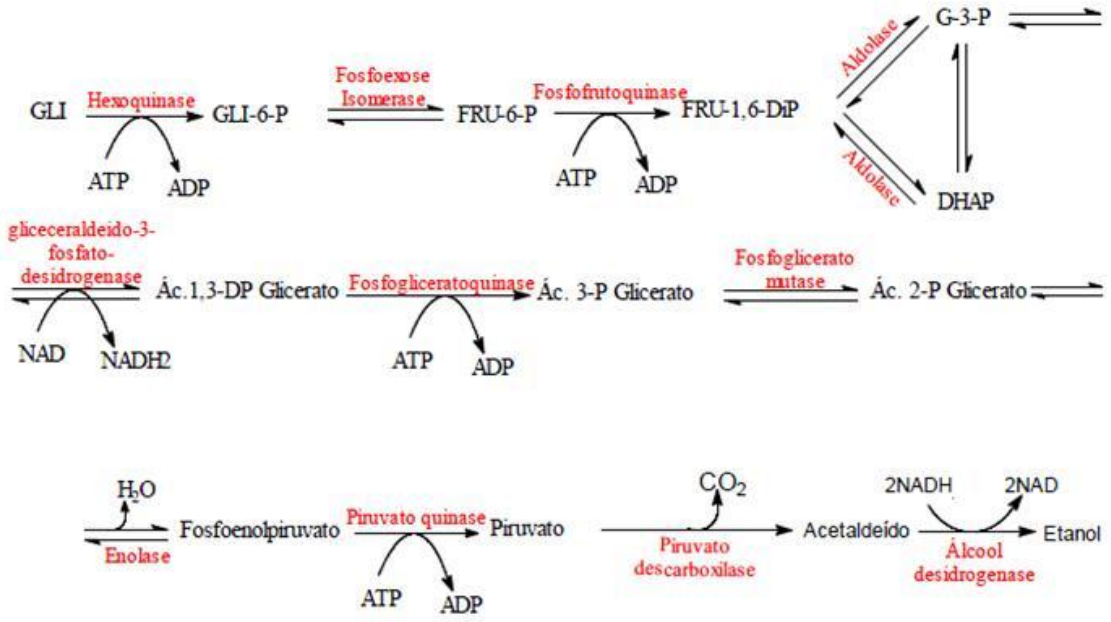


Figura 1. Sequência de reações da formação de etanol, ANDRADE (2007).

A levedura utilizada no processo industrial fermentativo alcoólico é a *saccharomyces cerevisiae,* um organismo eucariota unicelular que pertence ao reino dos fungos. A história natural de *s. Cerevisiae* foi ocultada em parte por uma longa história de domesticação. É o agente microbiano responsável pela fermentação do vinho, cerveja e outras bebidas alcoólicas, e o mais utilizado agente de fermentação microbiana para o pão, CAVALERI et al. (2003). Assim, pode-se dizer que a *saccharomyces cerevisiae* é a principal levedura utilizada em processos de fermentação moderna, incluindo vinificação, panificação e fabricação de cerveja. A partir de resíduos presentes no interior de uma das mais antigas jarras de vinho do egito, foi extraído, amplificado, e sequenciado o dna ribossomal de *s. Cerevisiae*. Os resultados indicavam que este organismo foi provavelmente, responsável pela fermentação do vinho, pelo menos em 3150 a.c, CAVALERI et al. (2003).

2.1.1. Matéria-Prima Utilizada Em Fermentações Alcoólicas

O etanol é obtido de plantas com alto teor de açúcar, sendo usada no Brasil a cana de açúcar como a principal matéria prima e a partir da qual se obtém o melaço, matéria prima para a produção de álcool. Também são usados os grãos amiláceos (milho, sorgo, cevada), raízes e tubérculos (batata, mandioca). Dessas matérias primas se diferenciam as fermentescível e as não fermentescível com as primeiras contendo monossacarídeos, açúcares possuindo entre 3 e 6 carbonos, e as segundas dissacarídeos, açucares formados por 2 monossacarídeos que devem ser hidrolisados para serem consumidos pelos microrganismos. Os produtos formados pelos açucares simples são chamados de 1ª geração, enquanto os produtos que fazem uso da hidrolise são chamados de 2ª geração, BASSO et al. (2001).

2.1.2. Hidrólise

A hidrólise é um método que aproveita os potenciais individuais dos três polímeros principais da biomassa, ao contrario de provocar a conversão simultânea de todos eles. Em condições apropriadas, a hidrólise de maneira seletiva oferece a possibilidade de conversão das hemiceluloses em monossacarídeos e da celulose em D-glicose, GOMEZ (2010).

Os tipos de hidrólises que se usam para sacarificação dos resíduos lignocelulósicos pré-tratados pode realizar-se por ação de ácidos minerais ou enzimas ceulolíticas.GOMEZ (2010).

2.1.2.1. Hidrólise Enzimática

A hidrólise enzimática consiste em uma reação química catalisada por uma enzima na presença de água para quebrar uma molécula grande em duas outras moléculas. Estas enzimas produzem um efeito catalítico hidrolisado, o qual gera a ruptura de enlaces por água. Um dos produtos da reação catalisada recebe um

grupo OH^-, enquanto o outro recebe um próton de hidrogênio e são incorporados à estrutura química, GOMEZ (2010).

A hidrólise enzimática é um processo para obtenção de açucares diretamente fermentescíveis de biomassa lignocelulósica. Esta reação em condições apropriadas promove a conversão das hemiceluloses em monossacarídeos e da celulose em D-glicose, GOMEZ (2010).

Na hidrólise enzimática observa-se a existência de um maior rendimento na produção de açucares fermentescíveis em comparação a hidrolise ácida, devido à menor formação de subprodutos dado que as condições de reação são normalmente suaves frente a um não ácido. Segundo RABELO et al. (2011) a fermentação desses açucares utilizando a hidrólise enzimática foi comparada a uma fermentação de solução pura de glucose e os rendimentos foram similares, o que demostra a eficiência do processo fermentativo.

2.1.3. Processo Fermentativo

A partir do momento em que a levedura entra em contato com o mosto inicia-se o processo fermentativo, e este pode ser dividido em três fases. A fase inicial caracteriza-se pela intensa atividade de multiplicação celular, pouco desprendimento de gás carbônico e mínima elevação da temperatura. A segunda fase, a qual pode ser considerada principal, ocorre o maior desprendimento de CO_2, formação rápida de álcool devido à quantidade de células vivas e caracteriza-se pelo aumento da temperatura e produção de álcool. A última fase consiste da redução na atividade fermentativa, diminuição do desprendimento de CO_2 até a finalização do processo. BASSO et al. (2001)

2.1.4. Tipos de Operações De Processos Fermentativos.

As formas de operação dos processos fermentativos são variadas, sendo as mais utilizadas a batelada simples e a batelada alimentada, sendo que o substrato é colocado gradualmente durante o processo, sendo estes processos descontínuos. Outro tipo de operação é a fermentação de modo contínuo, no qual tem simultaneamente saída de produtos e entrada de reagentes.

2.1.4.1. Processos de Batelada

O biorreator usado neste processo caracteriza-se por uma composição uniforme já que possui uma ótima mistura, A forma de operação dos processos batelada durante o tempo de fermentação, não há entrada do meio no sistema, pode-se acrescentar com antiespumante e oxigênio. Senão ocorre retirada de amostras ou ter evaporação, o volume do reator permanece constante. CARVALHO et al. (2001).

A vantagem deste reator é a alta conversão que se obtém pelos longos períodos de permanência dos reagentes dentro dele. Algumas das desvantagens são o alto custo de trabalho, variabilidade dos produtos entre batelada e batelada e a dificuldade de produção a grande escala. FOGLER (2006).

2.1.4.2. Processos de Batelada Alimentada

Este processo é de um tipo especial no qual o substrato é alimentado constantemente no percurso da fermentação, atinge uma concentração constante e resulta em um sistema com volume variável. Este processo é bem sucedido, já que elimina a inibição pelo substrato, oferecendo altas produtividades, geralmente maiores que o obtido na batelada simples. Os balanços de massa são similares ao processo com reator “batch”, porém com o termo de alimentação, portanto o volume do reator é variável. ARAUJO (2004).

Uma das maiores vantagens desse processo é a prevenção dos processos inibitórios por substratos ou outra fonte de nutriente que possa ter dito efeito.

Outra vantagem é a minimização de erros dos efeitos de controle do metabolismo celular e também a redução da formação de metabolismos tóxicos. ARAUJO (2004)

2.1.4.3. Processos Contínuos

Os sistemas contínuos consistem de uma saída ou retirada de vinho e o alimento permanente que entra no reator de fermentação.

Nesse processo é usado um reator CSRT (*Continuos Stirred Tank Reactor*) que caracteriza-se por ser um tanque agitado e operado em processo contínuo e assume-se que é totalmente misturado, consequentemente não há dependência do tempo ou da temperatura com a posição, a concentração ou a taxa de reação no interior do CSRT. Todas as variáveis são as mesmas em qualquer ponto do reator, devido à temperatura e a concentração serem as mesmas. FOGLER (2006).

Alguns fatores positivos da fermentação contínua são, PESSOA (1997):

- O regime da fermentação, o qual permite que o microrganismo trabalhe sempre em condições de alta atividade metabólica.
- O produto obtido é mais uniforme, pois está na fase estácionaria.
- Não existem tempos mortos nesta forma de operação, portanto os equipamentos são menores para a mesma produção.
- A produtividade volumétrica é aumentada, devido à retirada de uma concentração constante do álcool produzido.

O processo contínuo permite obter um maior rendimento, melhor controle e aumento de produtividade, ATALA et al. (2001). Além disso, possibilita a reciclagem de células continuamente, se o fermentador é acoplado a uma centrífuga, membrana ou sedimentador. O meio com produto é enviado para o sistema de purificação e reciclado ao processo, SCHMIDELL et al. (2001).

2.1.5. Controle da Fermentação

Na indústria a fermentação alcoólica é uma arte ainda não totalmente desenvolvida se comparada a outros processos como os petroquímicos. Um exemplo de trabalhar-se em condições adversas é o caso das safras de cana coletadas há muitos dias, secas, sujas com terra e contaminadas com outros microrganismos que podem afetar a qualidade do mosto com consequência no desempenho do processo de fermentação. O termo de robustez do processo se define como a capacidade biológica das leveduras para que o processo se realize normalmente, por meio de ótimas condições na concentração dos nutrientes e de alguns desinfetantes, LIMA et al. (2001)

A monitoração eficiente do processo de fermentação alcoólica é importante para manter o processo operando nas condições ideais e evitar a influência de perturbações de variações na qualidade da matéria-prima e de alterações no metabolismo dos microrganismos. Como na maioria dos bioprocessos, as variáveis mais importantes na fermentação alcoólica são as concentrações de reagentes, células e produtos. Saber-se que medidas de concentração em tempo real costumam ser caras e introduzir atrasos significativos no andamento do processo, além do alto custo e relativa falta de robustez dos equipamentos de medida em ambientes industriais. Existe uma grande necessidade de se estudar formas de realizar estas medidas com precisão e de forma econômica, ARAUZO BRAVO et al. (2004).

Entre as várias formas para se atingir este objetivo, existe a possibilidade da implementação de sistemas de controle eficientes nas usinas. No entanto, um dos desafios no controle e otimização de bioprocessos é a falta de sensores capazes de medir as variáveis importantes do processo de maneira confiável, em tempo real e com baixos custos. Uma possível solução para este problema é o uso de *Software Sensors,* RADKE (2002).

2.2. Software Sensors

O *Software sensor* é um algoritmo onde várias medições são processadas em conjunto. A interação dos sinais de instrumentos *on-line* pode ser utilizada para calcular ou estimar novas quantidades (por exemplo, variáveis de estado e parâmetros do modelo), que não podem ser medidas em tempo real. O *software sensor* também pode ser entendido como uma associação de um sensor (um *hardware*), que permite realizar medições *on-line* de algumas variáveis do processo, com um algoritmo de estimação (um *software*) para fornecer estimativas em linha de uma ou mais variáveis não medidas. Os *sotwares sensors* podem ainda ser utilizados para estimar parâmetros de modelos, ou mesmo para a medição de atrasos ou serem empregados como ferramentas para superar estes atrasos no envio das informações sobre o processo, BASTIN et al. (1990), GONZAGA et al. (2009).

2.2.1. O Sistema Nervoso e Neurônios

O sistema nervoso é um complexo conjunto de células chamado neurônios. Tais células se interconectam de forma específica e precisa, formando os chamados circuitos neurais.

Em consequência deste avançado sistema nervoso, todo ser vivo que disponha do mesmo é capaz de modificar ações ou seu comportamento em função de experiências passadas. Essa modificação se chama aprendizado.

O neurônio é o principal componente do sistema nervoso e estima-se que no cérebro humano existem cerca de 15 bilhões destas células, que são responsáveis por todas as funções do sistema. Os neurônios são formados pelos dendritos, que são um conjunto de terminais, pelo corpo central, e pelos axônios, que são longos terminais de saída.

A junção interneural através da qual os impulsos nervosos são transmitidos, denominados sinapse, é a forma de comunicação entre uma célula e outra. Esta junção pode ser compreendida da seguinte forma: quando um potencial de ação

chega a um terminal pré-sináptico, ou seja, um determinado neurônio recebe os impulsos, em certo momento são processados, e atingindo o limiar de ação, a despolarização da membrana pode fazer com que um pequeno número de vesículas sinápticas secrete um composto químico denominado neurotransmissor na fenda sináptica, o axônio que pode estar conectado a um dendrito de outro neurônio. O neurotransmissor irá atuar, por sua vez, nas proteínas receptoras do neurônio seguinte produzindo alterações na permeabilidade da membrana neural pós-sináptica, podendo excitá-lo, inibi-lo, ou modificar de alguma forma sua intensidade. Este processo depende de vários fatores, como geometria da sinapse e tipo de neurotransmissor, BASHEER et al. (2000).

A aprendizagem pode levar a alterações estruturais do cérebro. Esta característica conhecida como plasticidade neural, é uma característica única do sistema nervoso. Trata-se, portanto, de uma propriedade que permite o desenvolvimento de alterações estruturais em resposta à experiência, bem como a adaptação a condições mutantes e a estímulos repetidos. Assim, a cada nova experiência do indivíduo, redes de neurônios são rearranjadas, outras tantas sinapses são reforçadas e múltiplas possibilidades de resposta ao ambiente tornam-se possíveis. Desta forma, o mapa cortical de um adulto está sujeito a constantes modificações com base no uso ou atividade de seus caminhos sensoriais periféricos, RADKE (2002).

Levando-se em consideração alguns destes conceitos, porém, de forma muito simplificada quando comparado ao complexo sistema nervoso presente nos animais superiores, são desenvolvidas as redes neurais artificiais.

2.2.1.1. Propriedades de Redes Neurais Artificiais

As redes neurais artificiais são integradas dentro das técnicas conexionistas, o que significa que o funcionamento de cada um dos componentes elementares é idêntico, e a complexidade funcional são obtidos através de uma interconexão de largura entre os elementos. Isso lembra muito a organização de sistemas biológicos, onde os neurônios simples são interligados para formar

sistemas mais ou menos complexos. É por esta razão que o componente básico das redes é chamado de neurônio. Tal como o seu homólogo biológico, um neurônio recebe as informações, que pode vir de sensores ou de outros neurônios, realiza então algumas operações relativamente simples, e finalmente passa o resultado para outros neurônios vizinhos. A vantagem de redes neurais artificiais em relação aos sistemas matemáticos convencionais ou baseados em regras de conhecimento é que a formulação matemática se torna mais complexa quanto maior é o número e combinações destes (sistemas ou regras de conhecimentos). Do mesmo jeito os neurônios biológicos, a morte ou danos de um neurônio afeta quantitativamente, mas não qualitativamente. Isso vai lhe dar características que os tornam muito adequados para executar tarefas como identificação, reconhecimento de padrões e principalmente o controle de processos. As vantagens das redes neurais, quando se utilizam como controle, são (NEVOT (1999):

- Habilidade para aproximar mapeamentos não lineares melhor do que outros regimes (polinômios, etc.)
- Disponibilidade de *hardware* otimizado para usar redes.
- Habilidades para generalizar sequências de entrada não fornecidas durante o treinamento.
- Habilidade para operar simultaneamente com dados numéricos e simbólicos.

A classificação da arquitetura de rede neural pode ser considerada a partir de diferentes níveis:

- Microestrutura: O mais básico consiste em um neurônio a partir do qual procede ao nome da rede.
- Mesoestrutura: Os Neurônios por si mesmos estão limitados em sua operação, que são agrupados para formar uma rede. A forma de organização dos neurônios e as interconexões entre eles são os aspectos mais importantes que devem ser desenvolvidos, uma vez que é essencial para implementação bem sucedida da função para o qual foi feita a rede.

- Macroestrutura: Tenta associar diferentes redes para executar tarefas complexas.

2.2.2. Modelo Matemático de um Neurônio

Um neurônio recebe uma série de entradas representadas por X_i. Inicialmente, essas entradas são adicionadas, multiplicadas por cada um de seus respectivos pesos W_i. No resultado é adicionado também um valor constante chamado Viés (Bias) e representado por b e, finalmente, aplica-se à função de ativação U_k. A figura 2 ilustra este procedimento.

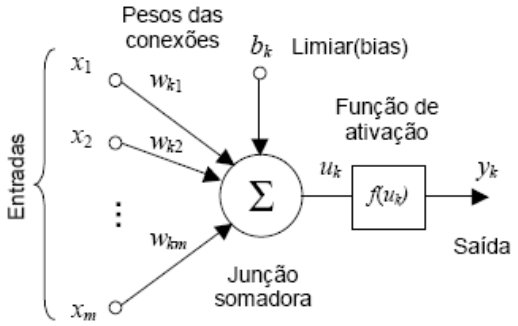


Figura 2. Esquema de um Neurônio como Constituinte de uma Rede Neural Artificial

A saída do neurônio k pode ser representada pela equação (1).

(1)

$$y_k = f(U_k) = f\left(\sum_{j=1}^{m} w_{kj}\, x_j + b_k\right)$$

Pode-se simplificar a notação acima de forma a incluir as *bias* simplesmente definindo um sinal de entrada de valor $x_0 = 1$ com peso associado $w_{k0} = b_k$, equação (2):

(2)

$$y_k = f(u_k) = f\left(\sum_{j=0}^{m} w_{kj} x_j\right) = f(w^t x)$$

Tipos de Funções de Ativação

As funções de ativação mais usadas são a função logística; mostrada na figura 3 e na equação (3) e função tangente hiperbólica mostrada na figura 4 e na equação (4).

(3)

$$y = f(u_k) = \frac{e^{pu_k}}{e^{pu_k} + 1} = \frac{1}{1 + e^{-pu_k}}$$

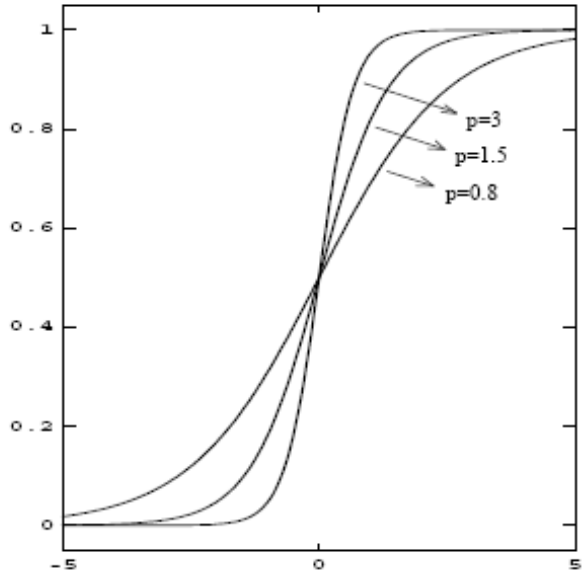


Figura 3. Função Logística

(4)

$$y = f(pu_k) = \tan(pu_k) = \frac{e^{pu_k} - e^{-pu_k}}{e^{pu_k} + e^{-pu_k}}$$

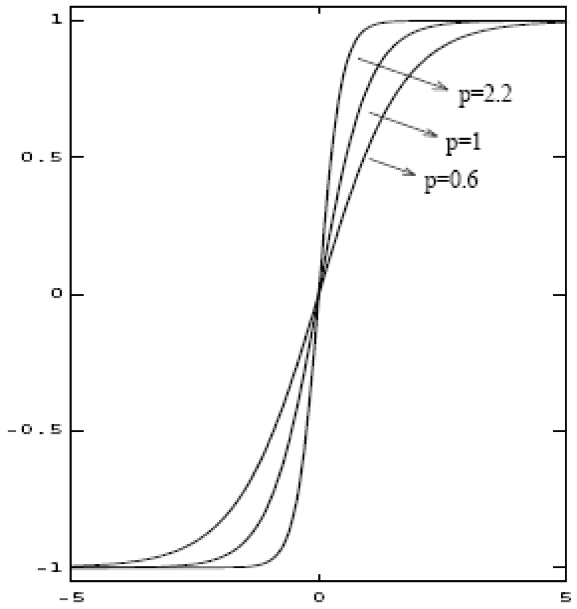


Figura 4. Função Tangente Hiperbólica

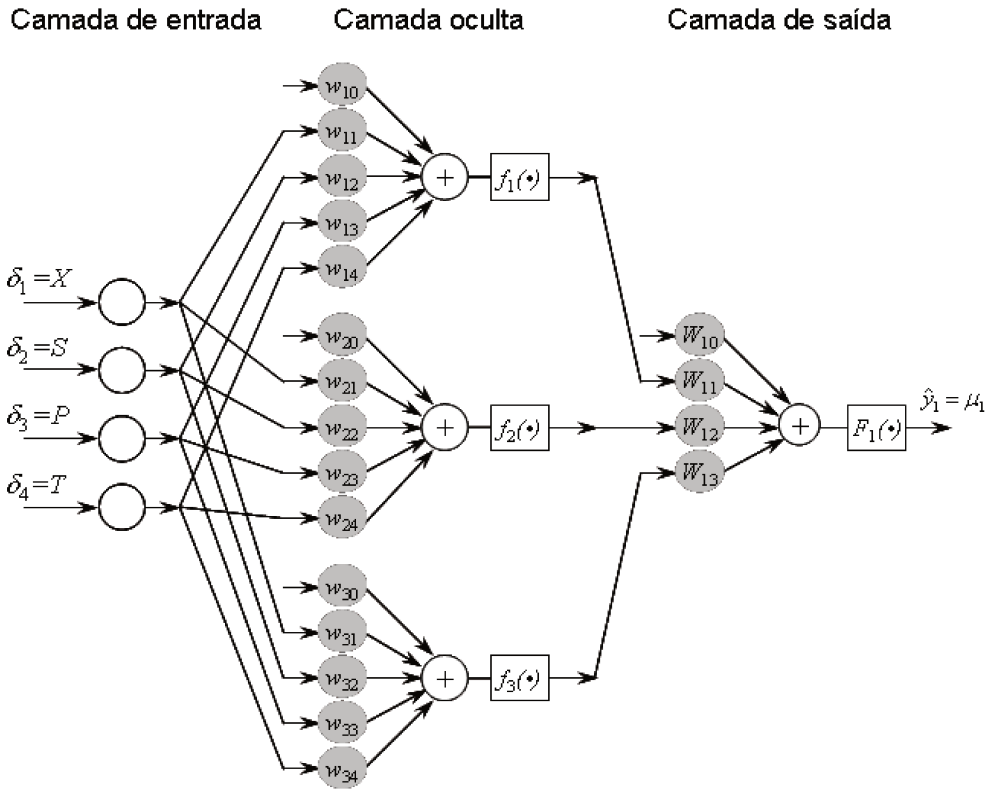


Figura 5. Rede Neural com Diferentes Tipos de Camadas

Os neurônios estão dispostos em camadas e utilizam interconexões entre eles, para formar uma rede, figura 5. Esta organização é feita de acordo com os seguintes critérios, (VON ZUBEM et al. 2010).

- Número de camadas: No caso mais fácil é uma camada única de partida, embora seja mais comum ter uma ou mais camadas intermediárias, chamadas camadas ocultas.
- Número de neurônios por camada.
- Tipos de conexões: para frente, para trás, ou na direção lateral. O tipo de conexão depende do tipo de rede e suas propriedades dinâmicas.
- Grau de conectividade.

A principal propriedade de uma rede neural artificial é que o valor dos pesos e as polarizações são ajustados para que ela possa responder de forma diferente as mesmas entradas. Isto dá a capacidade de associar um conjunto de padrões de entrada - de início, quando estes são apresentados sequencialmente. Este processo se chama adaptação, aprendizagem, ou formação de rede. Se os padrões correspondem às entradas e saídas da planta, a aprendizagem pode ter lugar, enquanto a planta recebe insumos e geram saídas. Este tipo de aprendizagem é chamado *Online*.

Depois de o treinamento estar concluído, a rede pode predizer uma saída da mesma entrada, sem a necessidade da planta. Este tipo de recurso é chamado identificação. No entanto, a rede deve ser capaz de predizer uma saída a partir de qualquer entrada, mesmo quando não foi apresentado na fase de aprendizagem. Esse recurso é chamado generalização.

2.2.3. Redes Neurais do Tipo MLP

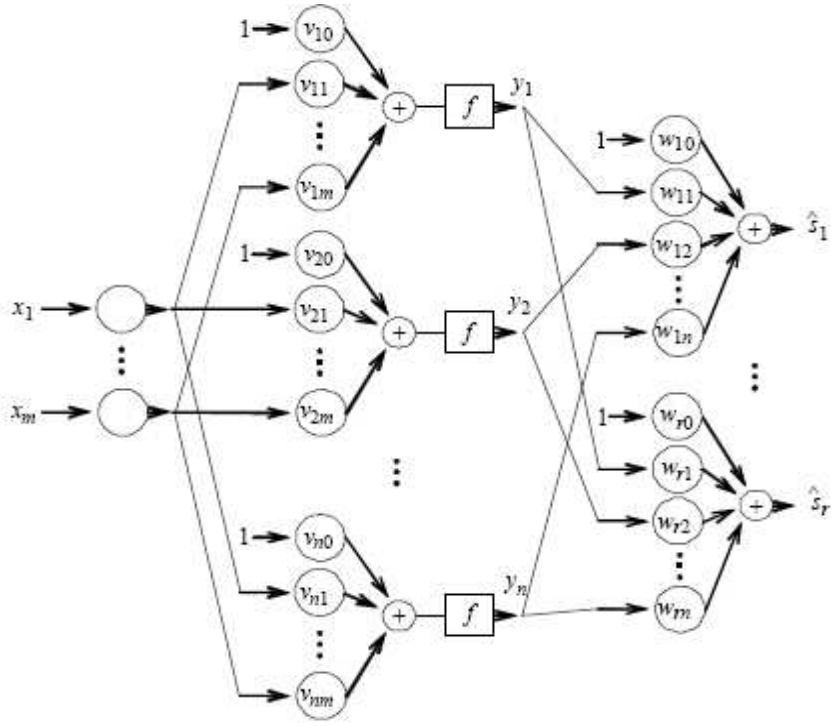


Figura 6. Estrutura de uma Rede Neural MLP "*Multilayer Perceptron*". (VON ZUBEM et al. 2010)

As redes *feedforward* do tipo MLP (figura 6), consistem tipicamente em muitos elementos computacionais simples chamados nós, nodos ou neurônios, agrupados em diversas camadas: camada de entrada, camada de saída e camada(s) internas. Todos os nós em uma camada são conectados a todos os nós das camadas adjacentes, não havendo, entretanto, conexões entre os nós de uma mesma camada. Os pesos que definem a força de conexão entre os nós são estimados para que a rede apresente um bom desempenho, RIVERA et al. (2007). A estrutura de uma rede MLP é mostrada na figura 6.

A relação entre as entradas (saídas de elementos da camada anterior) e a saída de um nó genérico, o nó *i* da camada *k (yi(k))*, é dada pela equação (5) e (6):

(5)

$$S_i^{(k)} = \sum_{j=1}^{k-1} W_{ij}^{(k)} \, y_j^{(k-1)} + \theta_i^{(k)}$$

(6)

$$y_i^{(k)} = f\left(z_i^{(k)}\right)$$

onde, W_{ij}(k) é o peso de conexão entre os nós, $y_j(k-1)$ é a saída do nó j da camada anterior, $\Theta_i(k)$ é o bias e $f(\ )$ é chamada de função ativação do nó.

As relações acima são válidas para nós nas camadas internas ou de saída. A camada de entrada somente distribui o sinal para a camada interna adjacente.

No treinamento da rede neural são fornecidos dados de entrada e os dados de saída correspondentes e com base nestes dados, a rede desenvolve um modelo interno. Este modelo pode ser usado mais tarde para predizer as saídas correspondentes a novos dados de entrada. Isto é feito ajustando-se os parâmetros internos da rede (pesos) de forma a minimizar o erro quadrado entre as saídas da rede e as saídas desejadas. Um dos métodos mais comumente usados é o algoritmo de retropropagação dos erros, que é essencialmente um método de gradiente descendente de primeira ordem. No treinamento deve-se também escolher a função de ativação dos nós e determinar o número de camadas e de neurônios em cada uma delas.

2.2.4. Treinamento da Rede

Uma vez que sejam inicializados os pesos e as bias da rede, a rede esta pronta para ser treinada. A rede MLP pode ser treinada por uma função de aproximação ou reconhecimento de padrões.

O processo de treinamento a rede neural envolve refinamento dos valores tanto dos pesos quanto das bias da rede que vai ser otimizada. A função de desempenho padrão para redes neurais do tipo *feedforward* é o erro quadrático médio (*mean square erro*) entre os dados de entrada e os objetivos, definido de acordo com a equação (7).

(7)

$$f = mse = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}(e_i)^2 = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}(t_i - a_i)^2$$

Para o treinamento da rede MLP pode-se usar qualquer método numérico de otimização na função de desempenho padrão, mas nem todos os métodos apresentam um bom comportamento no treinamento. Um método de otimização bastante utilizado é aquele que faz uso do gradiente da função representada em relação aos pesos dela ou o jacobiano dos erros da rede em relação aos pesos.

O gradiente e o Jacobiano são calculados usando uma técnica chamada de algoritmo de retro-propagação (*back-propagation algorithm*), o qual implica realizar cálculos no sentido contrario através da rede.

2.2.5. Algoritmo de "*Back-Propagation*"

O treinamento com retro propagação é realizado em duas passagens. Na primeira passagem, um padrão $\mathrm{x(t)} = (\mathrm{x_1}, \mathrm{x_2} \ldots \mathrm{x_n})$ é apresentado à camada de entrada e os neurônios processam tal informação, camada por camada, acionando as funções de ativação até que um conjunto de resposta é finalmente gerado na camada de saída. A segunda passagem começa com a mensuração do erro observado entre as respostas fornecidas na camada de saída e a resposta desejada para o problema (treinamento supervisionado). Os erros então são propagados a partir da camada de saída até a camada de entrada e os pesos das conexões entre as camadas são ajustados de tal modo que é minimizada a diferença entre as saídas geradas e almejadas. O treinamento é interrompido quando é atingido um erro suficientemente baixo, ou um numero máximo de ciclos ou ainda quando o poder de generalização começa a decrescer (RADKE (2002)).

2.2.5.1. Treinamento do Algoritmo

O treinamento do algoritmo funciona como um simples algoritmo de otimização; ele atualiza os pesos e as *bias* da rede neural, na direção na qual o comportamento decresce mais rapidamente, o negativo do gradiente. A função deste algoritmo é descrito pela equação (8).

(8)

$$x_{k+1} = x_k - \alpha_k g_k$$

Onde o x_k é o vetor atual dos pesos e as *bias*, g_k é o gradiente atual e α_k é a taxa de aprendizagem. Essa equação é iterada até de rede convergir.

A lista de algoritmos, a seguir apresentadas, está disponível no Neural Network Toolbox do *Matlab Software*®.

Levenberg-Marquat
Bayesian regularização
BFGS Quase Newton
Relisent Backpropagation
Scaled Conjugate Gradient
Conjugate Gradient with Powell/Beale Restard
Flercher-Powell Conjugate Gradient Descent
Gradient Descent With Momentum
Gradient Descent

Segundo PEREIRA (2001) o treinamento mais rápido é realizado por Levenberg-Marquat, mas o Método de Quase Newton é também um dos que apresenta melhores resultados, em termos de rapidez, em atingir o objetivo.

2.2.6. Controle Por Meio de Redes Neurais

Os princípios do controle baseados em redes neurais “Neurocontrol” podem ser definidos em cinco estruturas:

Controle supervisado: a rede aprende um conjunto de entradas e saídas desejadas e assim pode identificar um sistema dinâmico.

Controle direto inverso: uma rede aprende a dinâmica inversa do sistema, de modo que poderia calcular a ação de controle a exercer.

Controle adaptativo: Este consiste na substituição de modelos dentro de um esquema clássico de controle adaptativo por uma rede neural.

Retro-programação de utilidade: Permite otimizar a função de utilidade ou custo. Requer um modelo sistema de controle, que pode ser outra rede neural.

Crítico adaptativo: Como o sistema anterior, é usado para otimizar a função custo, mas sem necessidade de um modelo da planta, ou pelo menos sem precisar de um modelo determinístico. O controle crítico adaptativo consiste em outra rede, e é responsável por avaliar a rede principal, para que possa adaptar seus pesos (NEVOT (1999)).

2.2.7. Controle dos Processos Fermentativos por Meio de Redes Neurais

Como aplicação de uma matemática exata, o modelo é o monitoramento dos estados do processo, que é uma fonte de informação para a tomada de decisão no processo de produção. Em geral, o acompanhamento dos perfis de etanol em instalações industriais é realizado por meio de análises *off-line*, muitas vezes com um atraso significativo entre amostragem e a disponibilidade dos resultados da análise. Um modelo matemático apropriado pode ser usado como um *software sensor* e permitir o monitoramento em tempo real de importantes variáveis. Quanto ao monitoramento vale a pena mencionar a limitação atual dos mais avançados instrumentos analíticos (incluindo espectrofotômetros de absorção no infravermelho), e os desafios a serem resolvidos, como precisão

insuficiente, longo tempo morto, dinâmica lenta, grande ruído, baixa reprodutibilidade, deterioração, alto custo e constante manutenção entre outros (KANO et al. (2008)).

Em plantas de fermentação industrial os instrumentos analíticos são difíceis de calibrar, principalmente devido às características dos meios de cultura industriais, tais como a turbidez da cultura, a presença de CO_2 dissolvido, entre outros (MACEDO (2003), OSORIO et al. (2008)). Atualmente, o *software sensor* é a alternativa preferida na monitorização do estado das variáveis em processos biotecnológicos (SOONS et al. (2008)). Esta abordagem é uma área de pesquisa promissora com impacto significativo na operação industrial (KANO et al. (2008), GONZAGA et al. (2009); KADLEC et al. (2008)). Referências mais recentes sobre *software sensors* para serem usados em problemas biotecnológicos complexos são apresentadas por OSORIO et al. (2008), SOONS et al. (2008), ARRANZ et al. (2008), YU et al. (2008), LEE et al. (2008), entre outros.

As principais finalidades do uso de *software sensor* em bioprocessos é avaliar a qualidade do produto final e validar analisadores *on-line*. Redes neurais artificiais (RNA) tem sido dominante na literatura na área de projetos e execução de *software sensor*. As técnicas de inteligência artificial, tais como, RNAs foram amplamente aplicadas para a modelagem de bioprocessos, monitoramento e controle. Esta técnica procura combinar eficientemente todos os conhecimentos disponíveis e direcionar o desenvolvimento numa estratégia de melhorar a operação do processo (RIVERA et al. (2006)). Além disso, as RNAs podem ser usadas para oferecer soluções de adaptação, já que a estimação de seus parâmetros é um procedimento simples (RIVERA et al. (2007)). Estas características são adequadas para a análise de dados de processos mais complexos, como de processo de fermentação extrativo contínuo (baseado em o *flash*), que tem um grande número de variáveis de estado. Em trabalhos anteriores GONZAGA et al. (2009), RIVERA et al. (2009), foi demonstrado que redes neurais do tipo MLP foram facilmente implementadas em uma plataforma com interface direta com os instrumentos, sensores e atuadores para determinar a predição de um desempenho confiável em sistemas dinâmicos. A seleção deste procedimento

foi possível devido à sua representação matemática simples, bem como o baixo esforço computacional em comparação com redes neurais dinâmicas. Embora a maior vantagem da rede neural seja inerente a sua implementação às dependências de tempo desconhecido (CATFOLIS (1994)), alguns estudos no sistema dinâmico mostraram que, em certas situações, as redes neurais MLP podem apresentar desempenho superior em comparação às redes neurais dinâmicas, (DEMATOS et al. (1996)).

2.3. Modelo Híbrido Neural

Embora as redes neurais sejam uma ferramenta ótima para o desenvolvimento ou obtenção de soluções, elas não fornecem uma solução a todo tipo de problema. Por outro lado as combinações das redes neurais com outros tipos de modelos podem ser uma solução interessante para tratar problemas industriais que se caracterizam por apresentarem atrasos, dificuldades no monitoramento de muitas variáveis e por não propiciarem um ambiente adequado para o emprego de equipamentos sensíveis a vibração e, umidade e poeira. O acoplamento de redes neurais com modelos determinísticos de processos é particularmente atrativo, pois permite combinar o poder de representação dos modelos fenomenológicos com modelos do tipo “caixa preta” que podem representar outros fenômenos não considerados através de medidas. Estes são um dos tipos de modelos híbridos.

De uma forma geral, a modelagem hibrida neural pode envolver a combinação dos seguintes sistemas com as redes neurais:

- Modelos estatísticos
- Lógica Nebulosa (*Fuzzy*)
- Sistemas Baseados em Regras de Conhecimento
- Algoritmos Genéticos
- Raciocínio Baseado em Caos (Teoria do Caos)

- Lógica Matemática
- Linguagens formais
- Agentes Inteligentes
- Sistemas Tutores
- Linguagem Natural
- Equações determinísticas

O desenvolvimento e a aplicação de um sistema neural híbrido, utilizando equações determinísticas (balanço de massa e/ ou energia) oferece algumas vantagens sobre o sistemas convencionais de redes neurais. Acredita-se que esses modelos são mais confiáveis justamente por serem baseados em princípios fundamentais do processo e das redes neurais.

Os sistemas híbridos são melhor empregados quando existe, por exemplo, alguma etapa do processo que não é muito bem compreendida. No caso de processos fermentativos, por exemplo, ressalta-se a dificuldade de descrever adequadamente o comportamento microbiano, devido à natureza complexa do seu metabolismo e a natureza altamente não linear da sua cinética. Desta forma, os aspectos do problema cujo comportamento quantitativo é bem entendido são descritos pelas equações determinísticas, enquanto os demais são descritos por redes neurais. A rede neural não apresenta, em geral, dificuldades em estabelecer as relações sobre os aspectos complexos, dados com ruídos e não lineares.

PEREIRA (2001) desenvolveu um modelo para um processo extrativo de produção de álcool de uma maneira simples e rápida. De fato, um modelo para ser usado nas decisões operacionais de forma adequada deve ser suficientemente confiável para fins de otimização e estudos de controle. Além disso, foi feita uma comparação entre o uso das FLNs (*funtional link*) e das FNNs (*forward neural network*) na descrição da cinética do processo. Segundo o autor é demostrado que as redes neurais do tipo FLNs permitem o desenvolvimento de um modelo hibrido neural com uma vantagem significante

quando comparadas com redes neurais artificiais convencionais; adicionalmente o modelo hibrido apresenta bom desempenho com o uso das redes neurais do tipo *feedforward*.

RADKE (2002) desenvolveu modelos de forma simples e rápidas capazes de descrever as características mais representativas do processo de fermentação alcoólica. Esses são usados para otimização, controle o como *software sensor*. Os modelos foram construídos através das equações de balanço de massa do processo com redes neurais, que descrevem a cinética desconhecida.

POLOWSKI (2009) desenvolveu três modelos para predição do número Kappa, a saber, modelo determinístico, modelo neural e modelo híbrido. Os resultados das predições comparadas com dados experimentais mostraram que os modelos apresentados, são ferramentas úteis para as fábricas de celulose e papel, uma vez que existe a possibilidade de serem aplicados para simulação de processos, otimização e controle. Os modelos foram testados para diferentes condições operacionais sem alterar a produção, e possibilitaram melhor controle de algumas variáveis no processo fabril. Neste estudo a rede neural e os modelos cinéticos apresentaram resultados equivalentes.

MANTOVANELLI (2005) desenvolveu um modelo hibrido neural para o processo de fermentação alcoólica usando balanços de massa combinados com redes neurais do tipo *funtional link*.

RIVERA et al. (2010) desenvolveu uma rede neural que identificou uma ótima combinação de enzima, no processo. A hidrólise enzimática do bagaço de cana foi usada como caso de estudo. Esta técnica foi usada para construir um modelo dos efeitos combinados das cargas de celulose e β-glucosidase sobre o rendimento de glicose após da hidrólise enzimática.

3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL E DO *SOFTWARE SENSOR*

Na figura 7, o cronograma apresenta a sequencia dos procedimentos adotados nas bateladas para a obtenção dos dados o procedimento de desenvolvimento do modelo híbrido neural.

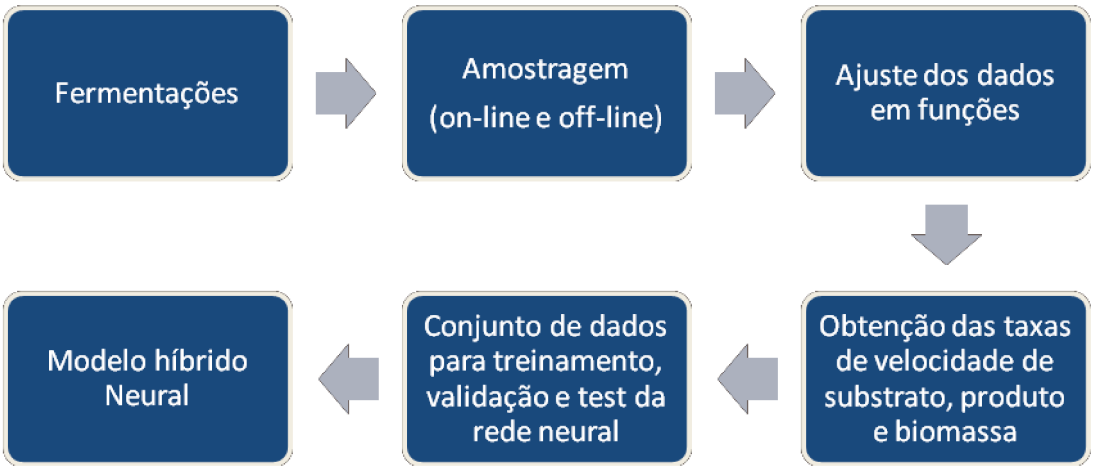


Figura 7. Metodologia Usada Para o Desenvolvimento do Projeto

Inicialmente se realizaram as fermentações alcoólicas a partir de uma matriz de planejamento apresentada na seção 3.2.1. Nesses experimentos, foram coletados dois grupos de dados: os primeiros dados são os on-line (temperatura, pH, turbidez, vazão de CO_2) armazenados a cada 3 minutos; os segundos são os dados off-line os quais são alíquotas das bateladas onde, por meio de métodos analíticos, são determinadas as concentrações de substrato, células e produtos. O tempo de coleta foi de aproximadamente três horas. Esses dados *off-line* foram ajustados à curva sigmoide e posteriormente derivados em função do tempo para determinar as velocidades de consumo de substrato, formação de células e produção de etanol, a cada 3 minutos, para ter um par relacionado com os dados *on-line*. Finalizada estas etapas se obtém o conjunto de dados que foram divididos para o treinamento, validação e o teste do modelo híbrido neural. Por ultimo realizam-se as fases de treinamento validação e teste obtendo-se as equações do modelo híbrido.

3.1. Materiais

3.1.1. Microrganismo

Utilizou-se neste trabalho a levedura *Saccharomyces cerevisiae,* cultivada no Laboratório de Engenharia de Bioprocessos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, obtida de uma planta industrial.

3.1.2. Substrato

O meio de produção utilizado foi uma mistura de melaço de cana-de-açúcar e hidrolisado de bagaço de cana, na proporção (volume/volume) de 25% e 75% respectivamente.

3.1.3. Cultura do Microrganismo

Apresenta-se na tabela 1 a composição do meio utilizado para ativação do microrganismo.

Tabela 1. Composição do Meio de Ativação para Cultivo de *S. cerevisiae*.

Composto	Concentração (Kg/m3)
Extrato de levedura	3
Extrato de malte	3
Peptona	5
Glicose	10

Foi utilizado um meio de cultura semi-sólido para o crescimento do inóculo. A composição do meio é apresentada na tabela 2.

Adicionalmente para a preparação deste, foi adicionado 20 Kg/m^3 de ágar-ágar. Este meio de cultura foi esterilizado junto com o leitor de pH e o reator. Esta esterilização foi realizada por meio de vapor saturado na t = 30 ºC, durante 20 minutos em autoclave marca PHOENIX. Para a manipulação do material foi usada uma câmara de fluxo laminar esterilizado com álcool etílico 70º GL e radiação ultravioleta por 30 minutos.

Tabela 2. Composição do Meio de Crescimento Utilizado para o Inóculo.

Composto	Concentração (Kg/m3)
Sacarose	20
Extrato de levedura	5
K_2HPO_4	5
NH_4Cl	1,5
KCl	1,15
$MgSO_4.7\ H_2O$	0,65

O pH do meio de crescimento se estabiliza em aproximadamente 6,8. O crescimento das leveduras foi realizado em erlenmeyers e mantidos em agitação por 24 horas a 150 rpm e 30 °C em *shaker*.

3.1.4. Inóculo

No inicio do processo efetua-se a ativação da *Saccharomyces cerevisiae* da cultura estoque transferindo-a para um tubo de ensaio contendo meio de crescimento (Tabela 1) com ágar inclinado como pode ser observado na figura 8, sendo este mantido nas condições de 30° C por 24 horas numa incubadora.

Figura 8. Meios de Ativação e Meio Sintético de Crescimento da Levedura

Em seguida, parte da levedura é transferida para o interior de uma câmara de fluxo laminar, para tubos de ensaio contendo 10 ml de meio sintético nas proporções da tabela 2 mantendo-se as condições de temperatura e tempo de cultivo.

Figura 9. Crescimento dos Microrganismos em Erlenmeyers Aletados, Mantidos em Agitação por 24 horas a 150 rpm e 30 °C em *shaker*.

Posteriormente, é realizado o repique do microrganismo para um meio sintético contido em um erlenmeyer aletado. Insere-se este em um ´´*shaker*´´ a uma temperatura de 30°C por mais 24 horas com uma agitação de 150 rpm (Figura 9).

Após esta etapa, coloca-se o conteúdo do inoculo num erlenmeyer maior, completa-se 600 ml do conteúdo com meio industrial e em seguida centrifuga-se a uma velocidade de 4000 rpm. Retira-se o sobrenadante e adiciona-se água destilada até completar 100 ml. Este procedimento é feito na câmara de fluxo laminar (figura 10). Os passos para preparação do inoculo estão apresentados na figura 11.

Em seguida à fase de preparação, transfere-se o meio contendo as leveduras para um inoculador antecipadamente esterilizado e através deste, adiciona-se as células ao fermentador (figura 12). O volume de inoculo utilizado foi de aproximadamente 11,11 % do volume total de meio reacional com a finalidade de reduzir a fase "*lag*" de crescimento durante o inicio do processo.

Figura 10. Centrifugação e Separação da Levedura.

O meio de produção utilizado foi melaço de cana de açúcar diluído, misturado com hidrolisado enzimático de bagaço de cana-de-açúcar. O volume reacional era formado de 66,67 % (v/v) de hidrolisado, 22,22 % (v/v) de solução de melaço, e 11,11 % (v/v) de inóculo, totalizando 1 L. A esterilização da cuba de vidro do reator foi feita em autoclave juntamente com o meio. Previamente à fermentação, retirou-se uma amostra do meio sem inóculo e iniciou-se o processo com a inoculação do microrganismo, realizou-se um intervalo de amostragem de aproximadamente 3 horas através de um amostrador manual, e depois as alíquotas foram congeladas para análise.

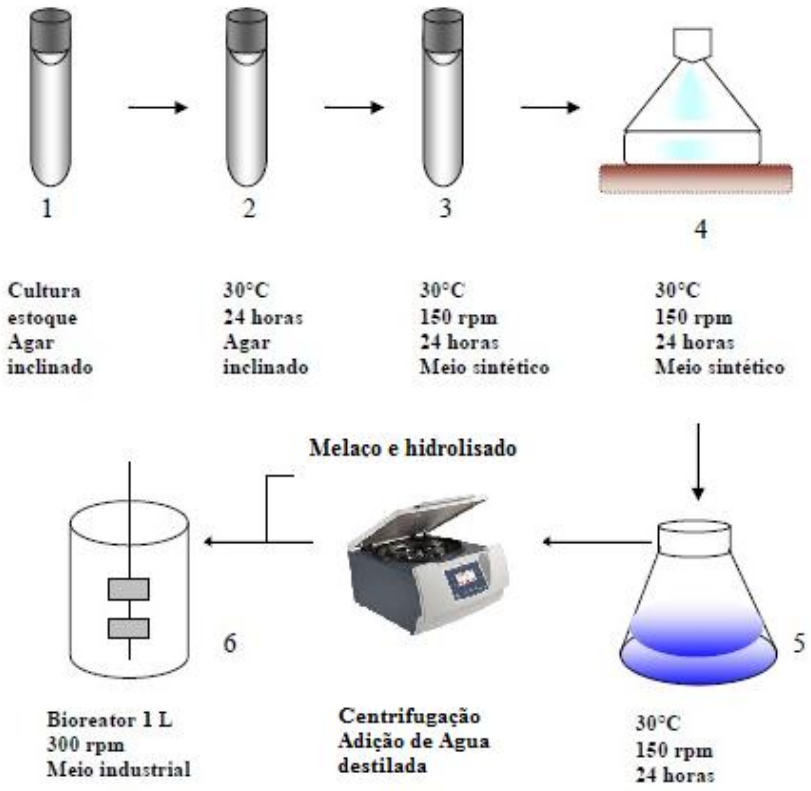


Figura 11. Etapas de Preparo do Inóculo para a Fermentação. Adaptação de ANDRADE (2007).

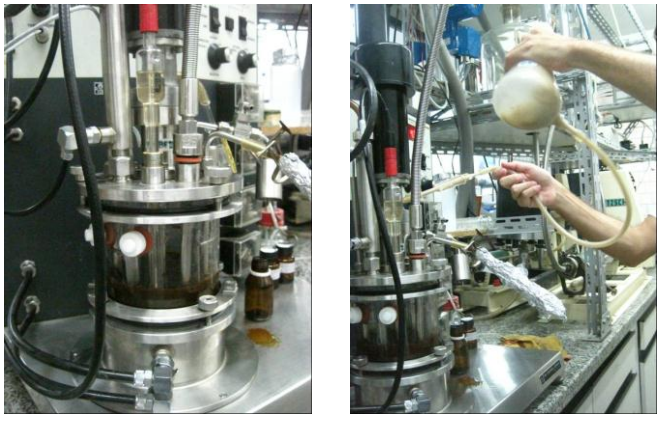


Figura 12. Reator com Meio de Produção e Inoculação das Leveduras.

3.1.5. Fermentador

O Fermentador usado foi um Bioflo III - New Brunswick Scientific Co, com um volume de 1L. O reator utilizado foi um Batch com controle de temperatura e agitação, com 300 rpm e turbinas de pás planas apresentado na figura 13. O biorreator tem Medidores *on-line* de vazão de CO_2, pH, Termopar, Turbidimetro e um controle de temperatura por recirculação de água na parte externa da cuba encamisada.

Figura 13. Fermentador.

3.2. Métodos

3.2.1. Matriz de Planejamento de Bateladas

Os experimentos para desenvolvimento e validação do *software sensor* foram realizados variando a temperatura da fermentação de 30 ºC a 38 ºC e deixando fixa a concentração inicial de substrato (So) em 180 g/L. Em cada temperatura se realizou uma batelada a mais para obter a maior quantidade de dados para um melhor treinamento da rede neural. Além disso, essas bateladas foram realizadas com reciclo das células da primeira batelada, na mesma temperatura. Na tabela 3 é apresentada a matriz de planejamento resultante.

Trocou-se a faixa de concentração inicial de substrato por um valor fixo devido a grandes erros resultantes da preparação do melaço nas concentrações

do planejamento, devido à grande viscosidade do meio, sendo assim difícil sua homogeneização. Adicionalmente, valores baixos de concentrações de açúcares na solução não são atrativos à indústria. A concentração nominal de 180 g/L de açúcares redutores para processos em batelada resulta em menor consumo de água no processo e maior concentração de etanol resultante.

Esses dados experimentais foram fornecidos do trabalho desenvolvido por ANDRADE (2012).

Tabela 3. Matriz de Planejamento das Bateladas

Ensaios	Temperatura	So (g/l)	Reciclo
Batelada 1	30	180	sem reciclo
Batelada 2	30	180	com reciclo da B1
Batelada 3	32	180	sem reciclo
Batelada 4	32	180	com reciclo da B3
Batelada 5	34	180	sem reciclo
Batelada 6	34	180	com reciclo da B5
Batelada 7	36	180	sem reciclo
Batelada 8	36	180	com reciclo da B7
Batelada 9	38	180	sem reciclo
Batelada 10	38	180	com reciclo da B9

3.3. Métodos Analíticos

Neste sub-item são apresentados os métodos usados, ANDRADE (2012), para a determinação das concentrações de etanol, glicose, frutose que foi realizado por um sistema de cromatografia líquida e para determinação de células foi realizado por gravimetria.

3.3.1. Determinação de Concentração de Açucares Redutores e Etanol.

A determinação das concentrações de açucares e etanol foi realizada por um sistema de cromatografia líquida (HPLC) marca Varian. As amostras coletadas

foram descongeladas e centrifugadas a 3300 rpm em temperatura ambiente por 15 minutos, formando-se um sobrenadante resultante da centrifugação do meio reacional. Este foi diluído, filtrado com membrana microporo de 0,22 µm e colocado em "*vials*" para injeção automática para análise de glicose, frutose e etanol. As condições do equipamento estão na tabela 4.

Tabela 4. Condições do Equipamento

Condições de Equipamento	
Cromatógrafo	Modelo Varian 9010
Solução	H_2SO_4
pH	1,4
Fluxo de H2SO4	0,7 ml/min
Coluna	Aminex HPX 87-H

3.3.2. Determinação de Concentração de Células

A medida de concentração dos microrganismos foi feita por gravimetria de peso seco. Esta foi realizada após centrifugação da amostra, obtendo-se o precipitado. Após esta etapa, lavou-se com água destilada e transferiu-se o material sólido para tubos de ensaio previamente tarados. Realizou-se a medição da massa que em seguida foi secada em uma estufa com circulação de ar e temperatura de 70° C. Para essa análise gravimétrica foi usada uma balança analítica.

A expressão matemática da concentração celular se apresenta na equação (9):

$$X_t = \frac{(M_t + M_s + M_{tv})}{V_{lc}} \tag{9}$$

Nestas equações tem-se: X_t: Células Totais, M_t; Massa tubo de ensaio, M_s: Massa tubo ensaio seco, V_c: Volume do liquido centrifugado.

3.4. Desenvolvimento do *Software Sensor*

A seguir será apresentada a metodologia proposta e utilizada para o desenvolvimento do modelo hibrido neural. Encontra-se descrito o procedimento que mostra o treinamento da rede neural em uma primeira etapa e seu acoplamento com os balanços de massa (modelo determinístico) para a obtenção do modelo híbrido.

3.4.1. Modelo Híbrido Neural

O *software sensor* consiste em um modelo híbrido neural adaptativo que combina equações de balanço de massa com redes neurais do tipo MLP (*Multilayer Perceptron*) que descrevem as taxas cinéticas (r_x, r_d, r_s e r_p). As equações de balanço de massa para batelada alimentada são dadas pelas equações (10 até 14):

- Células viáveis: (10)

$$\frac{dX_v}{dt} = r_x - r_d + \frac{F}{V}X_v$$

- Células mortas: (11)

$$\frac{dX_d}{dt} = r_d - \frac{F}{V}X_d$$

- Substrato: (12)

$$\frac{dS}{dt} = -r_s + \frac{F}{V}(S_F + S)$$

- Produto: (13)

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

- Variação de volume: (14)

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

onde X_v, X_d, S e P são as concentrações de células viáveis, células mortas, substrato (ART) e produto, respectivamente; r_x, r_d, r_s e r_p são as taxas cinéticas de crescimento celular, morte celular, consumo de substrato e formação de produto; F é a vazão volumétrica de alimentação; V é o volume do fermentador e S_F é a concentração de substrato na alimentação. No caso em que a fermentação é realizada em batelada, a vazão de alimentação (F) é igual a zero e não há variação de volume, ou seja, dV/dt=0, logo a equação (14) não é necessária.

Usam-se medidas de variáveis secundárias as quais são fornecidas pelos sensores de pH, turbidimetro, termopar, sensor de CO_2 com uma taxa de amostragem de 3 minutos, como variáveis de entradas nas redes, de forma que depois de treinada a rede possa ser usada como *software sensor* em tempo real com medidas feitas *on-line*. Faz-se uso de medidas de turbidez, vazão de CO_2, pH e temperatura que são variáveis de fácil medição, inclusive industrialmente. De fato, a turbidez não é uma medida usual em ambientes industriais mais é facilmente realizável em unidades de laboratório. Já se avaliou o uso destas medidas como entradas para a rede no trabalho de RADKE (2002), que mostrou resultados promissores. As redes usadas foram do tipo MLP.

3.4.2. Tratamento de Dados

As entradas da rede são as medidas secundárias, que estavam disponíveis a cada 3 minutos: turbidez, vazão de CO_2 e pH, além da temperatura. A saída é a taxa cinética a ser calculada. Foram treinadas redes diferentes para descrever as taxas cinéticas de crescimento celular (r_x), morte celular (r_d), consumo de substrato (r_s) e formação de produto (r_p).

As entradas estavam disponíveis por medida direta, enquanto que as saídas precisavam ser calculadas usando os dados experimentais. Sabe-se, das

equações de balanço de massa (equações 15 a 18) que, para operação em batelada podem ser escritas as seguintes equações:

- Células mortas: (15)

$$r_d = \frac{dX_d}{dt}$$

- Células viáveis: (16)

$$r_v = \frac{dx_v}{dt} + r_d = \frac{dx_v}{dt} + \frac{dx_d}{dt}$$

- Substrato: (17)

$$r_s = \frac{ds}{dt}$$

- Produto: (18)

$$r_p = \frac{dP}{dt}$$

Pode-se, então, ajustar uma equação sigmoidal aos dados experimentais de concentrações de biomassa viável e morta, substrato e produto contra o tempo. A derivada da equação (19), ajustada para X_d, X_v, S e P, forneceu os valores de dX_d/dt, dX_v/dt, dS/dt e dP/dt, respectivamente. Estes valores, substituídos nas equações (15 a 18), resultam nas taxas cinéticas “experimentais” usadas como saídas no treinamento, validação e teste da rede neural a cada tempo de amostragem. O procedimento foi demonstrado para a batelada por simplicidade, mas é o mesmo no caso de batelada alimentada.

(19)

$$y = a + \frac{b}{1 - e^{-\left(\frac{c - tempo}{d}\right)}}$$

3.4.3. Rede Neural Artificial

Para o desenvolvimento desse projeto foi usado o programa Matlab® o qual esta com licencia no Laboratório LOPCA e no setor de Informática SIFEQ, da Faculdade de Engenharia Química da Unicamp.

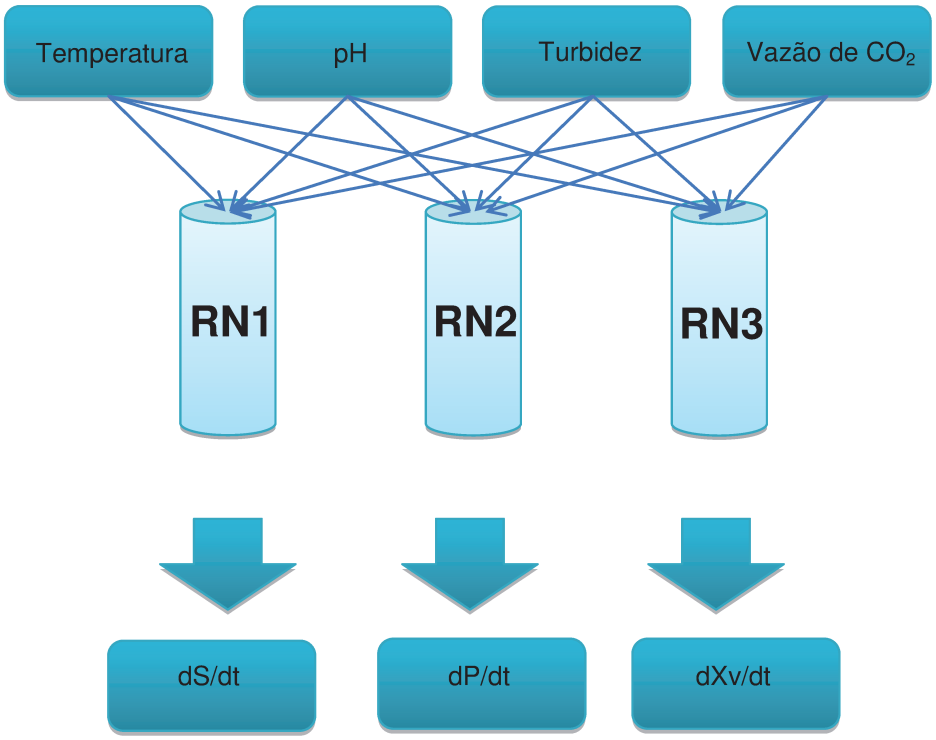


Figura 14. Estrutura Geral das Redes Neurais Usadas.

A estrutura geral das redes neurais artificiais proposta e usada neste trabalho está apresentada na figura 14. A arquitetura usada foi uma rede de tipo MLP (*Multilayer Perceptron*), com 3 camadas: a primeira para a inserção dos dados (*Input Layer*), a segunda camada é a camada oculta (*Hidden Layer*), e por ultima tem-se a camada de saída (*Output Layer*) que só contem um neurônio com uma função de *Linear Transfer Function.* A camada oculta pode ter uma quantidade de neurônios variada dependendo do desempenho desejado. Trata-se, portanto de uma variável a ser escolhida na estrutura da rede neural artificial. O

desempenho é avaliado através da sua capacidade de fazer boas predições em termos de alguma medida de erro, no caso o erro quadrático médio (MSE). Nesta camada a função de transferência é *a Log-sigmod Transfer Funtion*.

Para solucionar o problema das concentrações se realiza uma rede neural para cada uma das variáveis que se deseja estudar (figura 14). Para a realização desse estudo não se usou a taxa de morte das células já que a viabilidade sempre foi do 100% para todas as bateladas.

O processo de treinamento da função de desempenho padrão para a rede neural do tipo *feedforward* é o erro quadrático médio entre os dados de entrada e os objetivos desejado, definido na equação (20).

(20)

$$f = mse = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}(e_i)^2 = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}(t_i - a_i)^2$$

Para o treinamento da rede MLP o método numérico de otimização ***Levenberg-Marquardt*** é usado na função de desempenho padrão. Na tabela 4 algoritmos e funções usadas no desenvolvimento da rede.

Tabela 5. Algoritmos e Funções Usadas no Desenvolvimento da Rede.

Algoritmos e funções usados	
Função de desempenho	Mean Square Error (Error Quadratico Medio)
Treinamento	Levenberg-Marquardt
Função de transferência na camada oculta	Log-Sigmod Transfer Funtion
Função de transferência na camada de saída	Linear transfer funtion

3.4.4. Treinamento, Validação e Teste das Redes Neurais.

Para o desenvolvimento das redes neurais foram feitas em três fases: a primeira foi o treinamento onde se apresentam a rede os conjunto de dados de entrada e os objetivos (*target*) onde se realizou a generalização dos pesos e as

bias pelo método de *backpropagation* ajustando-se de acordo com a função de erro (MSR). A segunda fase foi a validação, usada para fazer a generalização da rede e para deter o treinamento quando se atingiu a melhor predição das variáveis de resposta. Finalmente a terceira fase foi o teste, usado para fazer uma medição independente da rede despois da fase de treinamento e validação. Tomaram-se dados das bateladas que não tinham sido utilizados e se comparou com o objetivo (*target*) o qual determinou a exatidão da rede desenvolvida e avaliou a aplicabilidade dela e sua eficiência.

A quantidade de dados para essas três fases são aproximadamente 5494 das 10 bateladas por cada uma das redes neurais (rede neural de taxa de substrato, células e etanol), esses dados foram divididos em: 70% (3844 dados) usado para o treinamento, 20% (1100 dados) usado para a validação e um 10% (550 dados) usado para o teste das redes neurais.

Posteriormente os modelos baseados nas redes neurais foram aprimorados escolhendo a melhor arquitetura da rede considerando o numero de neurônios da camada intermediaria, avaliando-se a qualidade das predições para o conjunto de dados por meio dos critérios de EQM, DPR e Valor R.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capitulo são apresentados todos os resultados referentes aos procedimentos descritos no capitulo anterior.

A seguir são expostos os resultados do estudo feito no processo fermentativo; inicialmente, os valores das concentrações dos componentes do sistema de cultivo (concentrações de etanol, açucares redutores e células), obtidos por meio dos métodos analíticos descritos na seção 3.3.1 e 3.3.2 são apresentados. Em seguida se apresenta os dados obtidos por meio do programa *LabView*, os quais são fornecidos pelos sensores de pH, turbidimetro, termopar, sensor de CO_2, com uma taxa de amostragem de 3 minutos. Finalmente, se apresenta os resultados de desempenho das redes neurais, considerando o numero de camadas, teste de quantidade de neurônios e erros obtidos nas fases de treinamento, validação e teste.

Foram realizadas experimentalmente dez bateladas referenciadas na tabela 3. Nesse capítulo são só apresentados os resultados para a primeira batelada. Os resultados das outras bateladas são apresentadas no Anexo 1.

4.1. Dados Experimentais das Fermentações em Bateladas

Os resultados mostrados na tabela 6 são os dados de concentrações de massa seca (células), etanol e substrato (açucares redutores) encontrado por meio dos métodos analíticos, amostrados numa taxa de aproximadamente 2 a 3 horas. Na figura 15 estão representados os dados com o ajuste obtido da curva sigmoidal (Tabela 7). Esse ajuste é usado para determinar a equação do parâmetro *Xd, Xv*, *S* e *P*. A derivada fornecerá os valores de *dXd/dt*, *dXv/dt*, *dS/dt* e *dP/dt*, que serão substituídos nas equações 15 a 18. Assim são obtidas as taxas cinéticas experimentais usadas como saídas no treinamento, validação e teste da rede neural a cada tempo de amostragem.

Pode-se observar na tabela 6 que no período inicial da fermentação tinha certa concentração de substrato (So) o qual foi dado neste trabalho pela soma da sacarose, glicose e frutose, esta começa a diminuir quando que é consumida pelas células (massa seca de células) que aumentam sua concentração no percurso da fermentação e como consequência se eleva a produção de etanol.

Nessa fermentação a viabilidade é muito próxima a 100%, de forma que o valor da massa seca se constitui na totalidade das células sem morte celular. Os dados experimentais da batelada a T= 30°C e S_0 = 149,464 g/l, denominado como batelada nº1 estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Dados Experimentais da Batelada nº1.

	Concentrações (g/L)				
t (h)	Massa seca	Etanol	Substrato	Glicose	Frutose
0	2,56	5,498	149,464	58,273	54,143
3,75	3,92	19,859	111,261	44,454	58,663
7,56	4,73	33,223	96,56	31,538	55,544
10,45	5,34	38,033	77,941	21,79	46,598
12,71	6,09	39,765	69,76	18,498	51,262
16,75	6,41	40,495	46,786	8,336	29,399
19,75	6,39	58,082	42,352	5,591	26,831
24,75	6,83	61,428	12,346	0	12,346
27,75	6,74	71,261	8,468	0	8,468
31,46	6,86	70,701	0	0	0
35,31	6,01	68,384	0	0	0

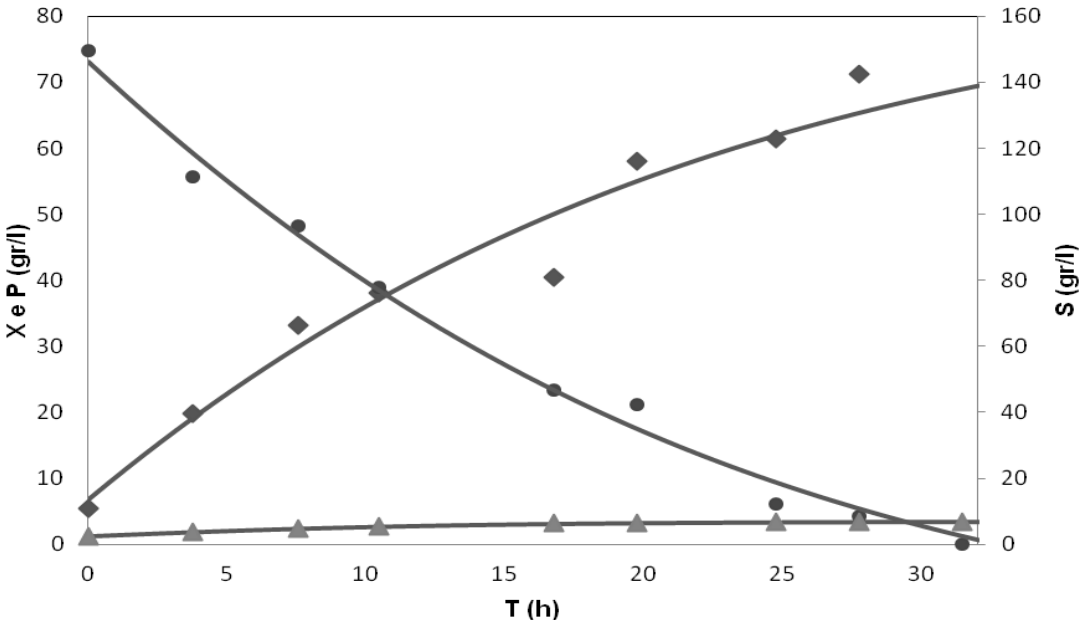


Figura 15. Dados experimentais e ajustados (–) dos dados cinéticos da batelada 1 na temperatura de 30ºC sem reciclo. Dados experimentais são para concentração de substrato, S(•); biomassa, X(▲); produtos, P(♦).

Tabela 7. Ajustes de Dados Experimentais à Curva Sigmoidal.

Parâmetro	Expressão para o parâmetro	r^2
Substrato	$y = -33{,}852 + 671{,}27/(1 + \exp\left(-\frac{x + 17}{-16{,}945}\right))$	0,985
Etanol	$y = -387{,}238 + 473{,}60/(1 + \exp\left(-\frac{x + 30{,}08}{18{,}80}\right))$	0,936
Células Viáveis	$y = -3{,}66 + 10{,}651/(1 + \exp\left(-\frac{x + 2{,}63}{7{,}474}\right))$	0,991

Na tabela 7, observam-se as expressões para os parâmetros de substrato, células e etanol em função do tempo que foram ajustados a curva sigmoidal para a batelada nº1 e o coeficiente de determinação de R^2.

4.2. Coleta de Dados por Meio do "LabView"

No experimento Batelada 1, a fermentação foi realizada em um Fermentador Bioflo III – (*New Brunswick Scientific Co)*. e as condições de operação foram: velocidade de agitação 300 rpm, T =30ºC e mistura de melaço e hidrolisado nas proporções de 25% e 75%, respectivamente.

Os dados obtidos da batelada 1 nas condições de T =30ºC e So=149,47 são apresentados figura 16 a 18. Os dados correspondem a pH, turbidez e vazão de CO_2. A coleta de dados foi feita cada 3 minutos.

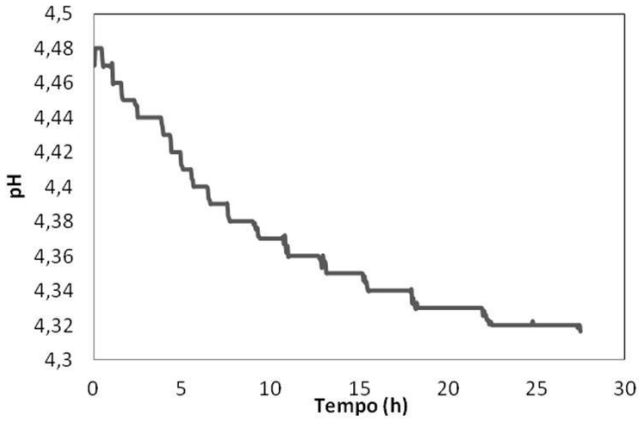


Figura 16. pH ao Longo do Tempo de Fermentação.

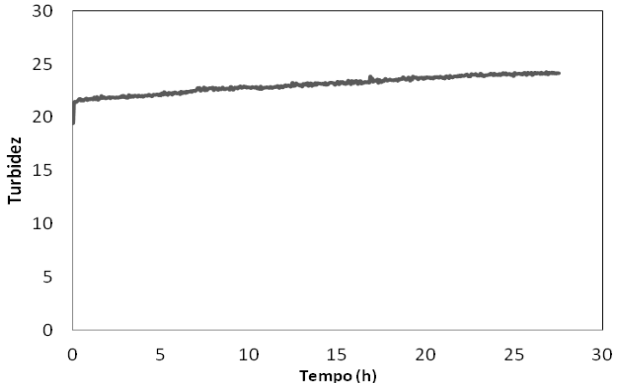


Figura 17. Turbidez ao Longo do Tempo de Fermentação.

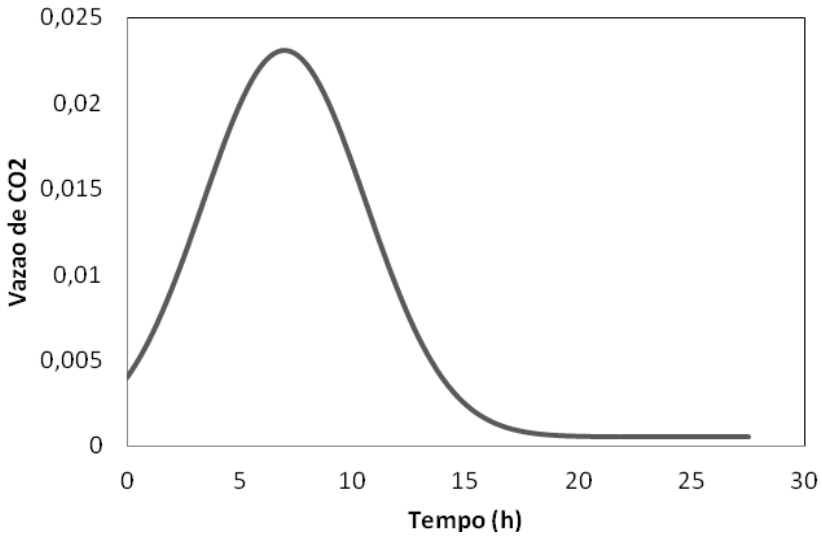


Figura 18. Vazão de CO2 ao Longo do Tempo de Fermentação.

Na figura 16, observa-se que o pH apresenta uma diminuição de 4,48 até 4,32 por causa da formação de subprodutos da fermentação que reduzem o pH no meio.

A figura 17 amostra a variação de turbidez no tempo da fermentação, esta é uma medida da quantidade de luz que consegue passar pelo meio. Portanto, esse aumento da turbidez é devido ao aumento da quantidade de células que reduz a quantidade de luz, indicando um crescimento das leveduras no processo fermentativo.

Na figura 18, apresentam-se os dados de Vazão de CO_2 durante a fermentação alcoólica. O CO_2 é um subproduto da fermentação e indiretamente é uma medição do crescimento celular. Inicialmente o comportamento da vazão de CO_2 é de crescimento desde o tempo inicial até aproximadamente 8 ou 9 horas mostrando nessa fase o crescimento celular. Embora, a figura tenha um ponto máximo de vazão de CO_2 equivalente a o ponto máximo de crescimento celular e depois começa a diminuição de CO_2 na reação de fermentação devido ao processo inibitórios que acontecem no reator.

Posteriormente tanto com os dados experimentais das fermentações em batelada, obtidos pelos métodos analíticos da seção 3.3.1 e 3.3.2 e os dados coletados por meio do *LabView*, se realiza uma base de dados onde se tem as informação de entrada na rede (Temperatura, pH, Turbidez, Vazão de CO_2) e informação de saída (taxa de consumo de substrato, taxa de produção de etanol, taxa de crescimento celular). Essas informações de saída serão usadas respectivamente em cada uma das redes. O intervalo de tempo da base de dados é de 3 minutos.

4.3. Conformação dos Modelos Híbridos.

A informação apresentada a seguir foi dividida em dois conjuntos: os primeiros são os resultados das redes neurais com dados das bateladas sem reciclo e os outros dados são os resultados das redes neurais com os dados de bateladas com reciclo. Esta divisão foi feita porque a cinética nestes dois casos não é a mesma. A razão desta diferença se deve ao fato de que são formados subprodutos, os quais inibem o crescimento de células com consequência na formação de produtos.

Para processo de formação dos modelos híbridos neurais. Inicialmente se realiza uma divisão dos dados ajustados da parte experimental, esses dados foram divididos em dos grupos; bateladas sem reciclo e bateladas com reciclo. Posteriormente se construiram as redes neurais (RN) dependendo das variáveis de saída: células (Xv), substrato (S) e produto (etanol, P) para cada um dos casos de estudo. As respostas das redes ingressaram ao balanço de massa do processo dando como resultado o modelos híbridos neurais. O processo está descrito na figura 19.

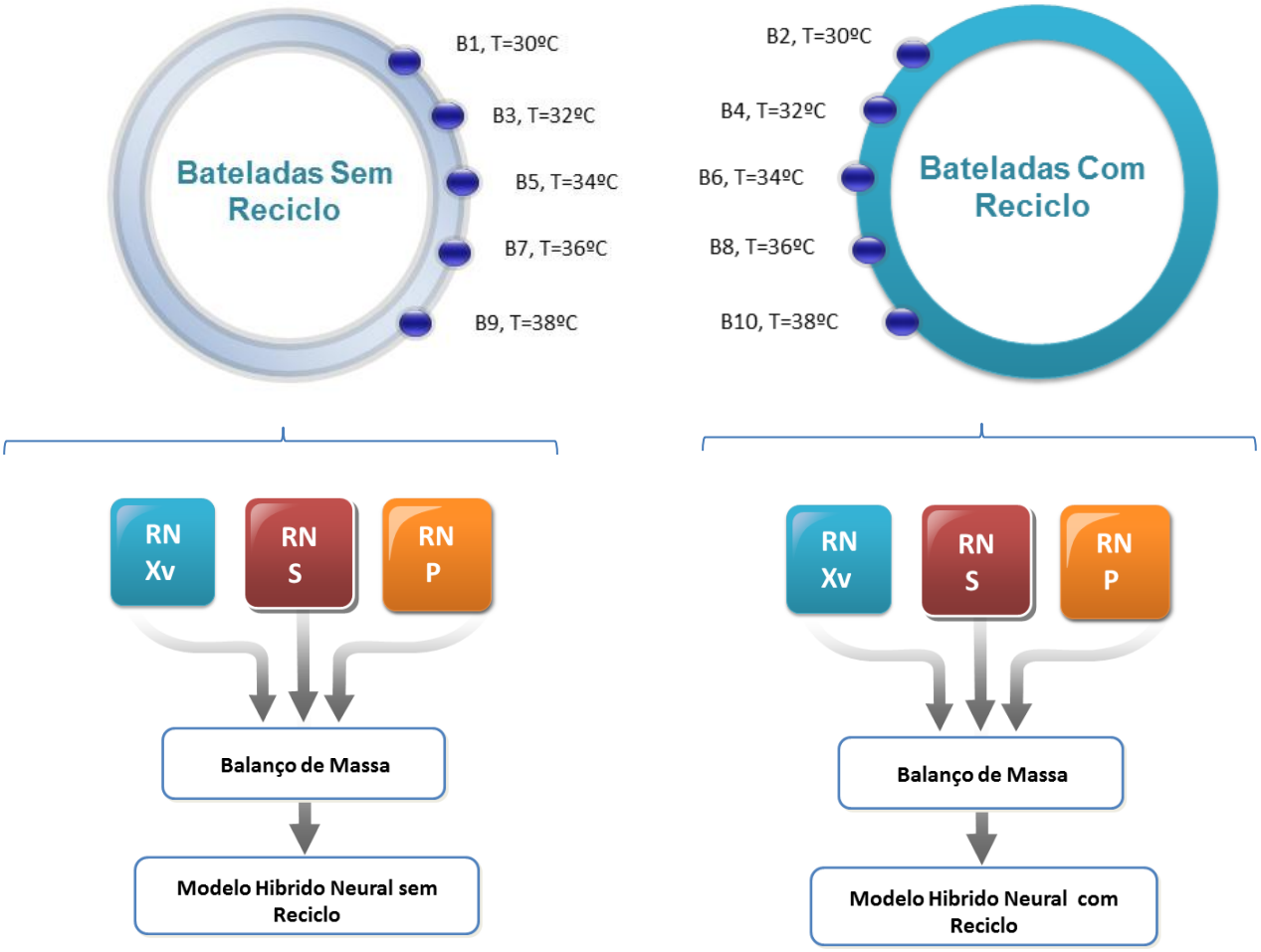


Figura 19. Conformação dos Modelos Híbridos.

4.3.1. Resultados dos Modelos Híbridos Neurais de Etanol.

O modelo baseado na rede neural foi aprimorado escolhendo a melhor arquitetura da rede considerando o número de neurônios da camada intermediária, avaliando-se a qualidade das predições para o conjunto de dados. Esse trabalho foi feito por meio da avaliação do erro quadrático médio EQM, do valor de R e pelo DPR (Desvio Padrão Residual, gerado em %). O DRP é usado para fazer uma avaliação mais rigorosa da capacidade de predição do modelo. Os desvios inferiores a 10% são considerados aceitáveis quando dados de

engenharia de bioprocessos são usados, ATALA et al. (2001), e RIVERA et al. (2007)). O desvio padrão residual (DPR) é dado para pela equação 21, onde *n* é o numero de dados, d_k é a o dado experimental ajustado, g_k é o valor predito pela RNA e $\overline{d_k}$ é o valor médio dos valores experimentais.

(21)

$$DRP = \frac{\frac{1}{n}\sum_{k=1}^{n}((d_k - g_k)^2)^{0,5}}{\overline{d_k}} * 100$$

Modelo Híbrido de Etanol Sem Reciclo de Células

Na tabela 8 estão os dados dos testes feitos para a rede neural de predição da concentração de etanol sem reciclo. A rede com um melhor desempenho foi a que empregou 10 neurônios. Para esta rede neural obteve-se EQM = 0,0039, DPR= 3,7057 que foram os menores quando comparados com os valores obtidos para outras redes.

O valor de R de 0,9976 foi o mais próximo a 1 encontrado, como pode ser observado na figura 20. A rede neural selecionada para a predição da taxa de produção de etanol está mostrada na figura 21.

Tabela 8. Teste feito na Rede Neural da Taxa de Produção de Etanol sem Reciclo.

Neurônios na camada Oculta	EQM	R	DPR
3	0,363	0,734333	24,93447
5	0,0124	0,991833	5,205429
6	0,035767	0,976333	8,087614
8	0,00372	0,9976	3,825976
10 **(Melh-Des)**	0,0039	0,997643	3,705732
12	0,00281	0,998238	7,652452

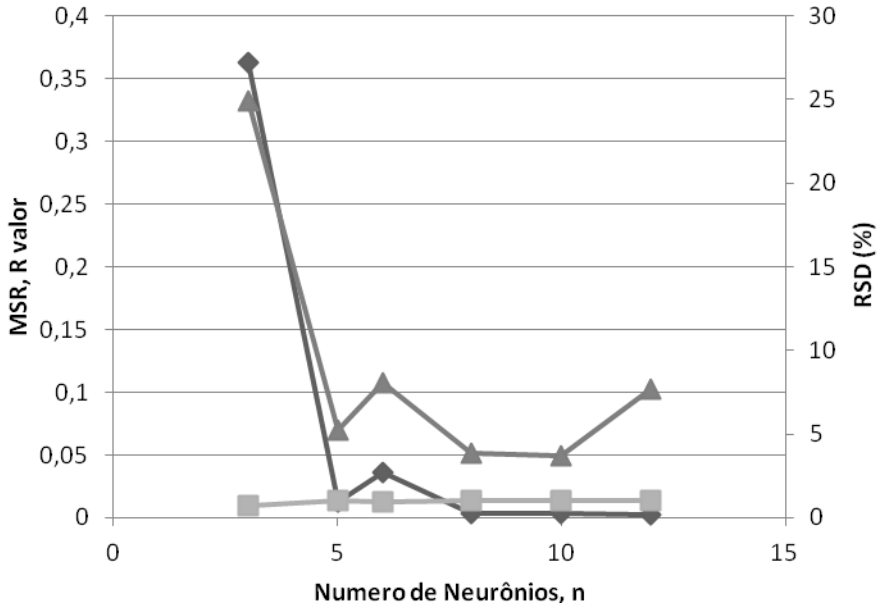


Figura 20. Resultados dos Critérios de Qualidade de Predição da Rede Neural do Etanol. Os Critérios São para o Valor R, R(■), Desvio Padrão Residual, DPR (▲), Erro Quadrático Médio, EQM (♦).

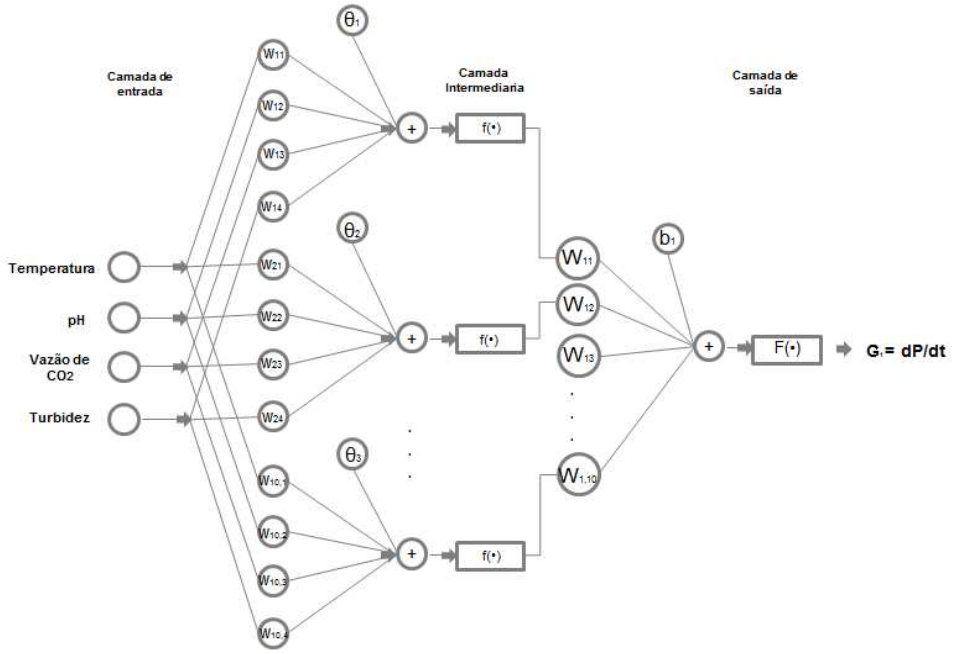


Figura 21. Rede Neural Usada Para Predizer a Taxa de Produção de Etanol.

Tabela 9. Parâmetros Otimizados da Rede Neural.

Parâmetros otimizados (pesos e bias) usados na rede neural							
	Parâmetros de ligação de entrada e neurónios da camada interna					Parâmetros de ligação de neurônios da camada interna e neurônio de saída	
	w_{j1}	w_{j2}	w_{j3}	w_{j4}	θ_j	W_{1j}	b_1
j=1	0,354	-2,246	3,009	1,398	-2,375	-11,281	-13,431
j=2	0,466	1,229	1,869	-2,643	-4,894	7,831	
j=3	-0,143	7,012	-0,491	1,056	-1,502	-0,147	
j=4	0,8835	2,7624	2,8966	0,527	-1,247	1,881	
j=5	-3,646	10,223	9,189	-22,162	-21,743	-22,946	
j=6	0,08	-1,86	1,795	2,303	20,162	27,708	
j=7	3,541	-10,046	-9,209	-2,173	-2,421	-23,526	
j=8	2,233	-0,882	-7,289	-13,242	-3,153	16,196	
j=9	0,337	0,73	1,077	4,416	3,174	-11,6	
j=10	0,32	2,177	-1,04	21,825	24,378	12,817	

A figura 21 representa a rede neural otimizada, mostrando todas as conexões, pesos e bias. Na tabela 9 estão apresentados os valores dos pesos e bias; especifica-se que j é o neurônio da camada intermediária, no qual chegam 4 pesos que correspondem a cada uma das variáveis de entrada ; temperatura, vazão de CO_2, pH e turbidez que correspondem a w_{j1}, w_{j2}, w_{j3}, w_{j4},e a bias b. Também é apresentada uma saída W_{1j} que é o peso da conexão do neurônio j com o neurônio de saída; para este caso é o numero 1, e a bias é denominadas de b_1.

A equação 22 é a rede neural em termos matemáticos, ao substituir os pesos e as bias da tabela 9. A equação da rede com melhor desempenho é determinada para inferir os valores das velocidades de produção de etanol. Para tanto se faz uso da equação 22 e iguala-se com a equação de balanço de massa (equação 18), obtendo-se assim o modelo hibrido neural, apresentada na equação 23.

$$g_1 = F\left(\sum_{j=1}^{M} W_{kj} f\left(\sum_{I=1}^{N} w_{ji} x_i + \theta_j\right) + b_k\right) = \frac{dP}{dt} = V_p = r_p \tag{22}$$

$$r_p = F\left(\sum_{j=1}^{M} W_{kj} f\left(\sum_{I=1}^{N} w_{ji} x_i + \theta_j\right) + b_k\right) \tag{23}$$

Nas figuras 22 a 26, podem ser observados os perfis obtidos pelo modelo híbrido neural comparado com a representação matemática. Os dados gerados da representação matemática estão previamente apresentados na seção 4.1.

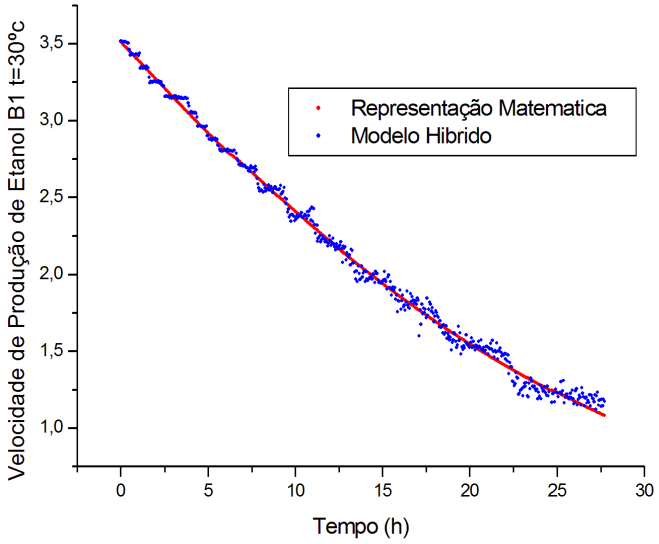


Figura 22. Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B1 Sem Reciclo de Células, T = 30ºC.

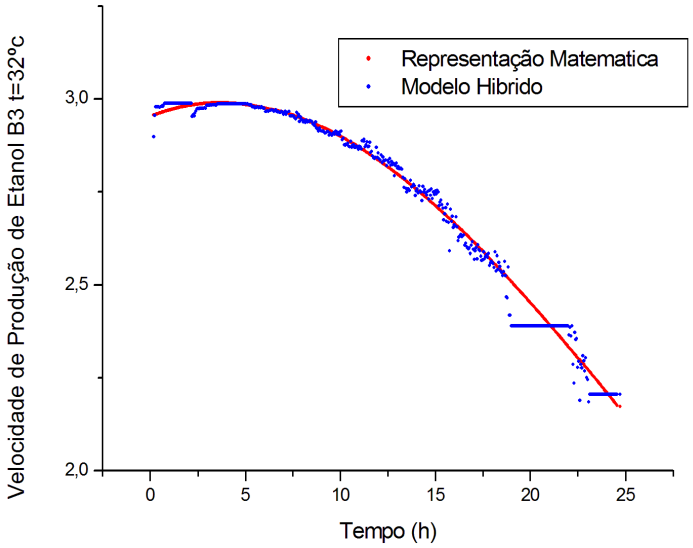


Figura 23. Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B3 Sem Reciclo de Células, T = 32ºC

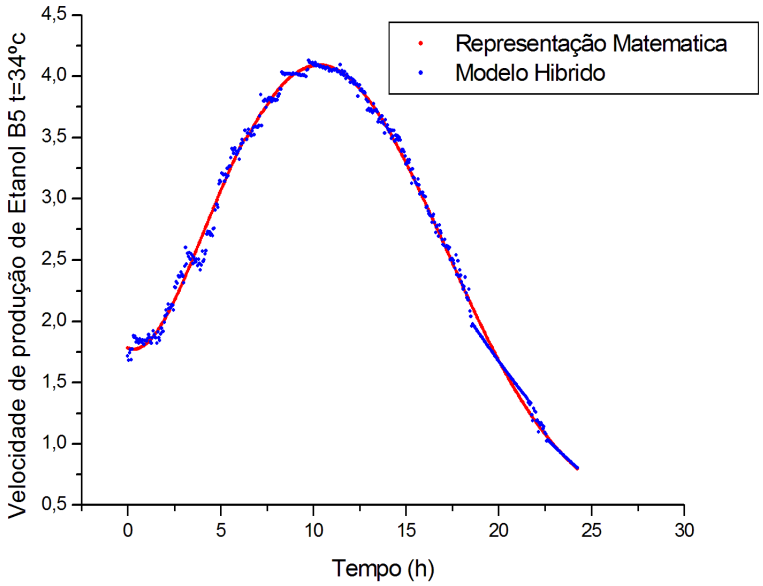


Figura 24 Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B5 Sem Reciclo de Células, T = 34ºC

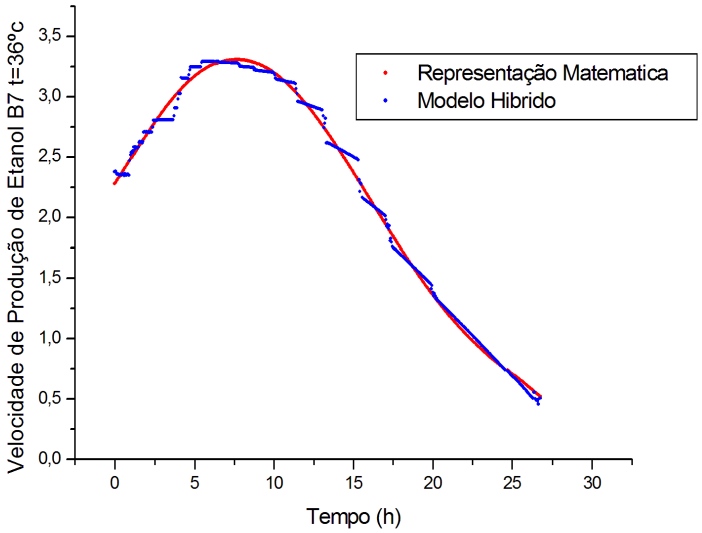


Figura 25. Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B7 Sem Reciclo de Células, T = 36ºC

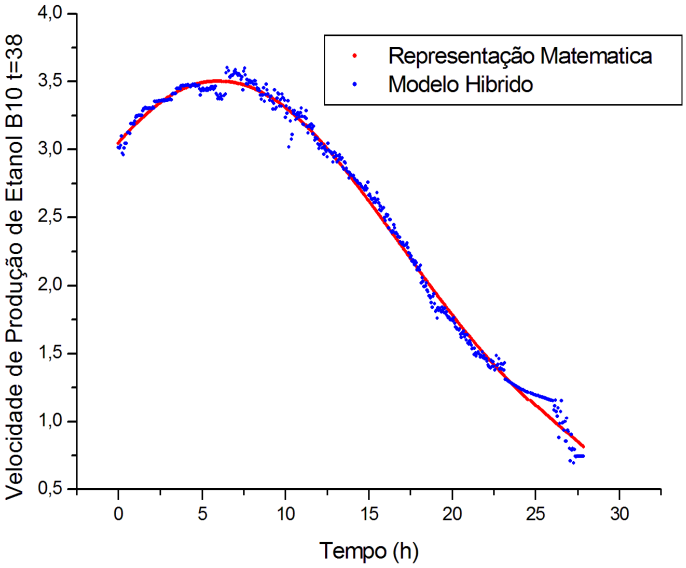


Figura 26. Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B9 Sem Reciclo de Células, T = 38ºC

As figuras 22 a 26 representam os resultados obtidos na implementação do modelo híbrido neural de etanol sem reciclo para cada uma das bateladas junto com os valores da representação matemática para podermos observar de forma gráfica o comportamento.

A partir das figuras e fazer uma comparação com as tendências se pode afirmar que o perfil do comportamento da rede neural com 10 neurônios empregados na camada intermediaria com os valores de EQM = 0,0039, um DPR = 3,7057 e um valor R = 0,9976, foi o perfil esperado devido a que os pontos inferidos pelo modelo híbrido acompanha a linha dos dados da representação matemática, concluindo-se que o modelo pode fazer predições da cinética da produção de etanol com exatidão.

Modelo Híbrido de Etanol Com Reciclo de Células

Na tabela 10 são mostrados os dados de predição da rede neural para a taxa de etanol com reciclo de células. A rede com um melhor desempenho foi a que empregou 12 neurônios (EQM = 0,00628293, DPR= 3,47 e R de 0,996) como é apresentado na figura 27. A rede neural selecionada para a predição da taxa de produção de etanol esta mostrada na figura 28. Na Tabela **13**. Parâmetros Otimizados (pesos e bias) do Modelo Neural.tabela 11 estão apresentados os valores dos pesos e bias.

Tabela 10. Teste Feito na Rede Neural de Etanol

Neurônios na camada Oculta	EQM	R	DPR
2	0,14664933	0,63951097	17,0735744
3	0,0761119	0,957195	12,6352499
5	0,03249037	0,98162967	8,19803869
7	0,00977659	0,97643233	4,45535394
9	0,00920133	0,995063	4,15970928
12 ***(Melh-Desp)**	0,00628293	0,99623667	3,47874221
14	0,00702807	0,99629067	3,71100406

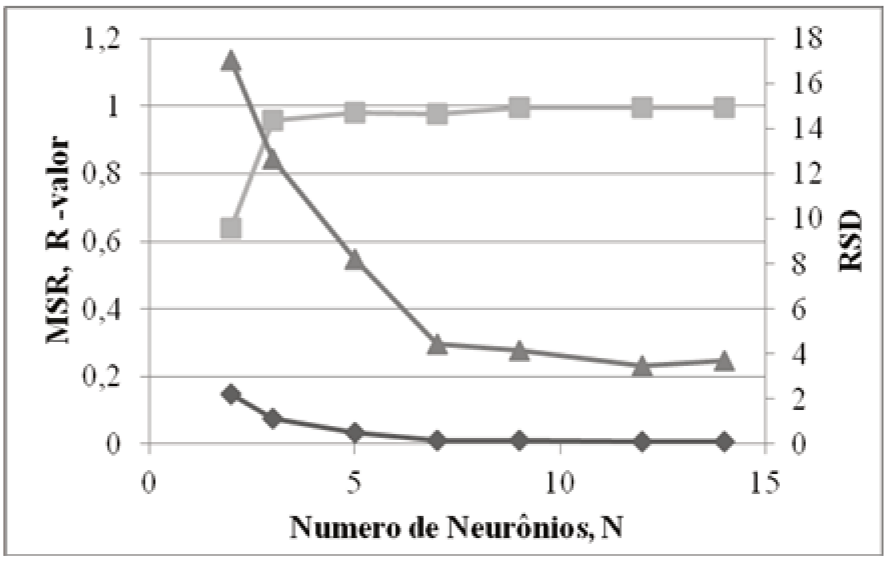


Figura 27. Resultados dos Critérios de Qualidade de Predição da Rede Neural de Etanol com Reciclo. Os critérios são para o valor R, R(■), Desvio Padrão Residual, DPR (▲), Erro Quadrático Médio, EQM (♦).

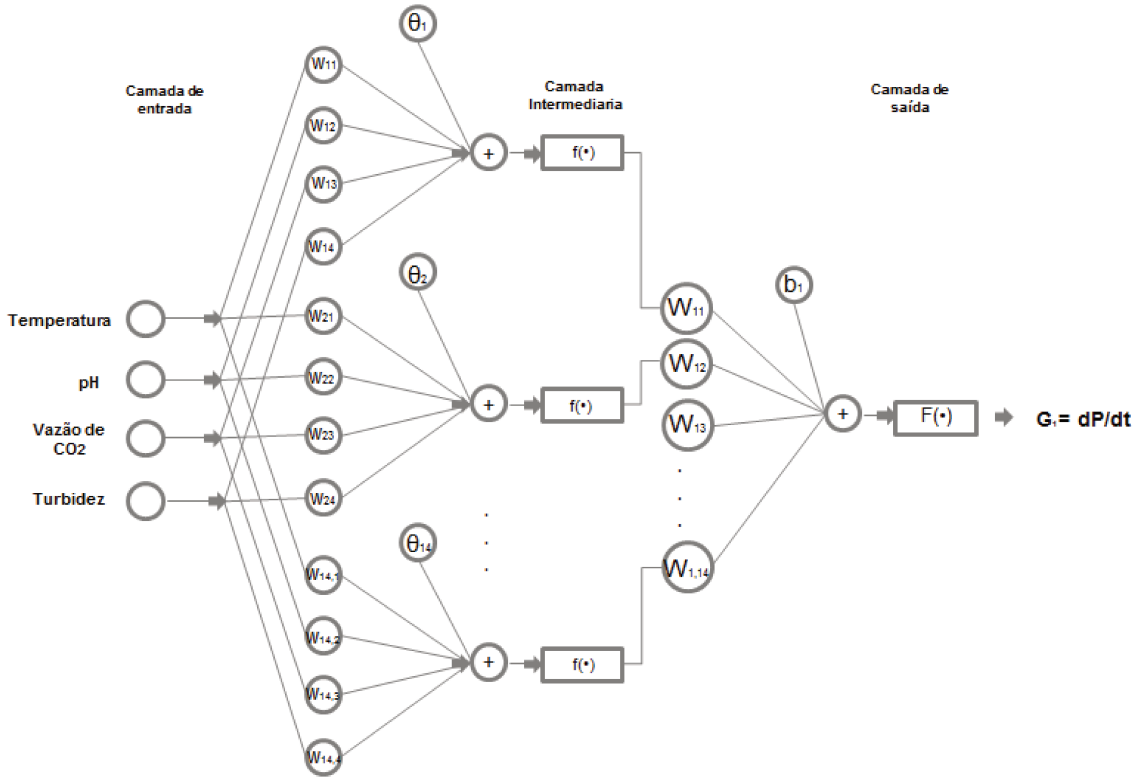


Figura 28. Rede Neural Usada para Predizer a Taxa de Etanol Com Reciclo.

Tabela 11. Parâmetros Otimizados (pesos e bias) do Modelo Neural.

Parâmetros otimizados (pesos e bias) do Modelo Neural							
	Parâmetros de ligação de entrada e neurónios da camada interna					Parâmetros de ligação de neurônios da camada interna e neurônio de saída	
	w_{j1}	w_{j2}	w_{j3}	w_{j4}	θ_j	W_{1j}	b_1
j=1	-9,335	2,98	-2,404	10,34	13,613	6,63	0,451
j=2	-10,157	0,997	0,313	-6,088	4,783	-12,162	
j=3	-3,023	-2,709	-0,2836	4,352	6,665	-11,062	
j=4	2,8453	2,6429	-2,721	0,4542	-2,833	-7,917	
j=5	-7,973	-4,109	21,262	3,183	6,671	-0,621	
j=6	4,984	-3,044	-1,02	0,245	0,949	2,902	
j=7	-0,367	-6,545	3,193	0,405	-2,344	0,384	
j=8	0,689	-0,194	7,124	0,878	4,134	3,201	
j=9	0,082	-3,122	-0,243	6,351	8,815	8,181	
j=10	0,045	-0,207	5,737	0,632	2,667	-4,087	
j=11	-2,11	2,167	0,919	-0,148	0,045	4,082	

A equação 24 é a rede em termos matemáticos, ao substituir os pesos e as bias da tabela 11. A equação da rede com melhor desempenho é determinada para inferir os valores das velocidades de produção de etanol. Por tanto se faz uso da equação 24 igualando-se a equação de balanço de massa (equação 18), obtendo-se o modelo híbrido neural apresentado na equação 25.

(24)

$$g_1 = F\left(\sum_{j=1}^{M} W_{kj} f\left(\sum_{I=1}^{N} w_{ji} x_i + \theta_j\right) + b_k\right) = \frac{dP}{dt} = V_p = r_p$$

(25)

$$r_p = F\left(\sum_{j=1}^{M} W_{kj} f\left(\sum_{I=1}^{N} w_{ji} x_i + \theta_j\right) + b_k\right)$$

Nas figuras 29 a 33, mostram os perfis obtidos pelo modelo hibrido neural comparado com a representação matemática como descrita na seção 4.1.

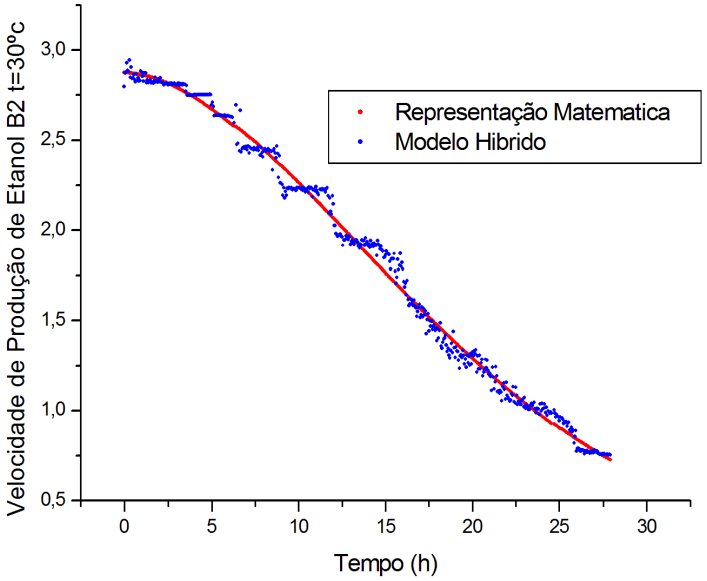


Figura 29. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B2 com Reciclo de Células, T = 30ºC.

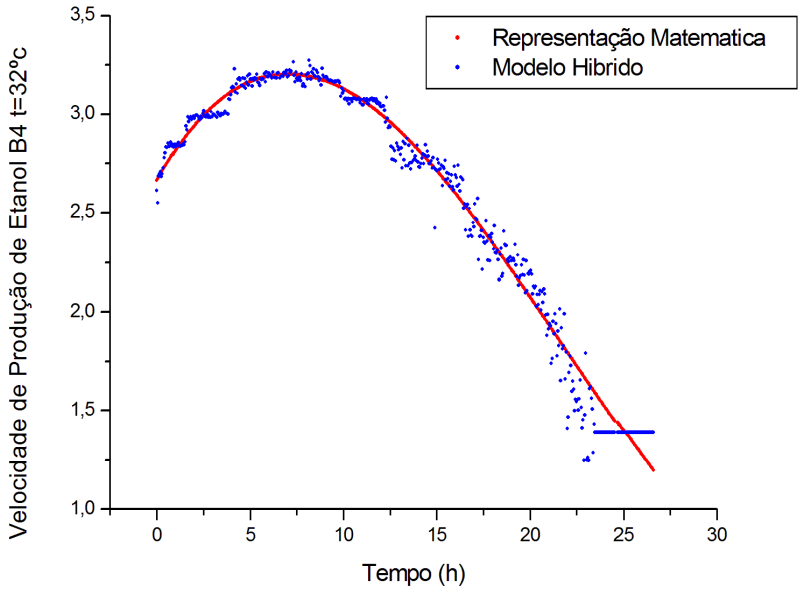


Figura 30. Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B4 com Reciclo de Células, T = 32ºC

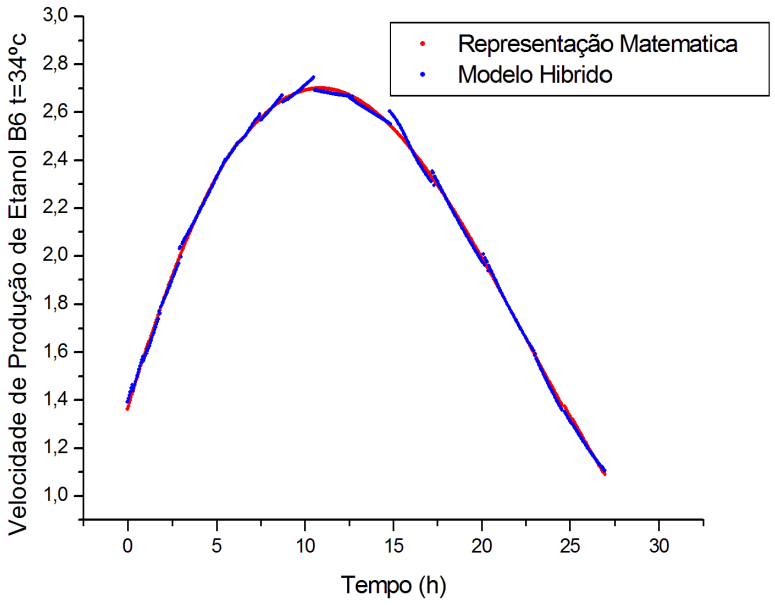


Figura 31. Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B6 com Reciclo de Células, T = 34ºC

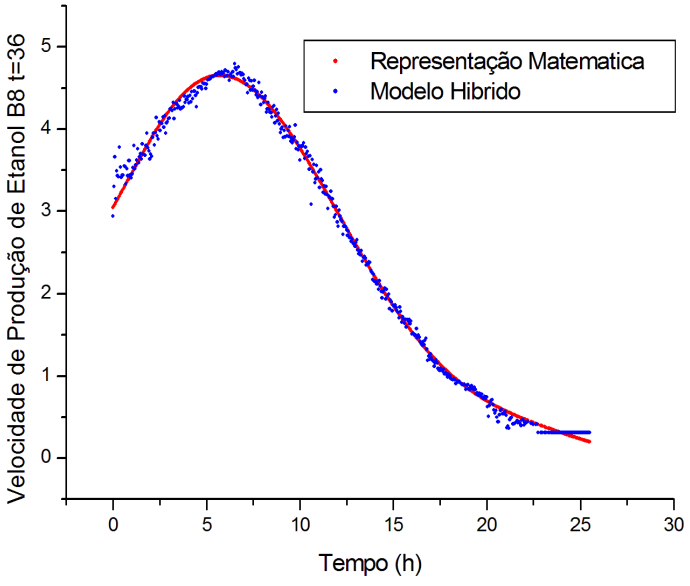


Figura 32. Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B8 com Reciclo de Células, T = 36ºC

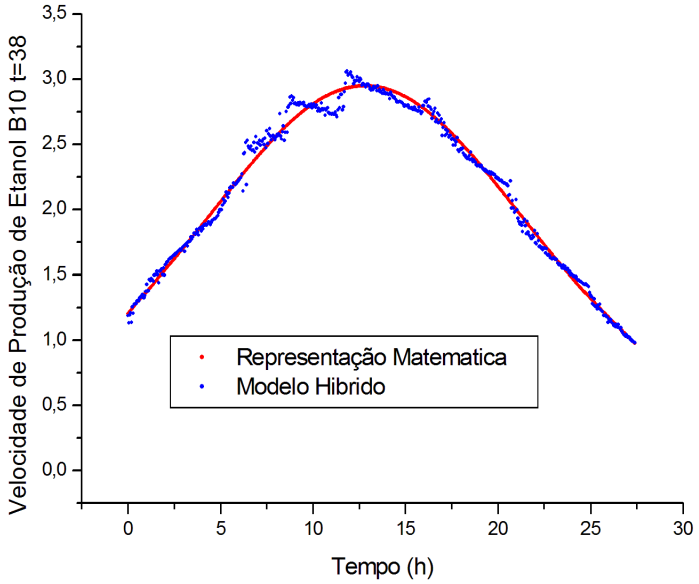


Figura 33. Perfil de Velocidade de Produção de Etanol B10 com Reciclo de Células, T = 38ºC

Nas figuras 29 a 33 representam os resultados obtidos na implementação do modelo híbrido neural de etanol com reciclo para cada uma das bateladas e os valores da representação matemática onde se observa de forma gráfica o comportamento.

A partir das figuras e se realizar uma comparação com as tendências se afirma que o perfil do comportamento da rede neural com 12 neurônios na camada intermediaria com EQM = 0,0628293 , um DPR = 3,47 e o valor R = 0,996, foi o perfil esperado devido a que os pontos inferidos pelo modelo híbrido acompanham a linha dos dados da representação matemática, concluindo-se que o modelo pode fazer predições da cinética da produção de etanol.

Fazendo uma comparação entre os dois modelos híbridos de etanol com e sem reciclo, se observa: na primeira rede são empregados na camada intermediaria 10 neurônios para os dados de batelada sem reciclo e 12 neurônios para batelada

com reciclo. A partir dessa informação se sabe que o modelo para bateladas com reciclo é mais complexo, já que tem mais dois neurônios que o modelo híbrido de etanol sem reciclo, em consequência aumenta em 12 pesos a equação para serem treinados, validados e testados. Assim é preciso uma maior capacidade computacional, pois é mais complexa a matemática do modelo a resolver.

Embora, O modelo híbrido de etanol sem reciclo com uma menor quantidade de neurônios atingem valores de EQM, DPR e R muito bons similares ao outro modelo, para alguns casos a qualidade das predições dos modelos não varia quando a diferença entre neurônios não é muita. Então também poucos neurônios podem fazer o mesmo trabalho que muitos. Por isso é importante fazer testes de sensibilidade na quantidade de neurônios para evitar o *overfit.*

4.3.2. Resultados dos Modelos Híbridos Neurais de ART (Substrato)

O modelo baseado na rede neural foi aprimorado escolhendo a melhor arquitetura da rede considerando o número de neurônios da camada intermediária, avaliando-se a qualidade das predições para o conjunto de dados do mesmo jeito que os modelos híbridos anteriores (Modelo híbrido de etanol). Esse trabalho foi feito por meio da avaliação do erro quadrático médio EQM, do valor de R e pelo DPR (Desvio Padrão Residual, gerado em %).

Modelo Híbrido de ART Sem Reciclo de Células

Na tabela 12 estão os dados dos testes realizados para a rede neural de predição da taxa de substrato. A rede com um melhor desempenho foi a que empregou 14 neurônios (EQM = 0,226 e o DPR= 8,7224 com o valor de R de 0,974 é dos mais próximos a 1), como pode ser observado na figura 34. A rede neural selecionada para a predição da taxa de consumo de substrato está mostrada na figura 35.

Tabela 12. Teste Feito na Rede Neural de ART.

Neurônios na camada Oculta	EQM	R	DPR %
3	0,518166667	0,90546667	30,552746
5	0,7263	0,91333333	30,552746
6	0,653566667	0,92036667	13,9205575
8	0,530366667	0,9386	13,8938193
10	0,354733333	0,96069667	9,64613571
12	0,354733333	0,96069667	9,00742475
14 **(Melh-Des)**	0,226	0,97433333	8,72241477
16	0,299	0,96736333	9,44850094

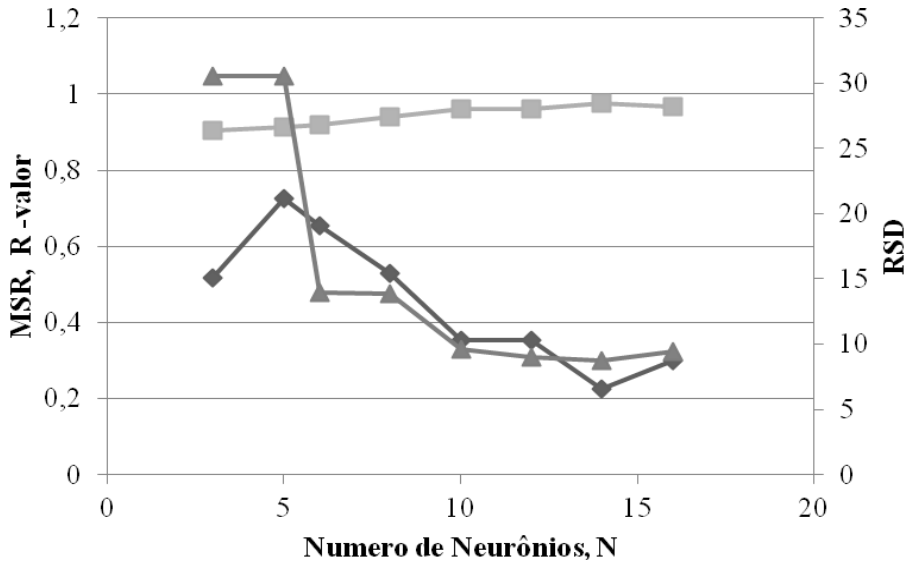


Figura 34. Resultados dos Critérios de Qualidade de Predição da Rede Neural dos ART. Os critérios são para o valor R, R(■), desvio padrão residual, DPR (▲), Erro quadrático médio, EQM (♦).

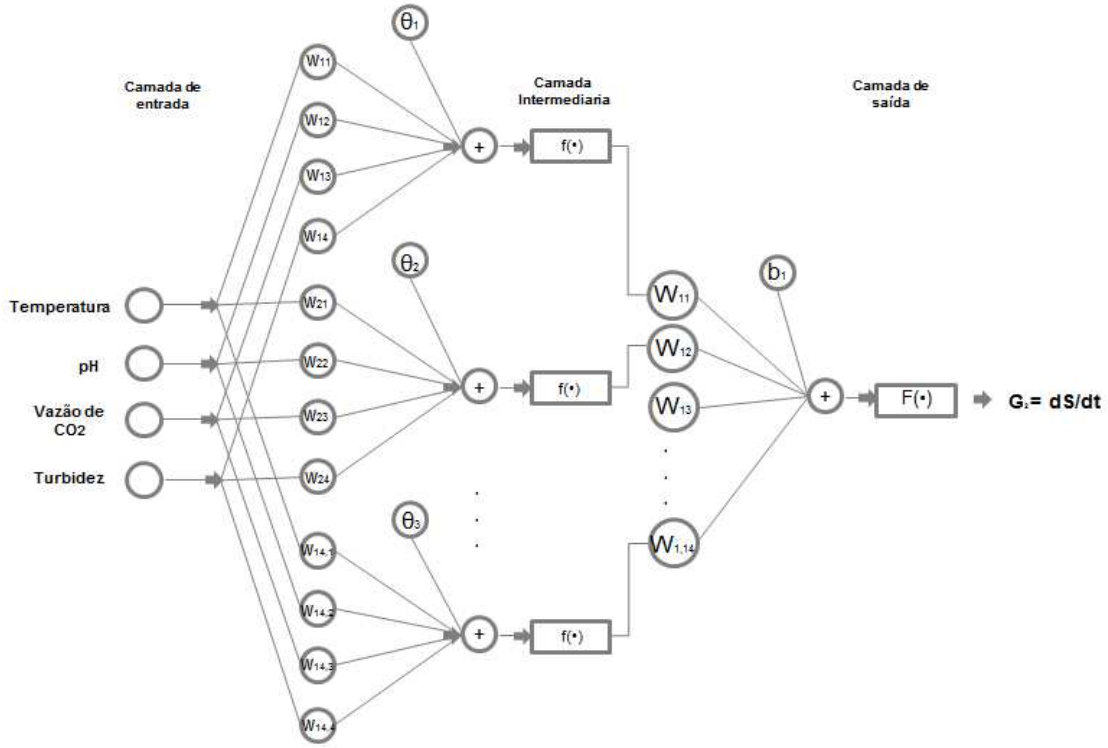


Figura 35. Ótima rede neural usada para predizer a taxa de ART (açucares redutores totais).

Tabela 13. Parâmetros Otimizados (pesos e bias) do Modelo Neural.

Parâmetros otimizados (pesos e bias) do Modelo Neural							
	Parâmetros de ligação de entrada e neurónios da camada interna					Parâmetros de ligação de neurônios da camada interna e neurônio de saída	
	w_{j1}	w_{j2}	w_{j3}	w_{j4}	θ_j	W_{1j}	b_1
j=1	8,498	3,979	0,318	4,734	-5,084	-2,094	8,021
j=2	1,21	-1,425	5,034	3,832	4,09	7,22	
j=3	-5,963	4,118	1,567	-0,015	3,748	4,092	
j=4	1,5879	-7,0143	0,2111	-0,2119	2,549	-0,108	
j=5	6,153	-6,47	2,376	2,886	-5,532	25,449	
j=6	4,936	-4,363	-0,658	5,947	1,533	13,15	
j=7	0,734	0,71	-0,795	-3,897	-1,164	-8,296	
j=8	-1,595	-0,584	2,912	-2,893	1,067	-9,173	
j=9	-3,93	1,427	-4,949	2,657	-0,298	6,494	
j=10	0,057	0,313	0,019	0,545	-1,009	-7,77	
j=11	-7,215	-2,925	-3,378	-3,507	6,39	-2,06	
j=12	2,764	3,746	3,808	1,31	3,178	1,605	
j=13	5,99	-6,153	1,735	3,673	2,897	-34,189	
j=14	1,536	2,218	-3,31	-1,601	-0,709	0,598	

A figura 35 representa a rede neural otimizada, mostrando todas as conexões, pesos e bias, com os valores dos pesos e bias apresentados na tabela 13.

Seguindo o mesmo procedimento descrito para a obtenção das equações (24) e (25), define-se agora a equação da rede com melhor desempenho para inferir os valores das velocidades de consumo de substrato. A equação 26 é igualada à equação de balanço de massa (equação 17), levando à obtenção do modelo hibrido neural, equação 27.

(26)

$$g_2 = F\left(\sum_{j=1}^{M} W_{kj} f\left(\sum_{I=1}^{N} w_{ji} x_i + \theta_j\right) + b_k\right) = \frac{dS}{dt} = V_s = r_s$$

$$r_s = F\left(\sum_{j=1}^{M} W_{kj} f\left(\sum_{I=1}^{N} w_{ji} x_i + \theta_j\right) + b_k\right) \quad (27)$$

Nas figuras 36 a 40, podem se observar os perfis obtidos pelo modelo hibrido neural comparado com a representação matemática. Os dados gerados da representação matemática foram apresentados na seção 4.1.

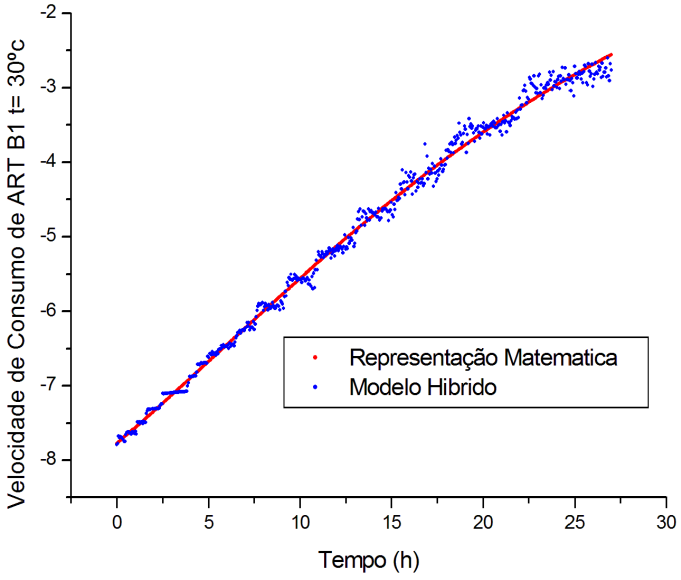


Figura 36. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B1 Sem Reciclo de Células, T = 30ºC

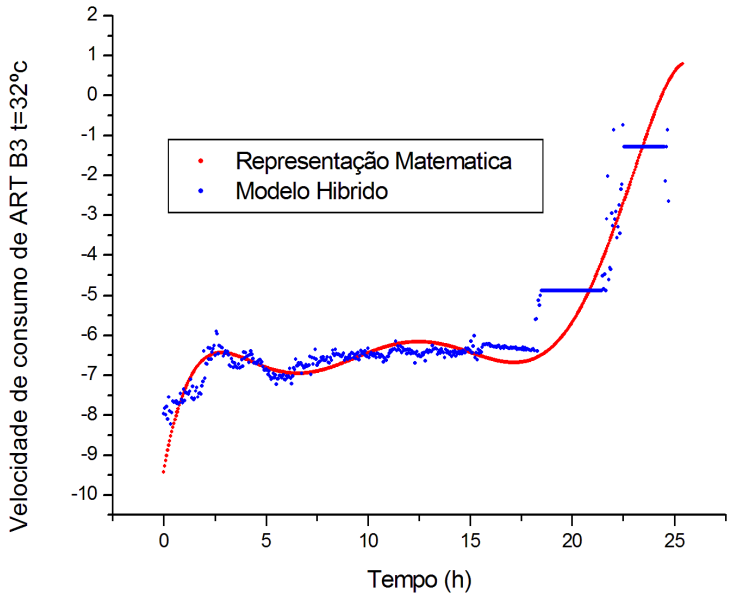


Figura 37. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B3 Sem Reciclo de Células, T = 32ºC

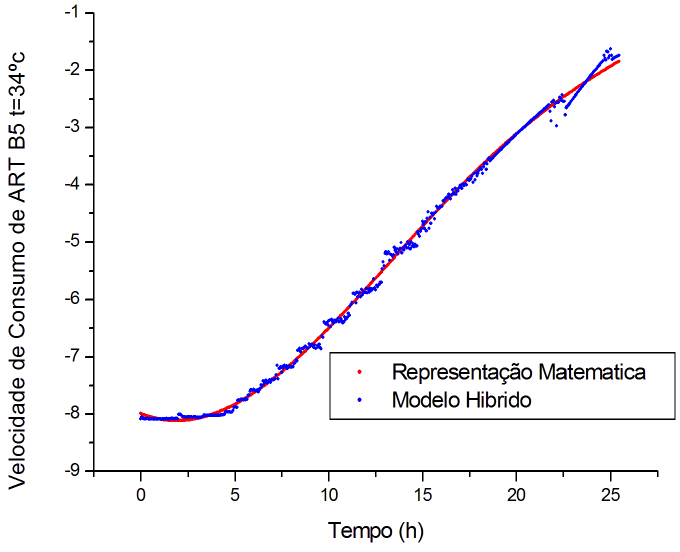


Figura 38. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B3 Sem Reciclo de Células, T = 34ºC

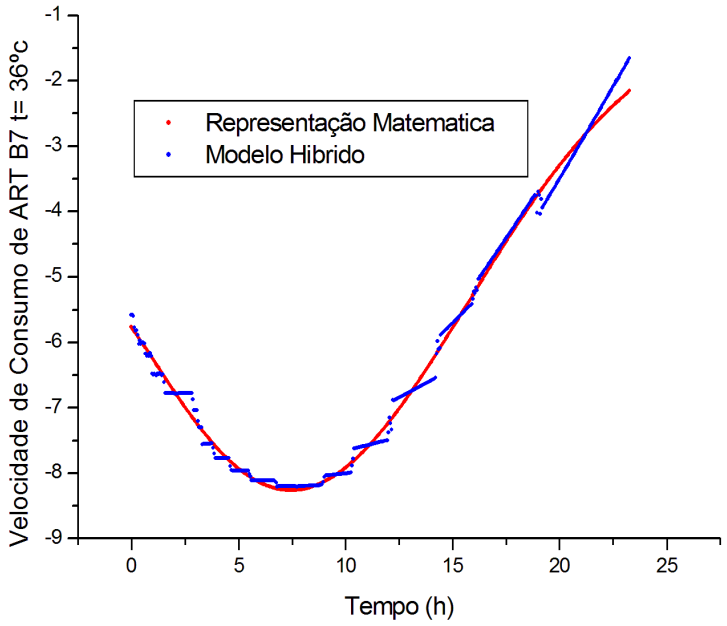


Figura 39. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B7 Sem Reciclo de Células, T = 36ºC

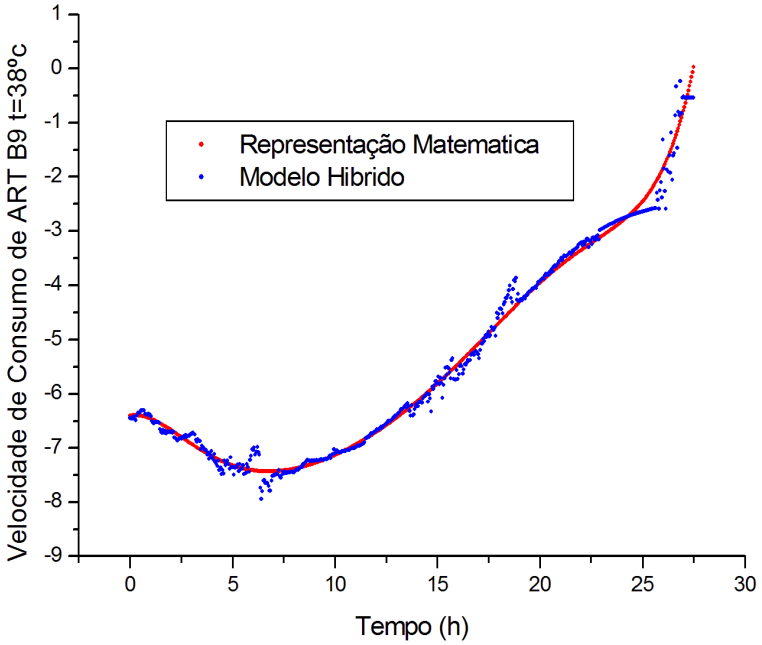


Figura 40. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B9 Sem Reciclo de Células, T = 38ºC

As figuras 36 a 40 representam os resultados obtidos na implementação do modelo híbrido neural de ART sem reciclo e os valores da representação matemática.

A partir das figuras e comparar com as tendências se pode afirmar que o perfil do comportamento da rede neural que emprega 14 neurônios na camada interna e apresentando um EQM = 0,226, um DPR = 8,7224 e o valor R = 0,974, foi o perfil esperado pois os pontos inferidos pelo modelo híbrido acompanha a linha dos dados da representação matemática. Assim se conclui que o modelo pode fazer predições da cinética do consumo do ART sem reciclo com exatidão.

Modelo Híbrido de ART com Reciclo de Células

Na tabela 14 estão os dados dos testes feitos para a rede neural de predição da taxa de substrato. A rede com um melhor desempenho foi a que empregou 17 neurônios, já que esta configuração propiciou o EQM de 0,042, e o DPR = 5,062 que foram os menores valores da avaliação. O valor de R é 0,993, o mais próximo de 1 que foi encontrado, como pode ser observado na figura 41 e a rede neural selecionada para a predição da taxa de consumo de substrato está mostrada na figura 42.

Tabela 14 Teste Feito na Rede Neural de ART

Neurônios da camada Oculta	EQM	R	DPR
2	1,375	3,102	26,209
3	0,691	0,884	27,707
5	0,197	0,970	9,569
7	0,072	0,988	6,081
9	0,062	0,986	6,974
11	0,047	0,993	5,353
13	0,067	0,989	5,317
15	0,046	0,993	5,175
17 **(Melh-Desp)**	0,042	0,993	5,062
19	0,040	0,991	5,398

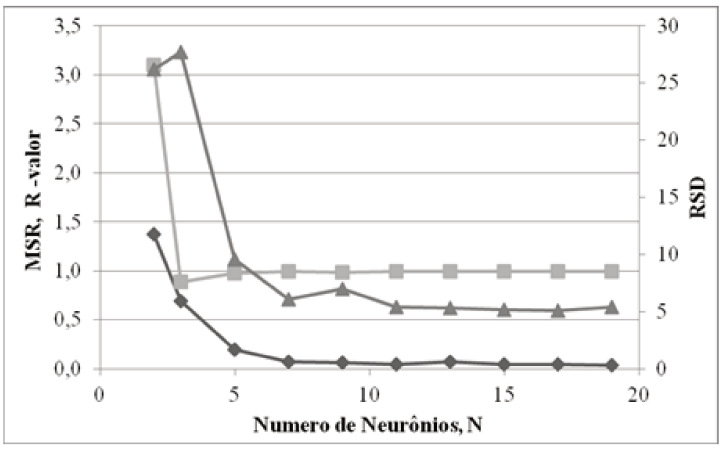


Figura 41 Resultados dos Critérios de Qualidade de Predição da Rede Neural dos ART. Os Critérios São Para o Valor R, R(■), Desvio Padrão Residual, DPR (▲), Erro Quadrático Médio, EQM (♦).

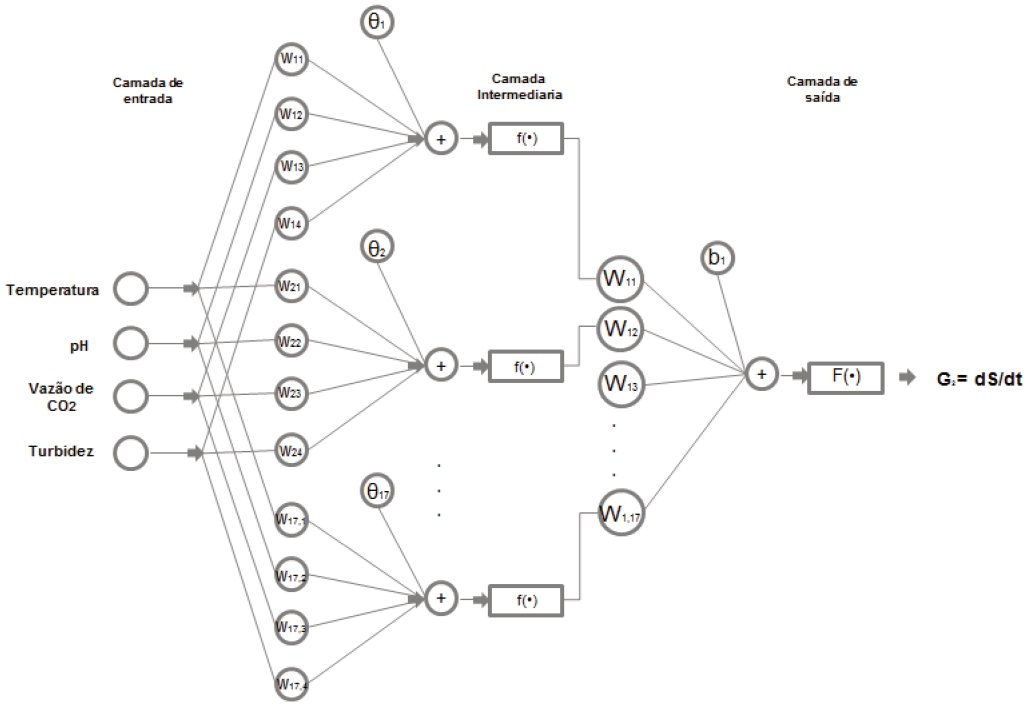


Figura 42 Ótima Rede Neural Usada Para Predizer a Taxa de ART.

Tabela 15. Parâmetros Otimizados (pesos e bias) do Modelo Neural.

Parâmetros otimizados (pesos e bias) do Modelo Neural							
	Parâmetros de ligação de entrada e neurónios da camada interna					Parâmetros de ligação de neurônios da camada interna e neurônio de saída	
	w_{j1}	w_{j2}	w_{j3}	w_{j4}	θ_j	W_{1j}	b_1
j=1	-11,997	0,964	14,580	9,414	22,140	-10,676	1,299
j=2	1,462	-1,406	0,805	1,384	-3,103	2,449	
j=3	12,936	-7,325	-28,6953	-3,631	-5,495	-5,401	
j=4	11,8126	-1,4801	-15,937	0,1098	-12,867	-8,514	
j=5	-4,574	1,457	-5,144	-2,516	3,8212	-4,915	
j=6	3,281	-2,942	0,306	0,127	0,952	7,058	
j=7	1,815	5,647	2,068	-0,219	-1,832	-0,565	
j=8	1,759	-2,430	0,743	0,180	0,444	-5,992	
j=9	-9,138	4,207	3,660	-0,341	-1,881	-6,949	
j=10	-0,336	1,564	3,4856	-6,458	-6,282	4,590	
j=11	2,8430	-4,6063	0,765	-0,1979	1,445	-1,273	
j=12	-0,542	0,870	1,952	0,118	-0,2262	-6,478	
j=13	4,708	4,913	1,067	-0,438	6,333	-1,214	
j=14	1,462	1,342	-3,323	0,606	1,744	-2,514	
j=15	4,656	0,790	-4,5319	1,984	4,0159	1,282	
j=16	-6,4070	2,3032	1,875	-0,0300	-1,254	5,268	
j=17	-1,753	1,121	0,913	1,510	-3,470	-3,126	

A figura 42 representa a rede neural otimizada, mostrando todas as conexões, pesos e bias, na tabela 15 estão apresentado os valores dos pesos e bias, A equação 29 é a rede em termos matemáticos, ao substituir os pesos e as bias da tabela 15. A equação do modelo híbrido neural é dada pela equação 29 que é obtida pela igualdade da equação 28 a equação de balanço de massa (equação 17). A equação 29 é o modelo hibrido neural, a qual junta o a rede neural e o balanço de massa.

(28)

$$g_2 = F\left(\sum_{j=1}^{M} W_{kj} f\left(\sum_{I=1}^{N} w_{ji} x_i + \theta_j\right) + b_k\right) = \frac{dS}{dt} = V_s = r_s$$

(29)

$$r_s = F\left(\sum_{j=1}^{M} W_{kj} f\left(\sum_{I=1}^{N} w_{ji} x_i + \theta_j\right) + b_k\right)$$

As figuras 43 a 47 amostram os perfis obtidos pelo modelo hibrido neural comparado com a representação matemática. Os dados gerados da representação matemática foram apresentados na seção 4.1.

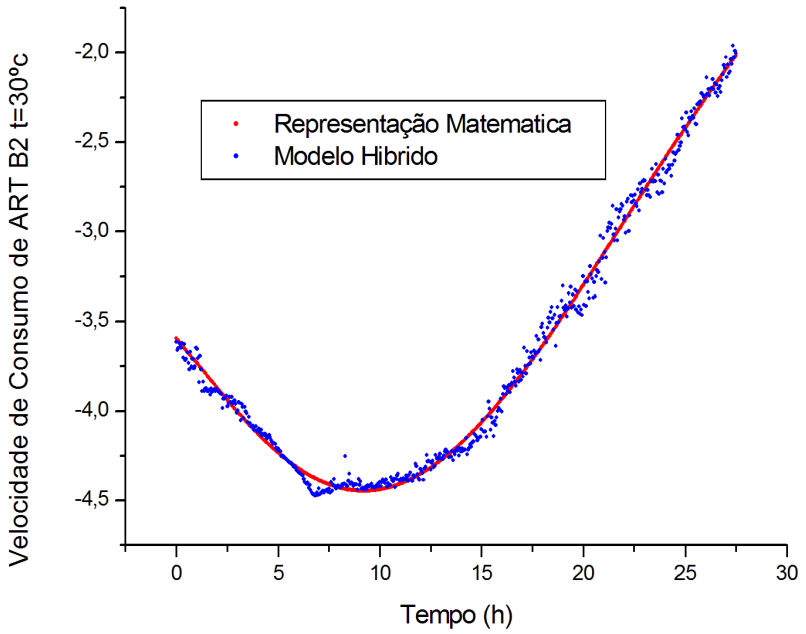


Figura 43. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B2 Com Reciclo de Células, T = 30ºC

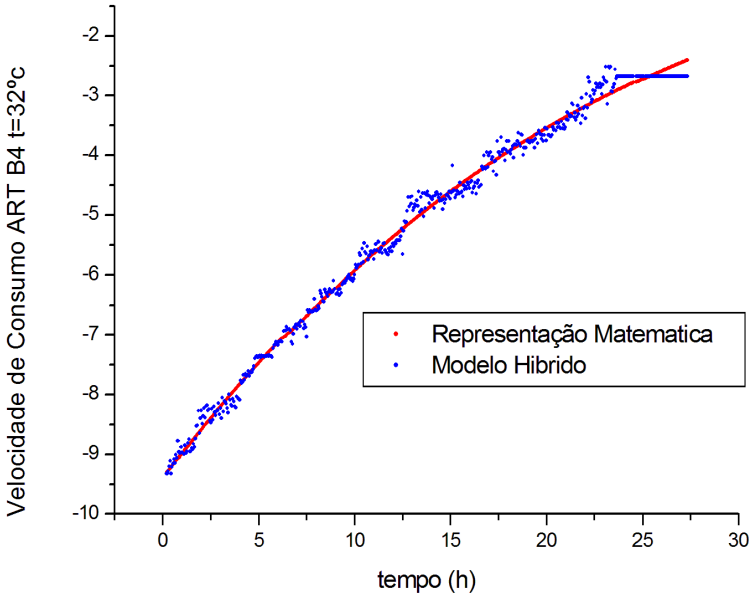


Figura 44. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B4 Com Reciclo de Células, T = 32ºC

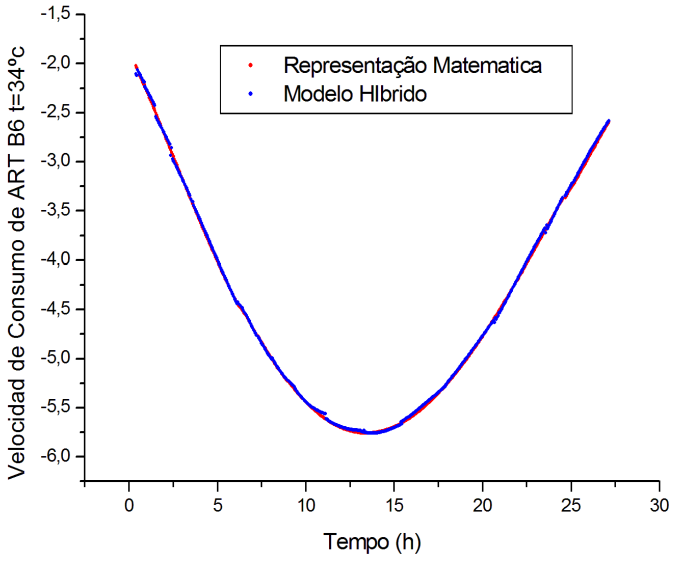


Figura 45. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B6 Com Reciclo de Células, T = 34ºC

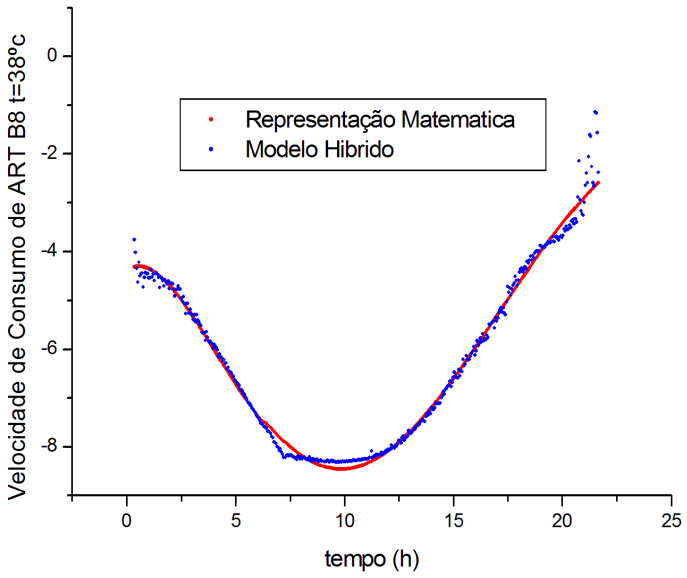


Figura 46. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B8 Com Reciclo de Células, T = 36ºC

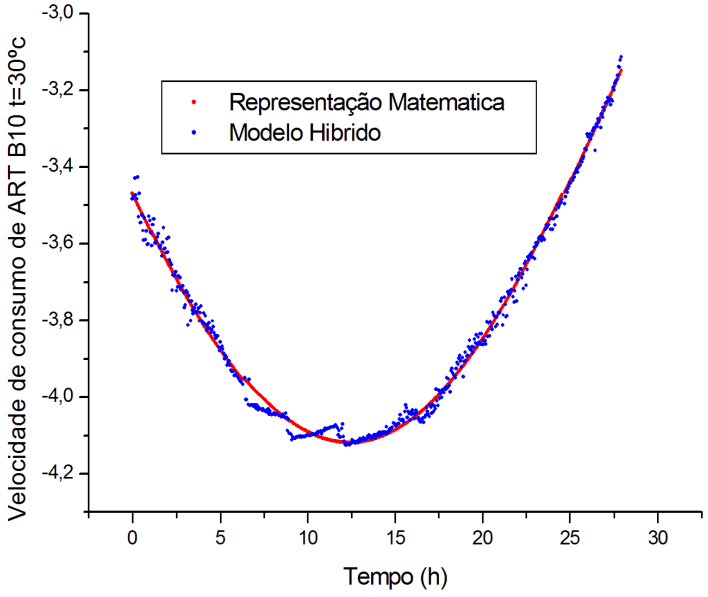


Figura 47. Perfil de Velocidade de Consumo de ART B10 Com Reciclo de Células T = 38ºC

Nas figuras anteriores 43 a 47 representam os resultados obtidos na implementação do modelo híbrido neural de ART com reciclo e os valores da representação matemática para podermos observar de forma gráfica o comportamento.

A partir dessas figuras se realizou uma comparação com as tendências do qual se pode afirmar que o perfil do comportamento da rede neural que emprega na camada intermediaria 17 neurônios e com uns critérios de avaliação de EQM = 0,042, DPR = 5,062 e um valor R = 0,993, foram os perfis esperados. Os pontos inferidos pelo modelo híbrido acompanham a linha dos dados da representação matemática, concluindo-se que o modelo pode fazer boas predições da cinética da produção do consumo do ART sem reciclo.

Nos dois modelos híbridos de ART (substrato) com e sem reciclo se pode afirmar que na primeira rede são empregados na camada intermediária 14 neurônios para os dados de batelada sem reciclo e 17 neurônios para batelada com reciclo. Portanto, se sabe que o modelo para bateladas com reciclo é mais complexo, já que tem mais três neurônios que o modelo híbrido de ART sem reciclo, assim aumenta em 18 pesos a equação para serem treinados, validados e testados. Por esse motivo é preciso uma maior capacidade computacional, pois é mais complexa a matemática do modelo a resolver.

O modelo híbrido de ART com reciclo atingem valores de EQM, DPR e R melhores do outro modelo, o qual amostra a maior quantidade de neurônios melhor é o ajuste aos dados experimentais.

4.3.3. Resultados dos Modelos Híbridos Neurais de Crescimento Celular.

O modelo baseado foi aprimorado pela escolha dos números de neurônios na camada intermediaria. Obtendo-se a melhor rede neural pelas qualidades das predições para o conjunto de dados de crescimento celular. O trabalho foi feito por meio dos critérios de avaliação, do erro quadrático médio EQM do valor de R e pelo DPR (Desvio Padrão Residual, gerado em %).

Modelo Híbrido de Crescimento Celular sem Reciclo de Células

Na tabela 16**Tabela 16** estão os dados dos testes feitos para a rede neural de predição da taxa de células. A rede com um melhor desempenho foi a que empregou 18 neurônios, que propiciou o EQM de 0,0000284, o DPR de 3,64 e o valor R é 0,998. A figura 48 mostra estes critérios de qualidade para definição da rede e a rede neural selecionada para a predição da taxa de crescimento celular esta apresentada na figura 49.

Tabela 16. Teste Feito na Rede Neural de Células

Neurônios na camada Oculta	EQM	R	DPR
3	0,000536	0,97332067	16,1539979
5	0,00033867	0,98346667	14,9304593
6	0,000099	0,99506933	7,09655144
8	0,00010827	0,9942	7,22059704
10	0,0000963	0,9953	6,56825904
12	0,00023627	0,997	5,3435483
14	4,71E-05	0,997	4,84722034
16	0,0000306	0,998	3,741234
18**(Melh-Des)**	0,0000284	0,998	3,64005786
20	5,00E-05	0,997	4,88012772

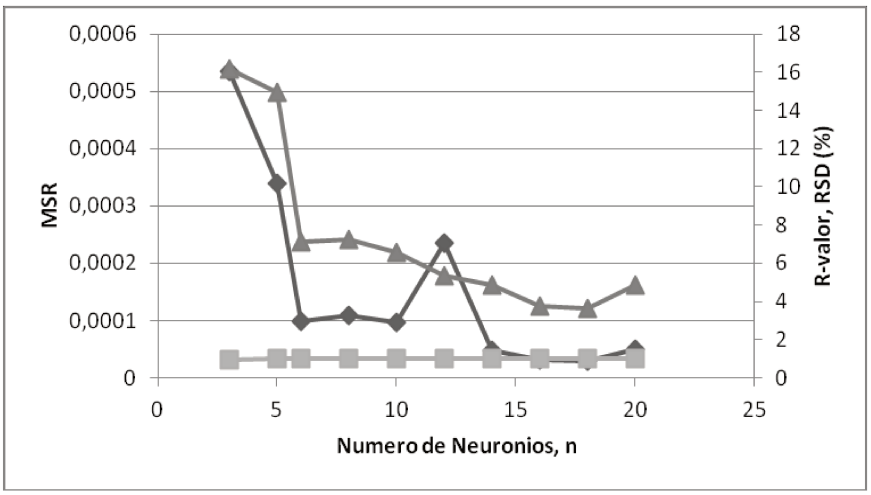


Figura 48. Resultados dos Critérios de Qualidade de Predição da Rede Neural das Células. Os Critérios São Para o Valor R, R(■), Desvio Padrão Residual, DPR (▲), Erro Quadrático Médio, EQM (♦).

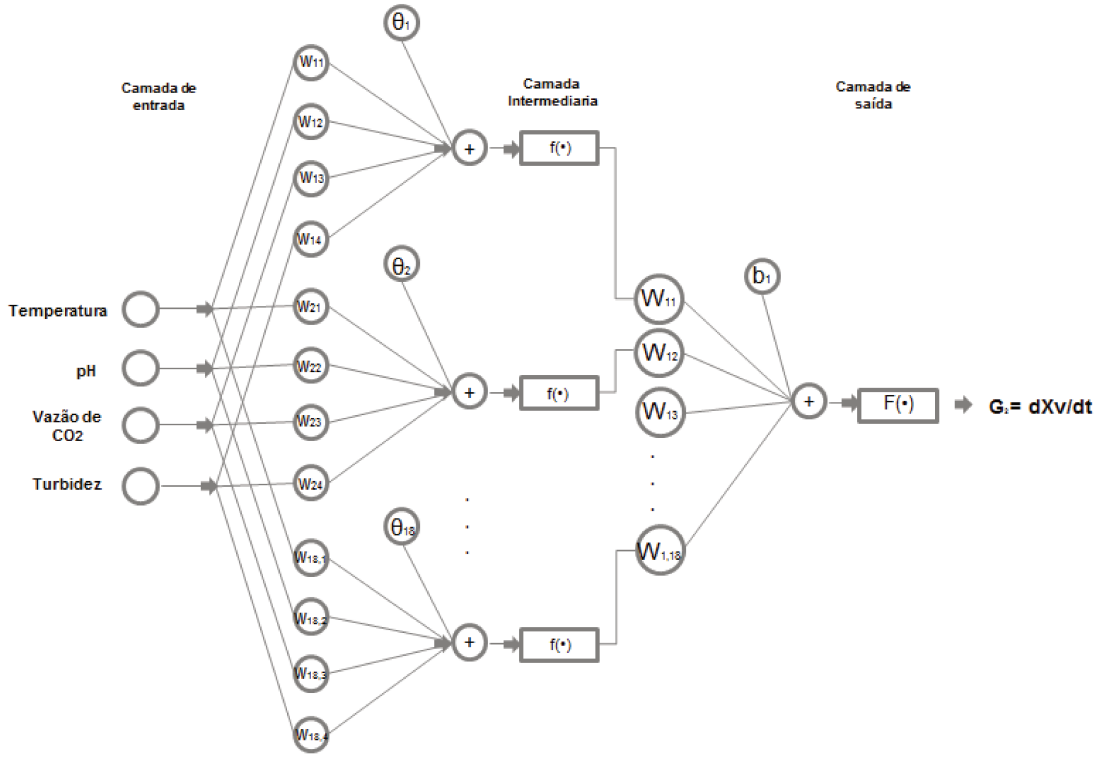


Figura 49. Ótima Rede Neural Usada Para Predizer a Taxa das Células.

Tabela 17. Parâmetros Otimizados (pesos e bias) do Modelo Neural.

Parâmetros Otimizados (pesos e bias) do Modelo Neural							
	Parâmetros de ligação de entrada e neurónios da camada interna					Parâmetros de ligação de neurônios da camada interna e neurônio de saída	
	wj1	wj2	wj3	wj4	θj	W1j	b1
j=1	0,386	3,444	0,898	2,032	3,992	-2,924	-6,563
j=2	0,405	3,631	-8,253	8,114	15,012	13,018	
j=3	2,238	-3,998	0,963	1,844	-2,687	-1,709	
j=4	-0,0433	-1,8213	1,3852	-3,0907	1,155	2,818	
j=5	2,399	-2,166	1,405	1,335	-2,194	3,505	
j=6	0,376	-4,246	0,446	-3,159	-1,02	-1,969	
j=7	-3,191	4,477	-1,556	-2,045	1,369	1,471	
j=8	-0,457	-3,728	8,511	13,065	5,927	12,287	
j=9	0,876	-3,331	-1,657	-2,427	0,4	1,925	
j=10	-0,245	0,54	-1,65	2,417	-0,268	-2,866	
j=11	-3,148	-5,905	-1,142	-3,138	-4,317	-1,142	
j=12	-5,394	3,688	-0,289	-0,622	0,161	-4,429	
j=13	1,216	0,913	1,976	0,993	1,446	2,494	
j=14	1,804	3,837	1,458	3,634	2,619	-1,546	
j=15	-4,319	3,116	0,727	-1,979	-2,191	4,795	
j=16	0,626	-2,855	1,183	-1,819	2,345	-1,756	
j=17	-0,705	-0,956	-1,949	2,474	-2,141	-2,605	
j=18	3,745	-6,466	2,117	1,603	-4,125	-0,654	

A rede neural otimizada para predizer as células esta representada na figura 49, e na tabela 17estão apresentado os valores dos pesos e bias. A equação 30 é a rede em termos matemáticos, obtida ao substituir os pesos e as bias da tabela 17 para se determinar a equação da rede com melhor desempenho para inferir os valores das velocidades de crescimento de células. Faz se uso da equação 30 e iguala-se à equação de balanço de massa (equação 16) para estabelecer o modelo hibrido descrito pela equação 31.

(30)

$$g_3 = F\left(\sum_{j=1}^{M} W_{kj} f\left(\sum_{I=1}^{N} w_{ji} x_i + \theta_j\right) + b_k\right) = \frac{dXv}{dt} = V_v = r_v$$

$$r_v = F\left(\sum_{j=1}^{M} W_{kj} f\left(\sum_{I=1}^{N} w_{ji} x_i + \theta_j\right) + b_k\right) \quad (31)$$

A seguir estão as figuras 50 a 54 com os perfis obtidos pelo modelo hibrido neural comparado com a representação matemática. Os dados gerados da representação matemática foram apresentados na seção 4.1.

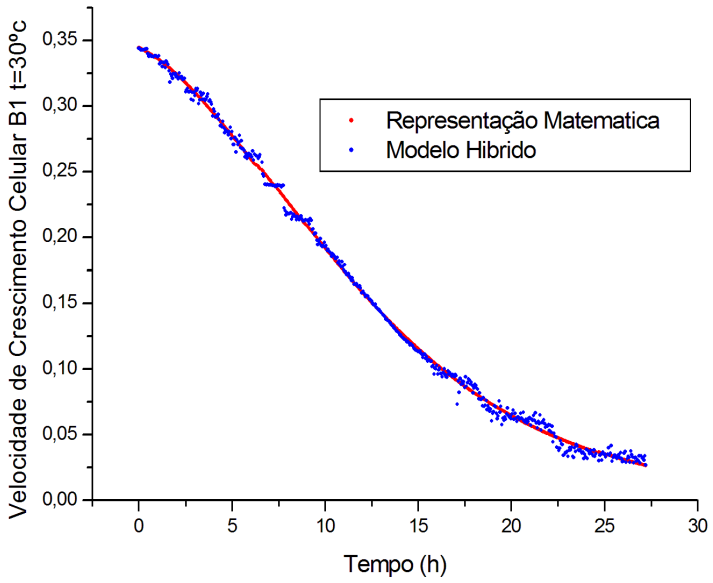


Figura 50. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B1 Sem Reciclo de Células, T = 30ºC

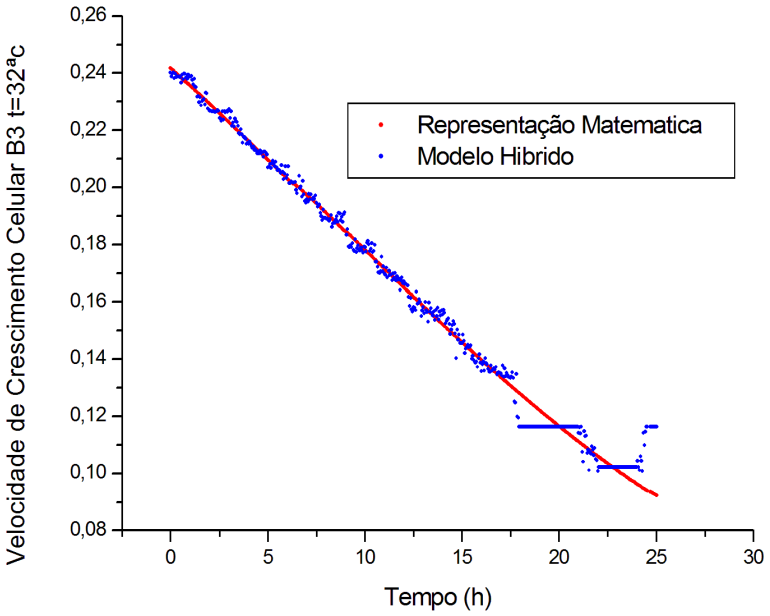


Figura 51. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B3 Sem Reciclo de Células, T = 32ºC

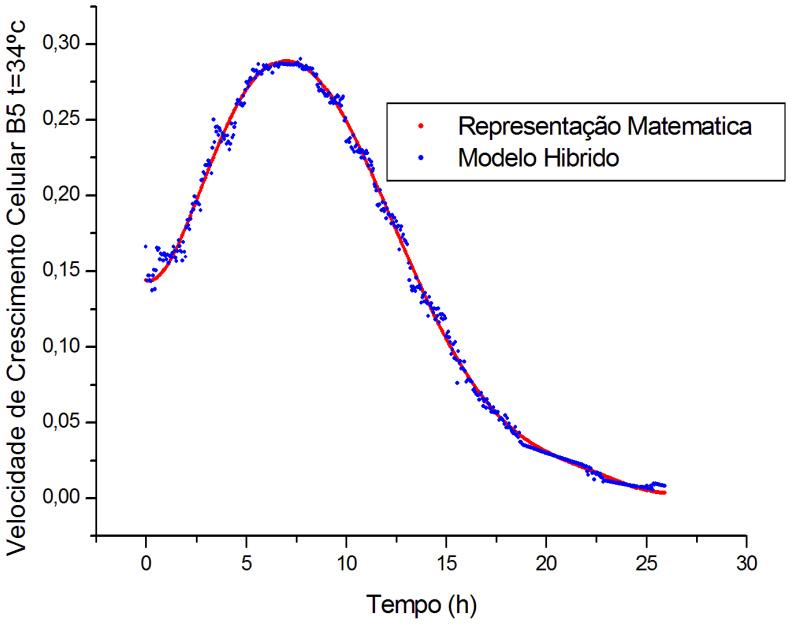


Figura 52. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B3 Sem Reciclo de Células, T = 34ºC

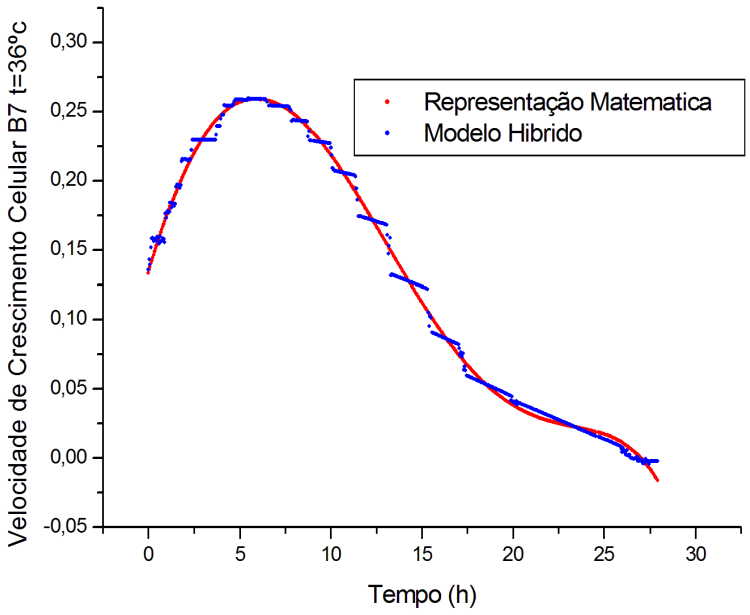


Figura 53. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B7 Sem Reciclo de Células, T = 36ºC

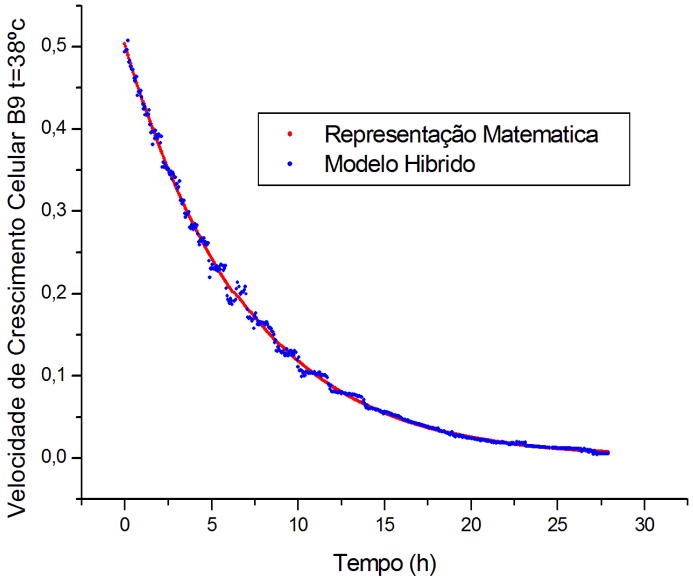


Figura 54. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B9 Sem Reciclo de Células, T = 38ºC

As figuras 50 a 54 representam os resultados obtidos na implementação do modelo híbrido neural de crescimento celular sem reciclo e os valores da representação matemática observando de uma forma gráfica o comportamento.

A partir das figuras se realizou um comparativo com as tendências do qual se pode afirmar que o perfil do comportamento da rede neural com 18 neurônios e uns critérios de avaliação de EQM = 0,0000284, DPR = 3,64 e de valor R = 0,998 na implementação, foi o perfil esperado dado que os pontos inferidos pelo modelo híbrido acompanha a linha dos dados da representação matemática, concluindo-se que o modelo pode fazer predições da cinética do crescimento celular sem reciclo.

Modelo Híbrido de Crescimento Celular com Reciclo de Células

Os dados dos testes realizados para a rede neural de predição da taxa de crescimento de células estão mostrados na tabela 18. A rede com um melhor desempenho foi a que empregou 13 neurônios, que levou ao valor de 0,0000581 para o EQM e de 4,403 para o DPR. O valor de R de 0,997, como pode se observar na figura 55. A rede neural selecionada para a predição da taxa de produção de etanol esta mostrada na figura 56.

Tabela 18. Teste Feito na Rede Neural de Células.

Neurônios na camada Oculta	MSE	R	DPR
2	0,0048417	0,758	43,058
3	0,0009463	0,959	18,642
5	0,0008733	0,958	18,183
7	0,0000951	0,995	6,029
9	0,0000627	0,997	4,822
11	0,0000506	0,998	4,661
13 **(Melh-Desp)**	0,0000581	0,997	4,403
15	0,0000606	0,997	4,678
17	0,0000569	0,997	4,556

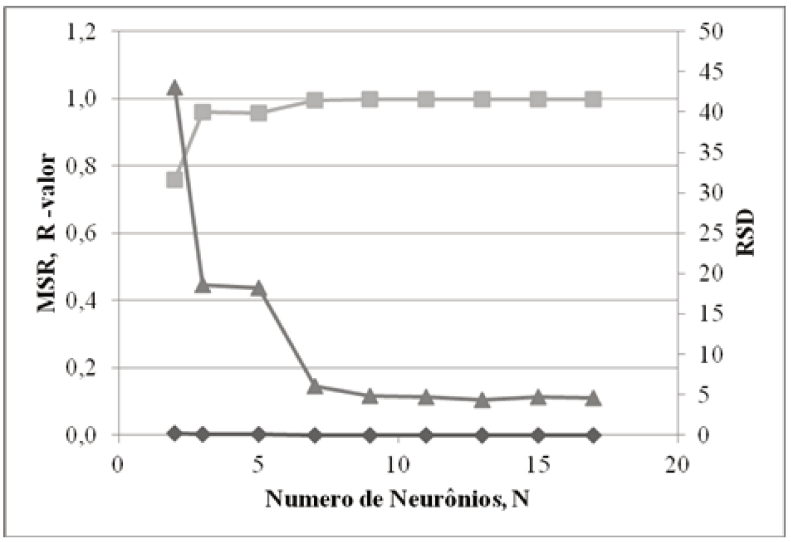


Figura 55. Resultados dos Critérios de Qualidade de Predição da Rede Neural de Células. Os Critérios São Para o Valor R, R(■), Desvio Padrão Residual, DPR (▲), Erro Quadrático Médio, EQM (♦).

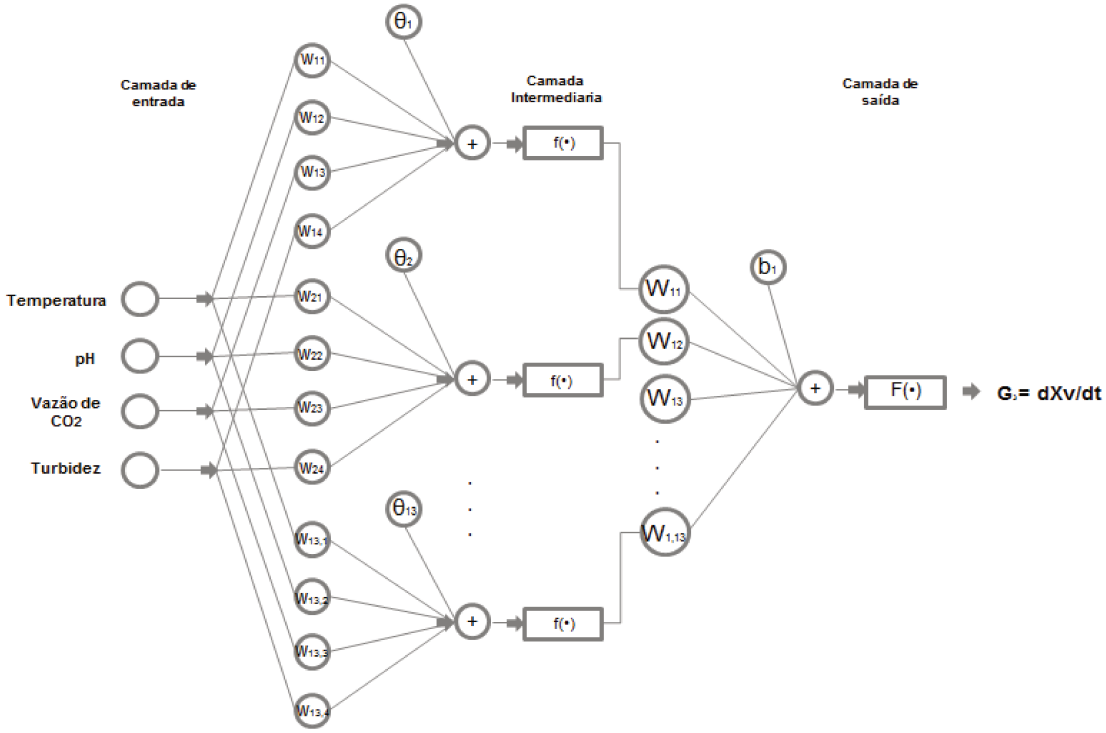


Figura 56. Ótima rede neural usada para predizer a taxa de células.

Tabela 19. Parâmetros Otimizados (pesos e bias) do Modelo Neural.

Parâmetros otimizados (pesos e bias) do Modelo Neural							
	Parâmetros de ligação de entrada e neurónios da camada interna					Parâmetros de ligação de neurônios da camada interna e neurônio de saída	
	w_{j1}	w_{j2}	w_{j3}	w_{j4}	θ_j	W_{1j}	b_1
j=1	-3,179	-0,242	5,420	0,123	4,602	-2,062	-0,781
j=2	2,371	-0,043	-2,434	-1,890	-4,949	-3,584	
j=3	3,822	-5,222	0,1330	-1,948	-1,763	-0,279	
j=4	-0,0083	0,1356	2,628	-1,198	-0,984	-3,387	
j=5	-6,891	-6,218	6,917	2,264	-3,941	-0,363	
j=6	0,896	0,276	4,569	1,693	1,609	1,575	
j=7	-2,807	1,855	4,401	1,734	-2,411	-2,101	
j=8	0,482	0,050	1,323	-0,798	0,158	1,302	
j=9	-1,200	6,932	-0,170	1,208	-0,672	0,730	
j=10	1,6378	7,8568	-2,418	0,7206	-0,052	-0,272	
j=11	2,492	-0,108	-2,946	-0,989	1,530	-2,197	
j=12	-0,124	1,321	-0,849	-1,650	3,111	-0,086	
j=13	0,616	1,227	-3,003	-1,034	2,330	-1,409	

A figura 56 representa a rede neural otimizada, Na tabela 19 estão apresentados os valores dos pesos e bias, A equação 31 é a rede em termos matemáticos, ao substituir os pesos e as bias da tabela 19. Determina-se a equação da rede com melhor desempenho para inferir os valores das velocidades de produção de etanol, fazendo-se uso da equação 31 e igualando-se com a equação de balanço de massa (equação 16), obtendo-se assim o modelo hibrido neural, equação 32, que é o modelo hibrido.

(31)

$$g_3 = F\left(\sum_{j=1}^{M} W_{kj} f\left(\sum_{I=1}^{N} w_{ji} x_i + \theta_j\right) + b_k\right) = \frac{dXv}{dt} = V_v = r_v$$

(32)

$$r_v = F\left(\sum_{j=1}^{M} W_{kj} f\left(\sum_{I=1}^{N} w_{ji} x_i + \theta_j\right) + b_k\right)$$

A seguir são apresentadas as figuras 57 até 61 que mostram os perfis obtidos pelo modelo hibrido neural comparado com a representação matemática. Os dados gerados da representação matemática foram apresentados na seção 4.1.

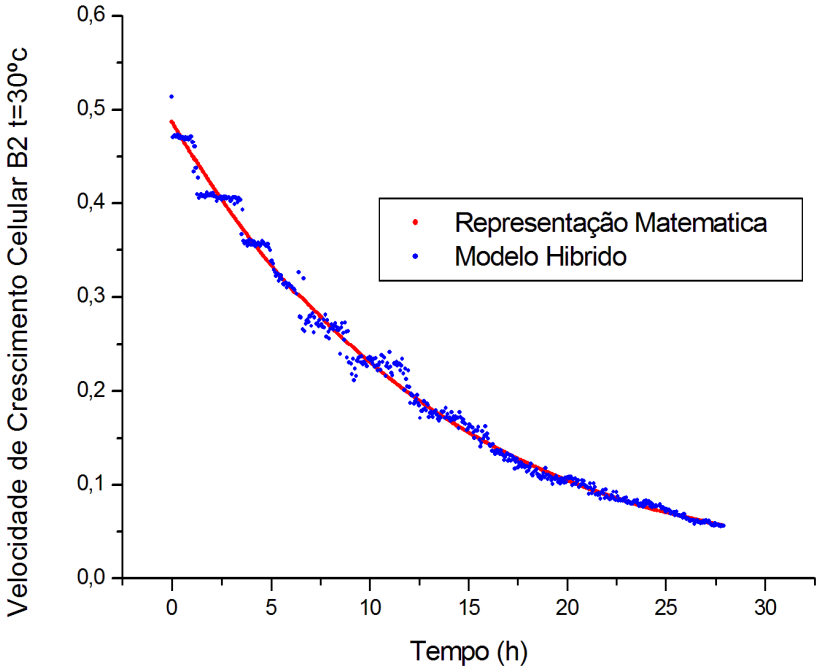


Figura 57. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B2 Sem Reciclo de Células, T = 30ºC

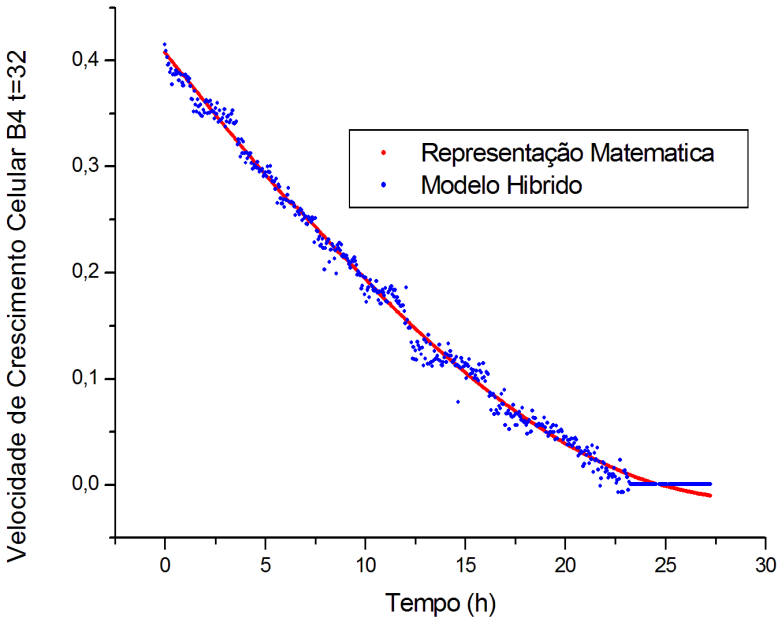


Figura 58. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B4 Sem Reciclo de Células, T = 32ºC

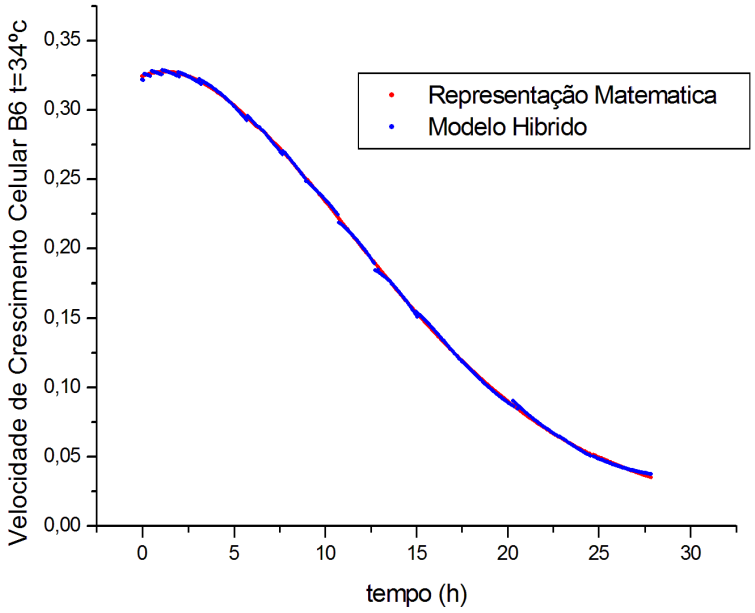


Figura 59. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B6 Sem Reciclo de Células, T = 34ºC

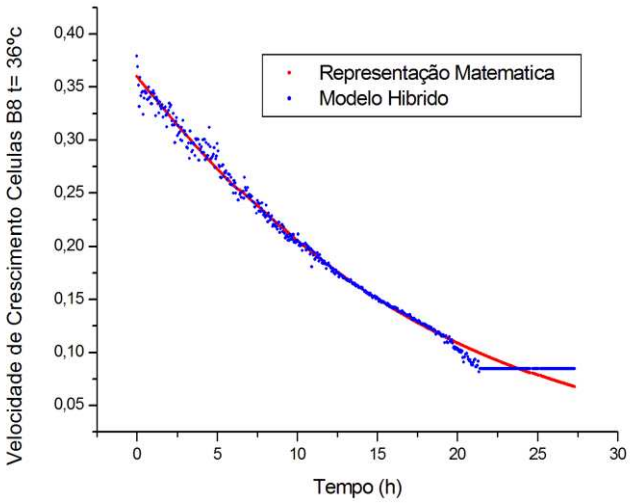


Figura 60. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B8 Sem Reciclo de Células, T = 36ºC

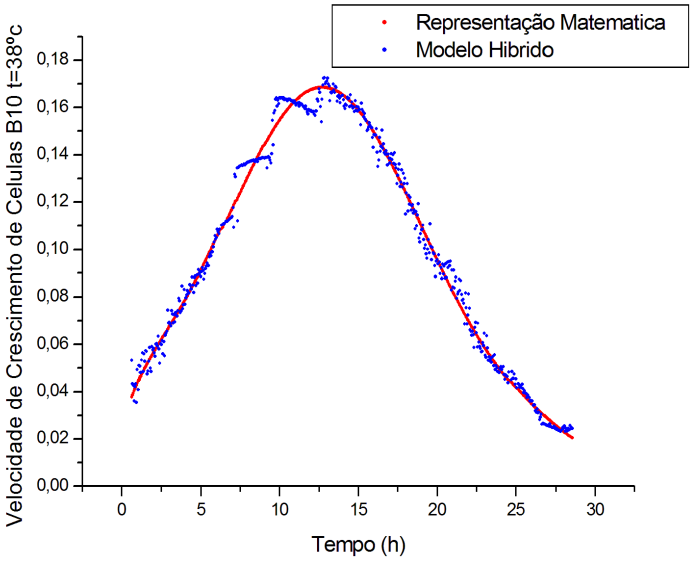


Figura 61. Perfil de Velocidade de Crescimento Celular B10 Sem Reciclo de Células, T = 38ºC

Nas anteriores figuras 57 a 61 representam os resultados obtidos na implementação do modelo híbrido neural de crescimento celular com reciclo junto

com os valores da representação matemática para podermos observar de forma gráfica o comportamento.

A partir das figuras e comparar com as tendências se pode afirmar que o perfil do comportamento da rede neural que na camada intermediaria possui 13 neurónios com um EQM = 0,0000587, DPR = 4,403 e um valor R = 0,997, foi o esperado devido a que os pontos inferidos pelo modelo híbrido acompanha a linha dos dados da representação matemática, concluindo-se que o modelo pode fazer predições da cinética do crescimento celular com reciclo.

Uma comparação entre os dois modelos híbridos de crescimento de células com e sem reciclo, se observa: na primeira rede são empregados na camada intermediaria 18 neurônios para os dados de batelada sem reciclo e 13 neurônios para batelada com reciclo. A partir dessa informação se sabe que o modelo para bateladas sem reciclo é mais complexo, já que tem mais 5 neurônios que o modelo híbrido de crescimento de células com reciclo, em consequência aumenta em 30 pesos a equação para serem treinados, validados e testados. Assim é preciso uma maior capacidade computacional, pois é mais complexa a matemática do modelo a resolver.

Embora, O modelo híbrido de etanol sem reciclo com uma maior quantidade de neurônios atingem valores de EQM, DPR e R melhores do outro modelo, o qual amostra a qualidade das predições dos modelos aumenta quando empregam mais neurônios usando uma matemática mais complexa.

5. CONCLUSÔES.

A modelagem híbrida desenvolvida, que utiliza variáveis secundárias como entrada (temperatura, pH, vazão de CO_2, turbidez), mostrou-se eficiente nas aproximações dos resultados em comparação com os dados experimentais.

Os 6 Modelos Híbridos Neurais apresentados são modelos robustos que descrevem de forma adequada o processo de fermentação mesmo na presença de mudanças nas condições de operação, sendo esta uma ferramenta poderosa de predição de taxas cinéticas nos processos fermentativos.

Os modelos desenvolvidos com variáveis de fácil medida (pH, T, turbidez e vazão de CO_2) permitem um melhor acompanhamento do processo uma vez que das medições pode-se inferir as taxas cinéticas do processo.

Para encontrar um modelo híbrido que permite inferir as variáveis chaves a partir dos dados de bateladas sem reciclo e com reciclo combinados, deve-se fazer uma rede neural com uma variável adicional de entrada, isso determina se o processo possui ou não reciclo. A razão dessa diferenciação deve-se a presença dos inibidores produzidos depois da primeira batelada que, quando presentes no reciclo, mudam as condições no reator para a fermentação.

O tempo (t) não é considerado uma variável de entrada na rede neural, já que este se encontrava implícito dentro da variável de taxa de produção de etanol, taxa de consumo de substrato e taxa de crescimento celular (todas as variáveis de saída da rede). Como consequência deste procedimento obteve-se uma rede com uma convergência mais rápida, menor número de iterações e menor gasto computacional durante o processo de treinamento, validação e teste.

O desenvolvimento dos modelos híbridos neurais fornecem uma vantagem sobre os modelos de redes neurais puros (caixa preta), pois o acoplamento do

modelo determinístico através dos balanços de massa e as redes neurais permitem a construção de um modelo preditivo mais confiável. Os resultados inferidos pelo modelo híbrido propiciaram uma maior proximidade com a cinética do processo.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

1) Aplicar um controlador usando o modelo desenvolvido ao processo de fermentação alcoólica.
2) Aplicar o modelo híbrido desenvolvido para acompanhar um processo real.
3) Usar modelos de crescimento celular, a serem incluídos na modelagem hibrida do processo fermentativo, obtendo uma representação mais real do processo.
4) Realizar um modelo híbrido neural que permite inferir as variáveis chaves das bateladas sem ou com reciclo, usando para isso uma variável adicional de entrada.
5) Realizar uma base de informação maior na qual a rede neural se alimente e possa ser mais robusta, obtendo uma maior modelo hibrido neural.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

ANDRADE, R. R. (2007). "Procedimento para o desenvolvimento de um modelo matematico robusto para o processo de fermentação alcoólica." Campinas: Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP.(Dissertação de Mestrado).

ANDRADE, R. R. (2012). "Modelagem cinética do processo de produção de etanol a partir de hidrolisado enzimático de bagaço de cana-de-açúcar concentrado com melaço considerando reciclo de células." Campinas: Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP.(Tese de Doutorado).

ARAUJO, T. G. (2004). "Estudo Fenomenologico do Reator Batelada Utilizando Dois Processos Fermentativos." Campinas: Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP.

ARAUZO BRAVO, J. M., J. M. CANO IZQUIERDO, et al. (2004). "Automatization of a penicillin production process with soft sensors and adaptive controller based on neuro fuzzy systems." C **12**: 1073-1090.

ARRANZ, A., S. BORDEL, et al. (2008). "Modelling photosynthetically oxygenated biodegradation processes using artificial neural networks." Journal of Hazardous Materials **155**(55-57).

ATALA, D. I. P., A. C. COSTA, et al. (2001). "Kinetics of ethanol fermentation with high biomass concentration considering the effect of temperature." Applied Biochemistry and Biotechnology **91-93**: 353-364.

BASHEER, I. A. and M. HAJMEER (2000). "Artificial Neural Networks: Fundamentals, Computing, Design, and Application." Journal of Microbiological Methods **43**: 3-31.

BASSO, L. C. and U. A. LIMA (2001). "Biotecnologia Industrial -Vol 3 :Processos Fermentativos e Enzimáticos." Editora Edgar Bluger LTDA. São Paulo **3**: 82.

BASTIN, G. and D. DOCHAIN (1990). "On-line Estimation and Adaptive Control of Bioreactors." Amsterdam, Elsevier.

CARVALHO, J. C. M., S. SATO, et al. (2001). "Biotecnologia Industrial - Volume 2: Engenharia Quimica." Editora Edgar Bluger LTDA. São Paulo: 193-199.

CATFOLIS, T. (1994). "Mapping a complex temporal problem into a combination of static and dynamic neural networks." ACM SIGART Bull **5**: 23-28.

CAVALERI, D., P. MCGOVERN, et al. (2003). "Evidence for S. cerevisiae inancient wine." Journal of Molecular Evolution **57**: S226–S232.

DEMATOS, G., M. S. BOYD, et al. (1996). "Feedforward versus recurrent neural network for forescasting montly japanese yen exchance rates." Asia-Pacif Financial Markets **3**(59-75).

FOGLER, H. S. (2006). "Elements of Chemical Reaction Engineering." Prentice Hall 4 edição.

GOMEZ, S. M. R. (2010). "Pre-Tratamento e Hidrolise Enzimatica do Bagaço de Cana de Açucar." Campinas: Faculdade de Engenharia Quimica, UNICAMP.

GONZAGA, J. C. B., L. A. C. Meleiro, et al. (2009). "ANN-based soft-sensor for real-time process monitoring and control of an industrial polymerization process." Computers & Chemical Engineering **33**(1): 43-49.

KADLEC, P., B. GABRYS, et al. (2008). "Data-driven Soft Sensors in The Process Industry." Computers and Chemical Engineering.

KANO, M. and Y. Nakagawa (2008). "Data-based process monitoring, process control, and quality improvement: Recent developments and applications in steel industry." Computers & Chemical Engineering **32**(1–2): 12-24.

LEE, M. W., S. H. HONG, et al. (2008). "Real-time remote monitoring of small-scalled biological wastewater treatment plants by amulitivariate statistical process

control and neural network-based software sensors." Process Biochemistry **43**: 1107-1113.

LIMA, U. A., L. C. Basso, et al. (2001). "BIotecnologia Industrial - Volume 3: Processos Fermentativos e Enzimáticos." Editora Edgar Bluger LTDA. São Paulo: 1-43.

MACEDO, I. C. (2003). "Estado da arte e tendências das tecnologias para Energia." Brasilia: Ministério da Ciência e da Tecnologia. CTEnerg-Secretaria Técnica do fundo Setorial de Energia. CGEE Centro de gestão e estudos estrategicos.

MANTOVANELLI, I. C. C. (2005). "Modelagem Híbidro Neuronal de um processo de fermentação alcoólica." Campinas: Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP. **Dissestação de mestrado**.

NEVOT, J. (1999). "Diseño de un Controlador Avanzado Basado en Redes Neuronales para la Gestion de la Mezcla de Aire-Gasolina en un Motor Alternantivo." Cataluña: Universidad Politécnica de Cataluña **Tese Doutoral**.

OSORIO, D., J. Ricardo Pérez-Correa, et al. (2008). "Soft-sensor for on-line estimation of ethanol concentrations in wine stills." Journal of Food Engineering **87**(4): 571-577.

PEREIRA, L. H. (2001). "Modelagem Hídrido Neuronal Aplicada a Processos Fermentativos." Campinas: Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP. **Dissertação de Mestrado**.

PESSOA, E. D. S. (1997). "Efeito da Temperatura na Cinetica da Fermentação álcoolica Continua com Alta Densidade Celular." Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP.

POLOWSKI, N. V. (2009). "Modelagem e otimazação de digestores kraft descontínuos utilizados redes neurais e modelo Hídrido-integrado de processos

em tempo real." Campinas: Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP. **tese de Doutorado**.

RADKE, E. (2002). "Desenvolvimento de Modelos Híbridos-Neuronais para fermentação Alcoólica e Estudos de técnicas de Otimização do Processo." Campinas: Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP.

RIVERA, E. C., D. I. P. Atala, et al. (2010). "Development of real-time state estimators for reaction–separation processes: A continuous flash fermentation as a study case." Chemical Engineering and Processing: Process Intensification **49**(4): 402-409.

RIVERA, E. C., A. C. Costa, et al. (2007). "Development of adaptive modeling techniques to describe the temperature-dependent kinetics of biotechnological processes." Biochemical Engineering Journal **36**(2): 157-166.

RIVERA, E. C., A. C. COSTA, et al. (2006). "Ethyl alcohol production optimization by coupling genetic algorithn and multilayer perceptron neural network." Applied Biochemistry and Biotechnology **129-132**.

RIVERA, E. C., J. FARIAS, et al. (2009). "LabVIEW-based intelligent system for monitoring of bioprocesses, in : J.Jez' owski, J. Thullie (Eds.)." Computer-Aided Chemical Engineering, Elsevier. **1**: 309-314.

SCHMIDELL, W., W. BORZANI, et al. (2001). "Biotecnologia Industrial - Engenharia Bioquímica." São Paulo: Blucher.

SOONS, Z., M. Streefland, et al. (2008). "Assessment of near infrared and "software sensor" for biomass monitoring and control." Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems **94**(2): 166-174.

VON ZUBEM, F. and R. ATTUX (2010). "Redes Neurais." Slides Disciplina de Redes Neurais.

YU, R. F., H. W. CHEN, et al. (2008). "Dinamyc control of disinfection for wastewater reuse applying ORP/pH monitoring and artificial neural networks." Resources, Conservation and Recycling **52**: 1015-1021.

8. ANEXOS 1

Dados experimentais das Fermentações em Bateladas.

Dados experimentais da batelada a T= 30°C e S_0 = 118,1631 g/l. Batelada 2. Com reciclo da batelada 1.

A viabilidade do processo é 100% por tanto não existe a morte de células, o valor usado para concentração de células é o valor da massa seca.

Tabela A1. Dados Experimentais da Batelada nº2.

	Concentrações (g/L)				
t (h)	Massa seca	Etanol	Substrato	Glicose	Frutose
0	3,62	18,491	118,163	41,31	42,218
3	5,92	28,614	109,161	41,618	51,01
6,8	6,78	39,861	86,874	29,26	48,844
16,12	8,15	54,392	48,212	7,912	32,086
19,63	9,21	58,657	44,863	5,456	28,527
21,58	8,95	70,459	33,86	3,748	20,041
25,8	8,52	68,682	22,651	2,254	11,187
28,3	9,24	72,509	6,42	0	7,468
31,63	9,76	72,421	3,154	0	4,202
36,38	10,37	79,315	11,741	0	4,13
38,92	10,2	83,497	0	0	0

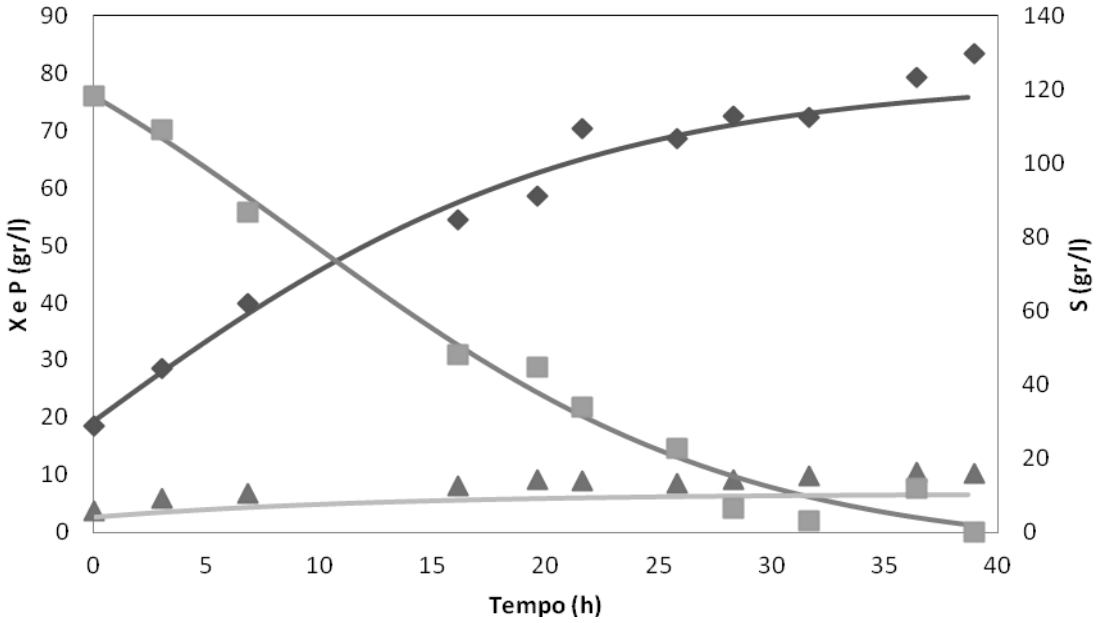


Figura A1. Dados Experimentais e Ajustados (–) dos Dados Cinéticos da Batelada 2 na Temperatura de 30ºC com Reciclo. Dados Experimentais São Para Concentração de Substrato, S(■); Biomassa, X(▲); Produtos, P(♦).

Tabela A2. Ajustes de Dados Experimentais à Curva Sigmoidal.

Parâmetro	Expressão para o parâmetro	r^2
Substrato	$y = -5{,}6086 + 171{,}2684/(1 + \exp\left(-\frac{x - 9{,}2271}{-9{,}637}\right))$	0,979
Etanol	$y = -48{,}62 + 127{,}7477/(1 + \exp\left(-\frac{x + 1{,}49}{10{,}99}\right))$	0,969
Células Viáveis	$y = -132{,}314 + 142{,}608/(1 + \exp\left(-\frac{x + 32{,}837}{12{,}2772}\right))$	0,962

Os dados obtidos da batelada 2 nas condições de T =30ºC e So=118,1631 são apresentados na figura A2. Os dados correspondem a turbidez, pH, vazão de CO_2 e temperatura. A coleta de dados foi feita cada 3 minutos.

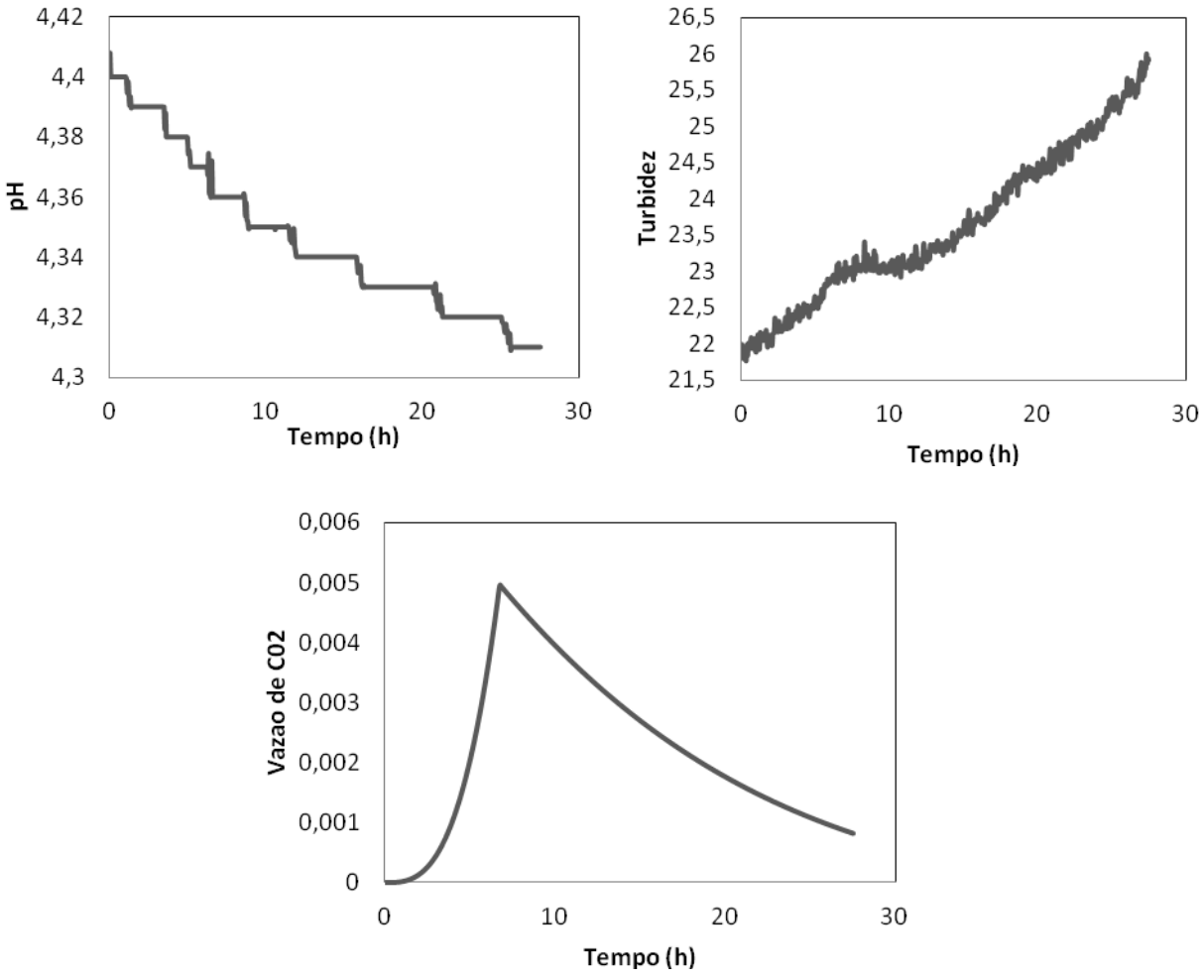


Figura A2. pH, Turbidez e Vazão de CO_2 ao Longo do Tempo.

Dados experimentais da batelada a T= 32°C e S_0= 141,263 g/L, batelada 3. Nessa fermentação a viabilidade é muito próxima a 100%, então vamos só a usar o valor da massa seca que seria a totalidade das células sem morte celular.

Tabela A3. Dados Experimentais da Batelada nº3.

	Concentrações (g/L)				
t (h)	Massa seca	Etanol	Substrato	Glicose	Frutose
0	2,82	1,308	141,263	47,496	46,416
2,1	2,97	4,908	134,886	60,288	67,92
5,1	3,97	18,696	111,352	41,436	59,256
7,1	4,55	20,694	97,28	33,288	54,618
9,18	4,73	27,78	75,647	24,93	48,732
12,52	5,03	36,612	58,787	15,45	40,842
14,18	5,54	43,074	53,651	12,354	39,558
16,53	5,98	46,947	34,871	5,418	27,78
18,52	6,37	55,257	27,287	2,754	22,722
21,1	6,41	59,145	4,335	1,374	0

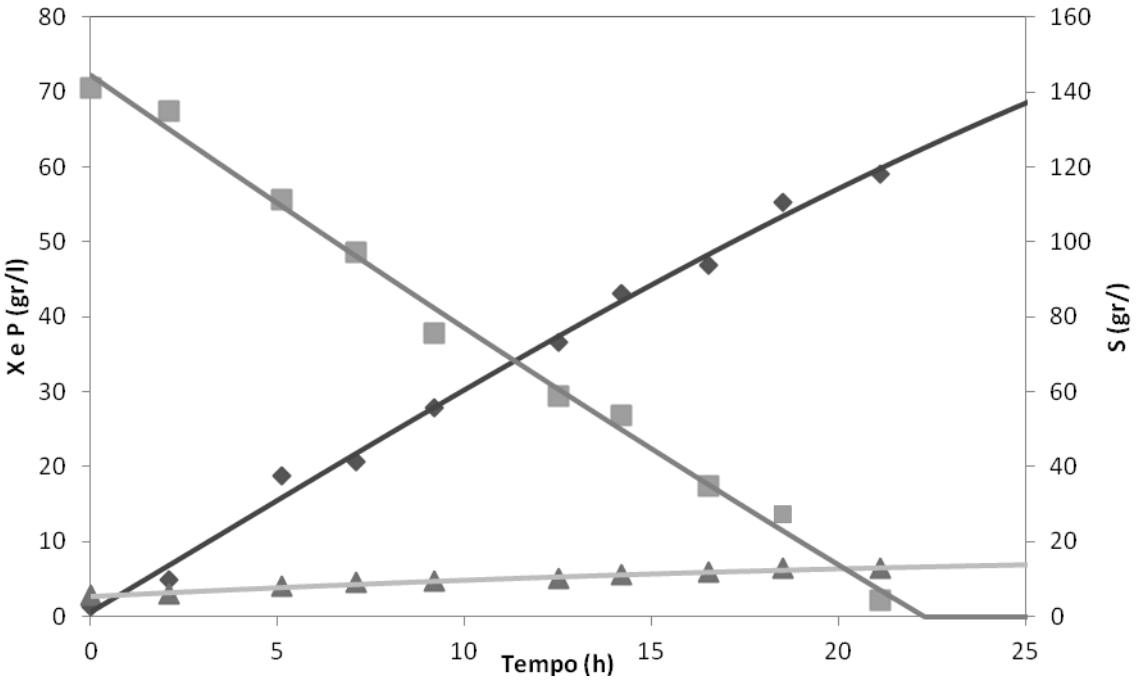


Figura A3. Dados Experimentais e Ajustados (–) dos Dados Cinéticos da Batelada 3 na Temperatura de 32ºC Sem Reciclo. Dados Experimentais São Para Concentração de Substrato, S(■); Biomassa, X(▲); Produtos, P(♦).

Tabela A4. Ajustes de Dados Experimentais à Curva Sigmoidal.

Parâmetro	Expressão para o parâmetro	r^2
Substrato	$y = -402{,}673 + 1415{,}22/(1 + \exp\left(-\frac{x + 22{,}355}{-48{,}4471}\right))$	0,993
Etanol	$y = -97{,}37 + 215{,}678/(1 + \exp\left(-\frac{x - 3{,}286}{18{,}037}\right))$	0,994
Células Viáveis	$y = -10{,}394 + 19{,}01664/(1 + \exp\left(-\frac{x+13{,}213}{16{,}537}\right))$	0,983

Os dados obtidos do da batelada 3 nas condições de T =32ºC e So=141,263 são apresentados na figura A4. Os dados correspondem a turbidez, pH, vazão de CO_2 e temperatura. A coleta de dados foi feita cada 3 minutos

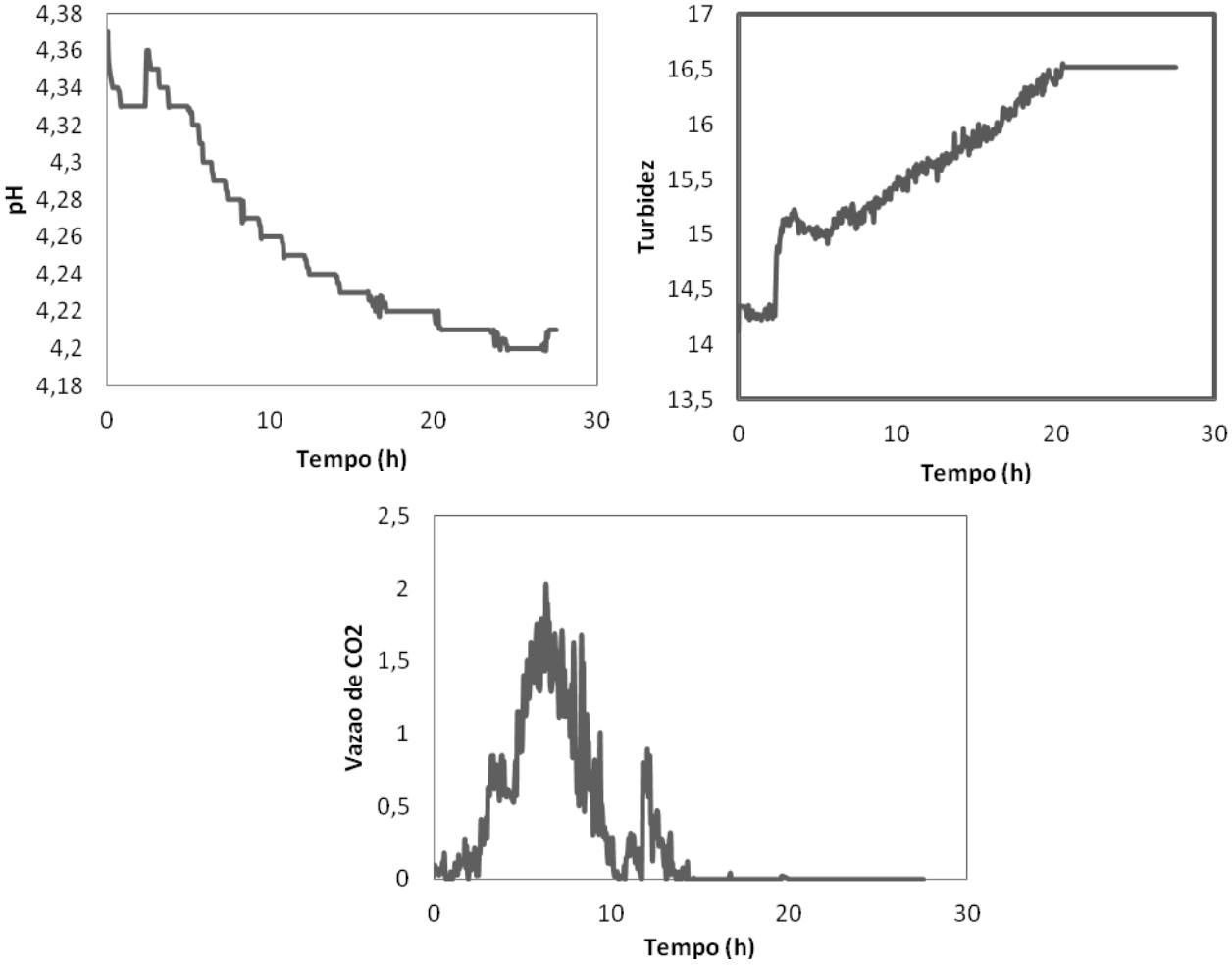


Figura A4. pH, Turbidez e Vazão de CO_2 ao Longo do Tempo.

Dados experimentais da batelada a T= 32°C e S_0 = 167,877 g/l. Batelada 4. Com reciclo da batelada 3. A viabilidade do processo é 100% por tanto não existe a morte de células, o dado usado é o valor da massa seca.

Tabela A5. Dados Experimentais da Batelada nº4.

		Concentrações (g/L)			
t (h)	Massa seca	Etanol	Substrato	Glicose	Frutose
0	3,56	10,224	167,877	37,332	37,368
3,65	4,54	20,664	134,185	47,616	60,588
6,92	5,56	32,736	107,348	37,548	62,076
10,17	6,42	41,496	91,513	28,032	59,424
13,12	6,86	48,108	71,401	18,246	49,86
16,12	7,14	61,416	66,138	13,35	49,002
19,12	7,47	64,392	52,041	7,77	40,548
21,48	7,29	67,476	40,325	4,404	32,406
24,48	7,59	81,363	34,351	2,316	27,984
26,3	7,28	76,056	24,72	1,47	19,599
30,53	7,45	80,535	17,387	1,431	12,39

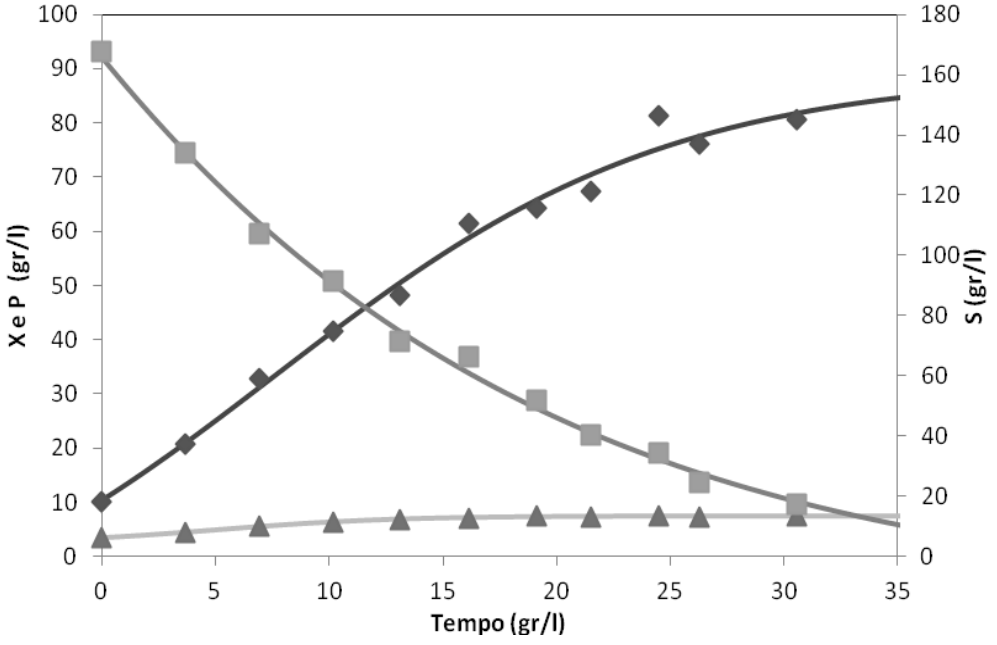


Figura A5. Dados Experimentais e Ajustados (–) dos Dados Cinéticos da Batelada 4 na Temperatura de 32ºC com Reciclo. Dados Experimentais São Para Concentração De Substrato, S(■); Biomassa, X(▲); Produtos, P(♦).

Tabela A7. Ajustes de Dados Experimentais à Curva Sigmoidal.

Parâmetro	Expressão para o parâmetro	r^2
Substrato	$y = -16{,}184 + 1523{,}83/(1 + \exp\left(-\frac{x + 34{,}45}{-17{,}2595}\right))$	0,996
Etanol	$y = -22{,}129 + 111{,}27/(1 + \exp\left(-\frac{x - 7{,}630}{8{,}6558}\right))$	0,988
Células Viáveis	$y = 2{,}47 + 4{,}99/(1 + \exp\left(-\frac{x - 5{,}006}{3{,}9306}\right))$	0,995

Os dados obtidos do da batelada 4 nas condições de T =32ºC e So=167,877 são apresentados na figura A7. Os dados correspondem a turbidez, pH, vazão de CO_2 e temperatura. A coleta de dados foi feita cada 3 minutos

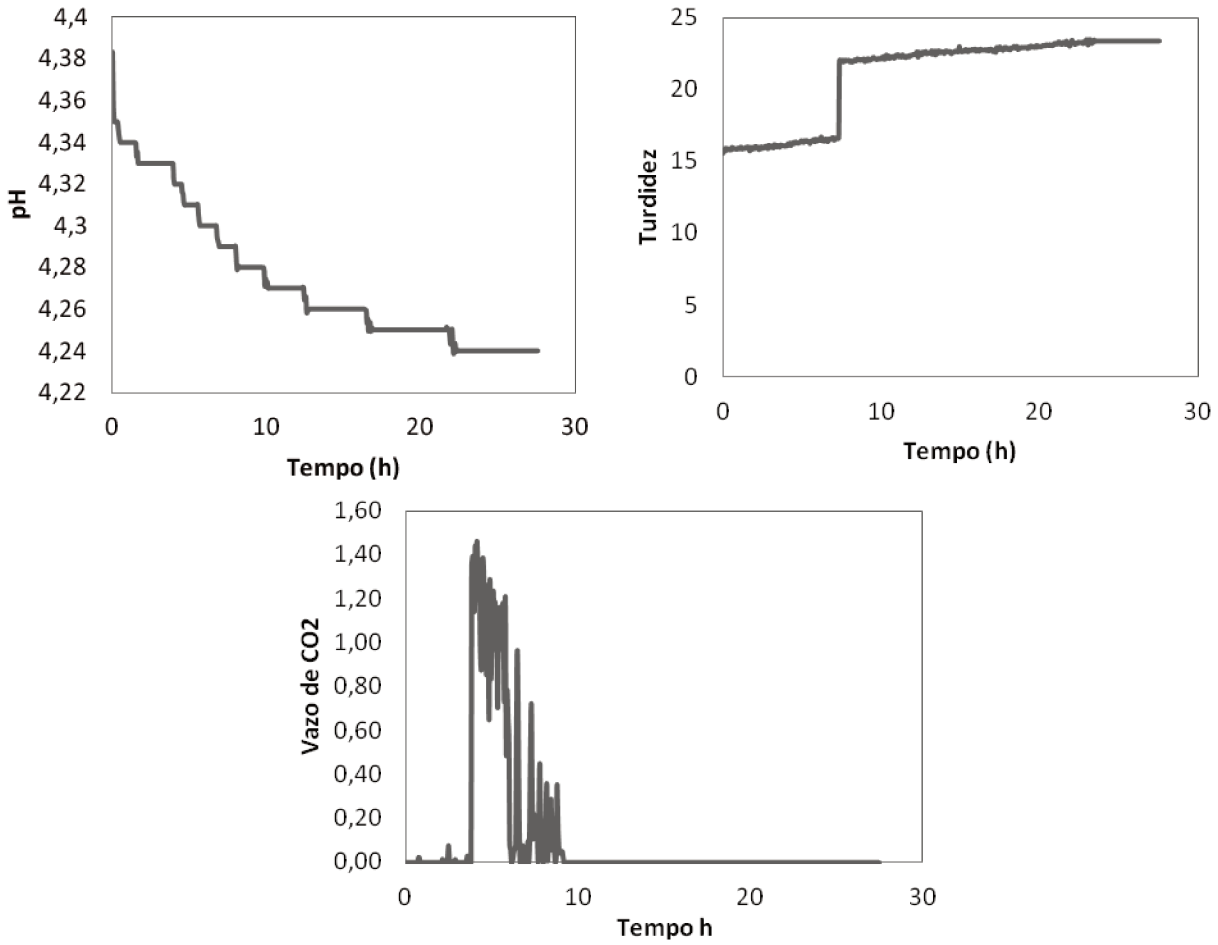


Figura A7. pH, turbidez, Vazão de CO_2 ao Longo do Tempo de Fermentação.

Dados Experimentais da Batelada a T= 34°C e S_0= 150,628 g/L, Batelada 5. Nessa fermentação a viabilidade é muito próxima a 100%, então vamos só a usar o valor da massa seca que seria a totalidade das células sem morte celular.

Tabela A8. Dados Experimentais da Batelada nº5.

	Concentrações (g/L)				
t (h)	Massa seca	Etanol	Substrato	Glicose	Frutose
0	2,69	2,436	150,628	55,416	53,544
2,57	2,86	7,104	127,877	52,584	63,348
4,67	3,66	12,456	101,789	38,112	53,244
6,37	4,03	23,346	98,338	33,774	53,394
10,95	5,19	34,044	70,351	18,912	40,338
13,62	5,57	44,7	52,464	13,404	39,06
20,35	6,33	65,46	24,966	4,308	20,658
23,38	6,24	73,14	15,984	3,306	12,678
26,95	6,51	68,328	0	0	0
30,45	6,39	72,495	0	0	0

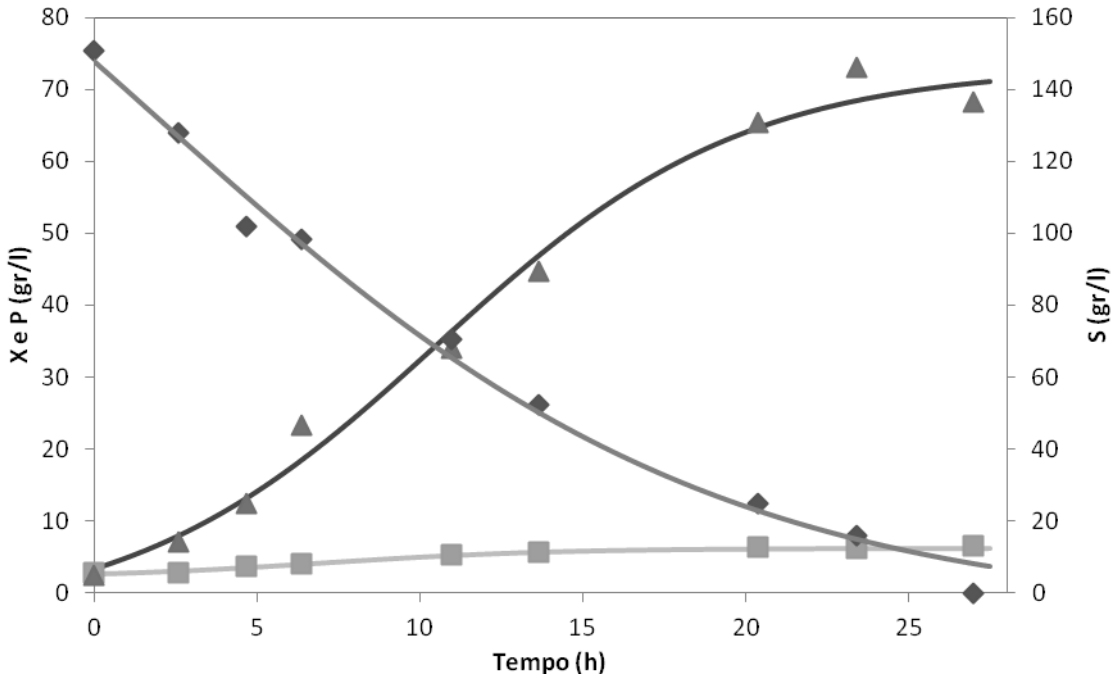


Figura A8. Dados Experimentais e Ajustados (–) dos Dados Cinéticos da Batelada 5 na temperatura de 34ºC Sem Reciclo. Dados Experimentais São Para Concentração De Substrato, S(■); Biomassa, X(▲); Produtos, P(♦).

Tabela A9. Ajustes de Dados Experimentais à Curva Sigmoidal.

Parâmetro	Expressão para o parâmetro	r^2
Substrato	$y = -6{,}144 + 280{,}66/(1 + \exp\left(-\frac{x - 1{,}706}{-8{,}6485}\right))$	0,994
Etanol	$y = -4{,}059 + 77{,}155/(1 + \exp\left(-\frac{x - 10{,}53162}{4{,}698}\right))$	0,991
Células Viáveis	$y = 2{,}121 + 4{,}11/(1 + \exp\left(-\frac{x - 6{,}998}{3{,}5528}\right))$	0,981

Os dados obtidos da batelada 5 nas condições de T =34ºC e So=150,628 são apresentados na figura A9. Os dados correspondem a turbidez, pH, vazão de CO_2 e temperatura. A coleta de dados foi feita cada 3 minutos

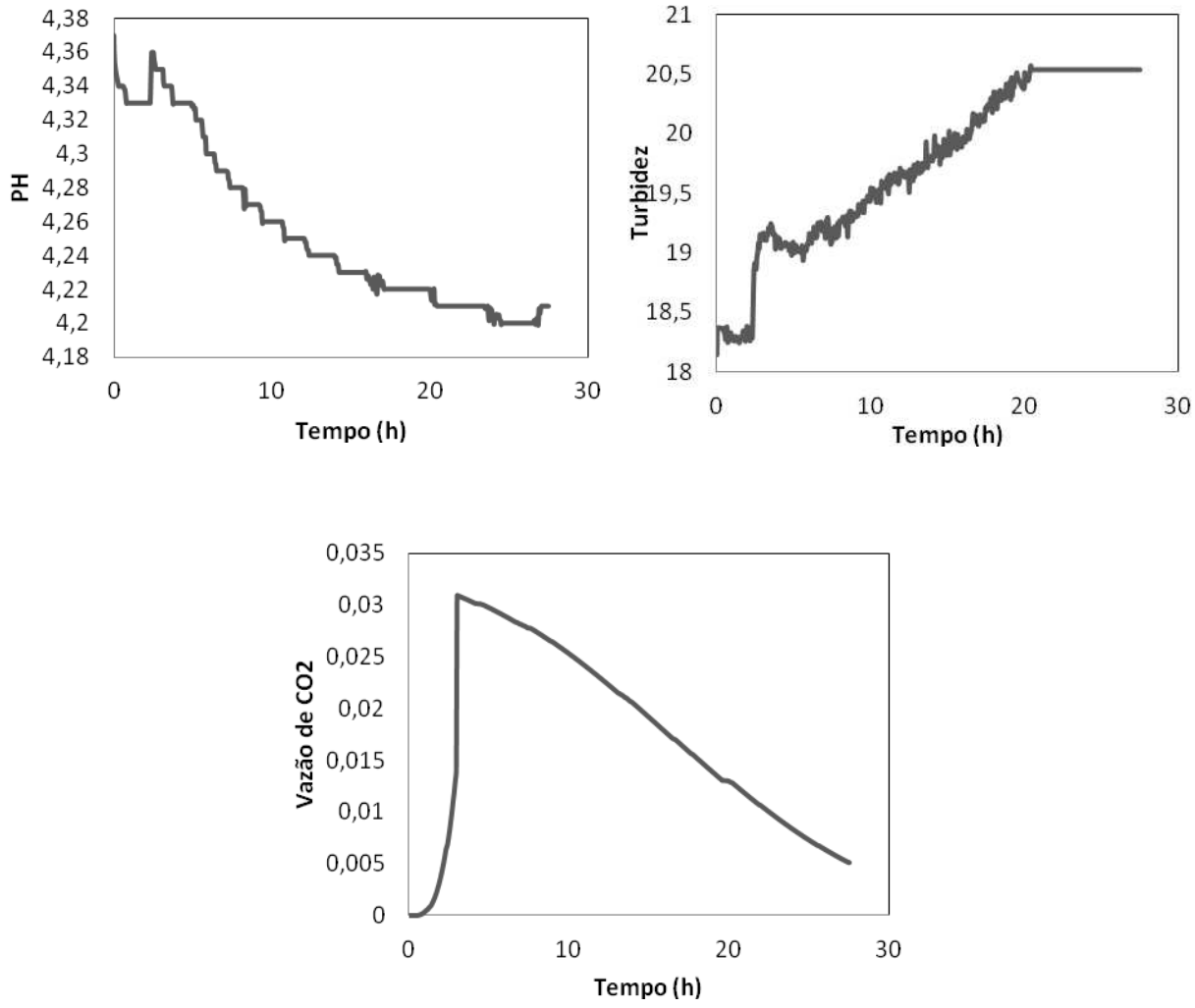


Figura A9. pH, turbidez, Vazão de CO_2 ao Longo do Tempo de Fermentação.

Dados experimentais da batelada a T= 34°C e S_0 = 133,737 g/l. Batelada 6. Com reciclo da batelada 5. A viabilidade do processo é 100% por tanto não existe a morte de células, o dão usado é o valor da massa seca.

Tabela A10. Dados Experimentais da Batelada nº6.

	Concentrações (g/L)				
t (h)	Massa seca	Etanol	Substrato	Glicose	Frutose
0	5,91	20,976	133,737	38,88	39,984
2,58	6,88	20,808	127,764	47,16	53,892
6,67	7,92	29,724	103,291	35,34	54,456
9,92	8,91	39,132	91,364	28,8	50,544
12,67	9,54	50,358	76,966	20,796	44,238
16,92	10	63	58,854	12,54	34,728
20,67	10,4	66,198	33,978	6,45	27,528
23,12	10,69	69,828	25,716	4,32	21,396
24,68	11,96	66,858	14,976	2,988	11,988
28,1	11,01	76,074	10,578	0	10,578

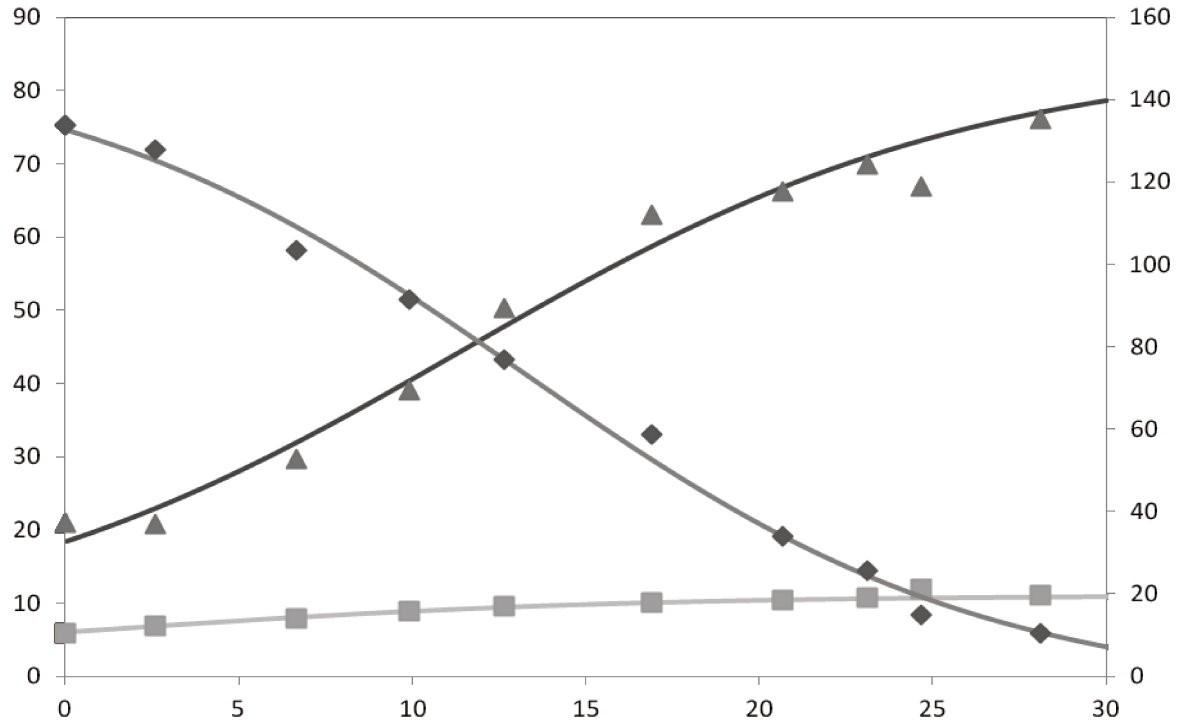


Figura A10. Dados Experimentais e Ajustados (–) dos Dados Cinéticos da Batelada 6 na Temperatura de 34ºC Com Reciclo. Dados Experimentais São Para Concentração De Substrato, S(■); Biomassa, X(▲); Produtos, P(♦).

Tabela A11. Ajustes de Dados Experimentais à Curva Sigmoidal.

Parâmetro	Expressão para o parâmetro	r^2
Substrato	$y = -4{,}7022 + 156{,}287/(1 + \exp\left(-\frac{x - 13{,}237}{-6{,}684}\right))$	0,9954
Etanol	$y = 4{,}348 + 80{,}185/(1 + \exp\left(-\frac{x - 11{,}431}{7{,}38012}\right))$	0,9832
Células Viáveis	$y = 1{,}33 + 9{,}8/(1 + \exp\left(-\frac{x - 0{,}875}{7{,}4926}\right))$	0,9928

Os dados obtidos do da batelada 6 nas condições de T =34ºC e So=133,737 são apresentados na figura A11. Os dados correspondem a turbidez, pH, vazão de CO_2 e temperatura. A coleta de dados foi feita cada 3 minutos

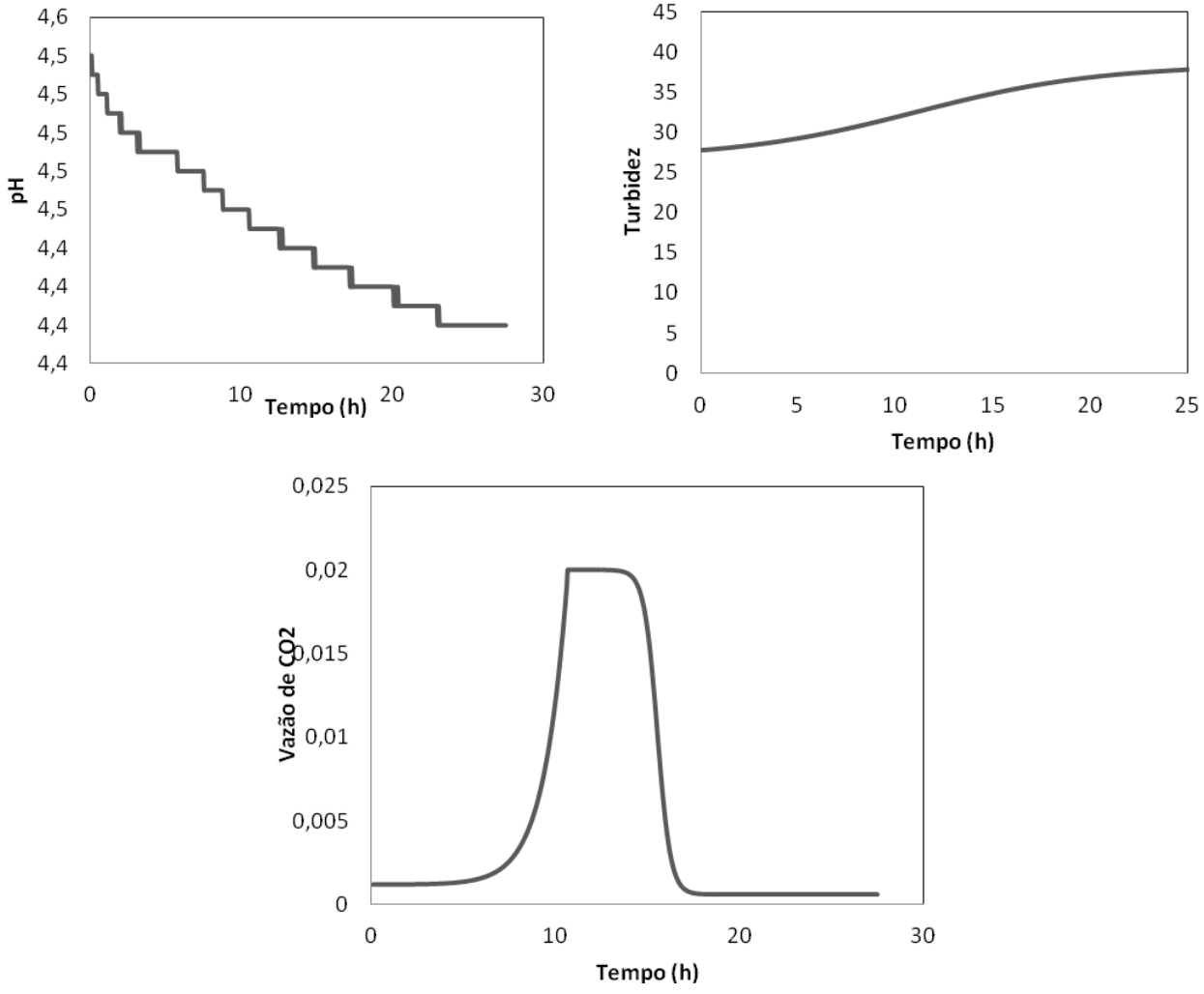


Figura A11. pH, turbidez, vazão de CO_2 ao Longo do Tempo de Fermentação.

Dados Experimentais da Batelada a T= 36°C e S_0= 149,325 g/L, Batelada 7. Nessa fermentação a viabilidade é muito próxima a 100%, então vamos só a usar o valor da massa seca que seria a totalidade das células sem morte celular.

Tabela A12. Dados Experimentais da Batelada nº7.

	Concentrações (g/L)				
t (h)	Massa seca	Etanol	Substrato	Glicose	Frutose
0	3,06	1,968	149,325	58,8	57,576
3,58	3,97	14,856	123,701	48,828	63,42
6	4,4	18,552	105,494	36,132	57,48
9,75	5,46	31,95	77,154	20,55	45,006
11,58	5,42	35,712	64,871	14,88	38,796
14,33	6,36	45,516	42,294	9,354	32,94
16,3	6,34	55,431	30,345	5,136	25,209
19,3	6,62	51,096	14,337	0	14,337
23,25	6,83	59,055	0	0	0
27,08	6,44	62,94	0	0	0

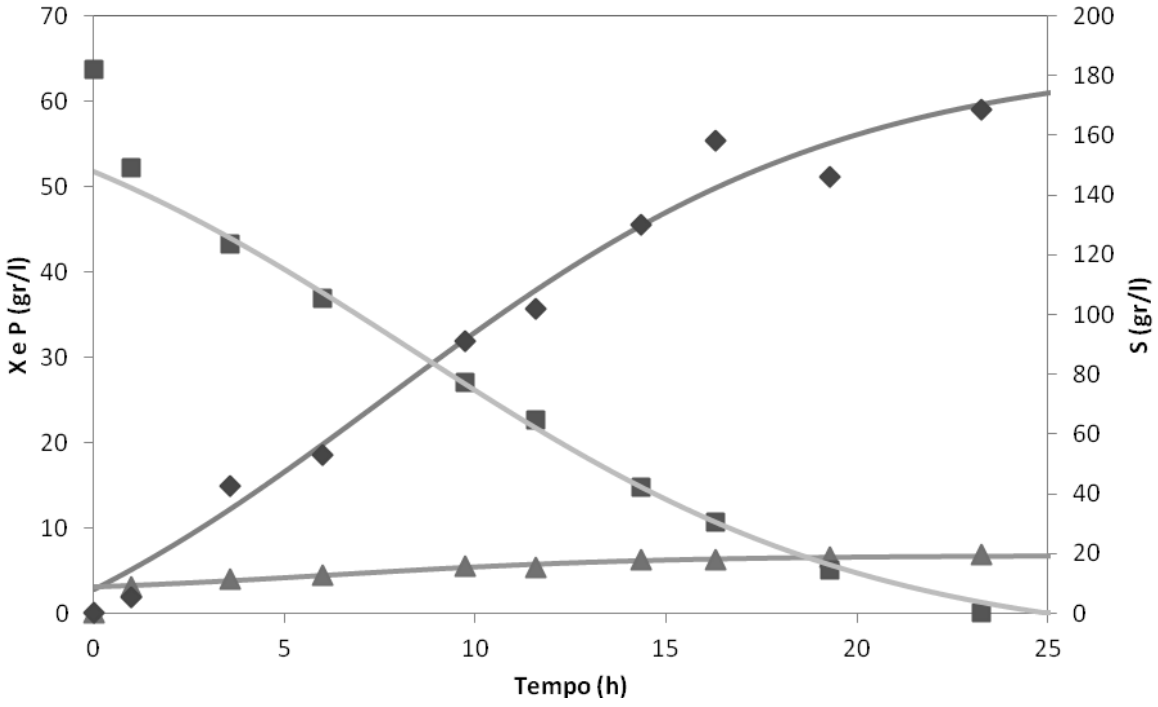


Figura A12. Dados experimentais e ajustados (–) dos dados cinéticos da batelada 7 na temperatura de 36ºC sem reciclo. Dados experimentais são para concentração de substrato, S(■); biomassa, X(▲); produtos, P(♦).

Tabela A13. Ajustes de Dados Experimentais à Curva Sigmoidal.

Parâmetro	Expressão para o parâmetro	r^2
Substrato	$y = -12{,}270 + 200{,}4/(1 + \exp\left(-\frac{x - 8{,}3616}{-6{,}062}\right))$	0,9981
Etanol	$y = 14{,}7262 + 79{,}873/(1 + \exp\left(-\frac{x - 7{,}623}{6{,}031}\right))$	0,9838
Células Viáveis	$y = 2{,}2724 + 4{,}464/(1 + \exp\left(-\frac{x - 6{,}22}{4{,}2936}\right))$	0,981

Os dados obtidos do da batelada 7 nas condições de T =36ºC e So=149,325 são apresentados na figura A13. Os dados correspondem a turbidez, pH, vazão de CO_2 e temperatura. A coleta de dados foi feita cada 3 minutos.

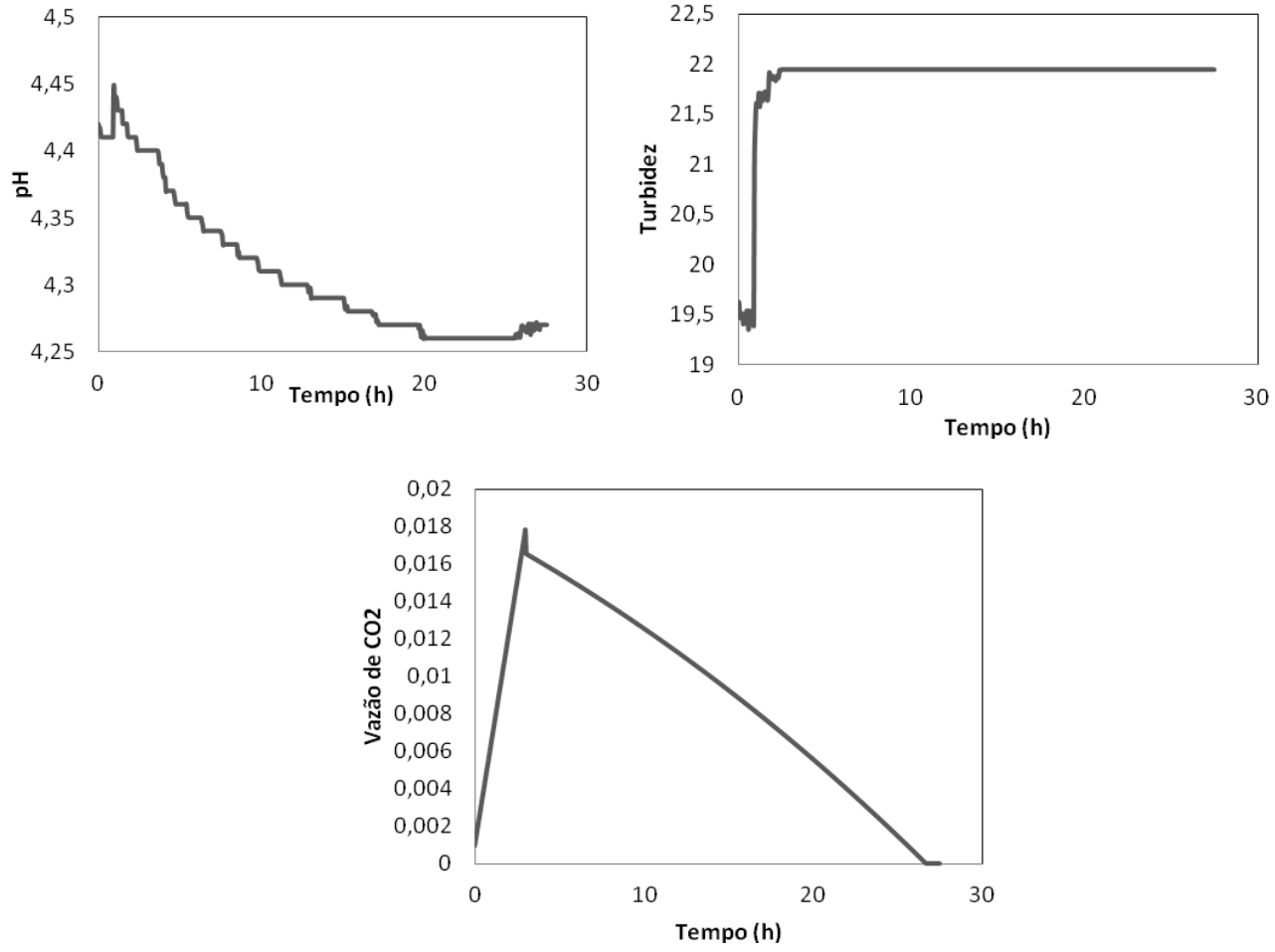


Gráfico A13. pH, Turbidez e Vazão de CO_2 ao Longo do Tempo de Fermentação.

Dados experimentais da batelada a T= 36°C e S_0 = 138,852 g/l. Batelada 8. Com reciclo da batelada 7. A viabilidade do processo é 100% por tanto não existe a morte de células, o dão usado é o valor da massa seca.

Tabela A14. Dados Experimentais da Batelada nº8.

	Concentrações (g/L)				
t (h)	Massa seca	Etanol	Substrato	Glicose	Frutose
0	4,28	11,94	138,852	54,432	56,7
2,05	4,85	14,364	116,605	47,436	57,312
5,13	6,35	30,876	103,562	34,596	56,316
8,68	7,12	48,702	78,987	19,494	46,2
11,68	7,19	58,914	58,596	10,416	35,58
13,68	7,51	58,404	36	6,63	29,37
15,68	7,98	69,258	19,008	0	19,008
21,33	8,55	72,465	0	0	0
23,83	9,04	74,745	0	0	0

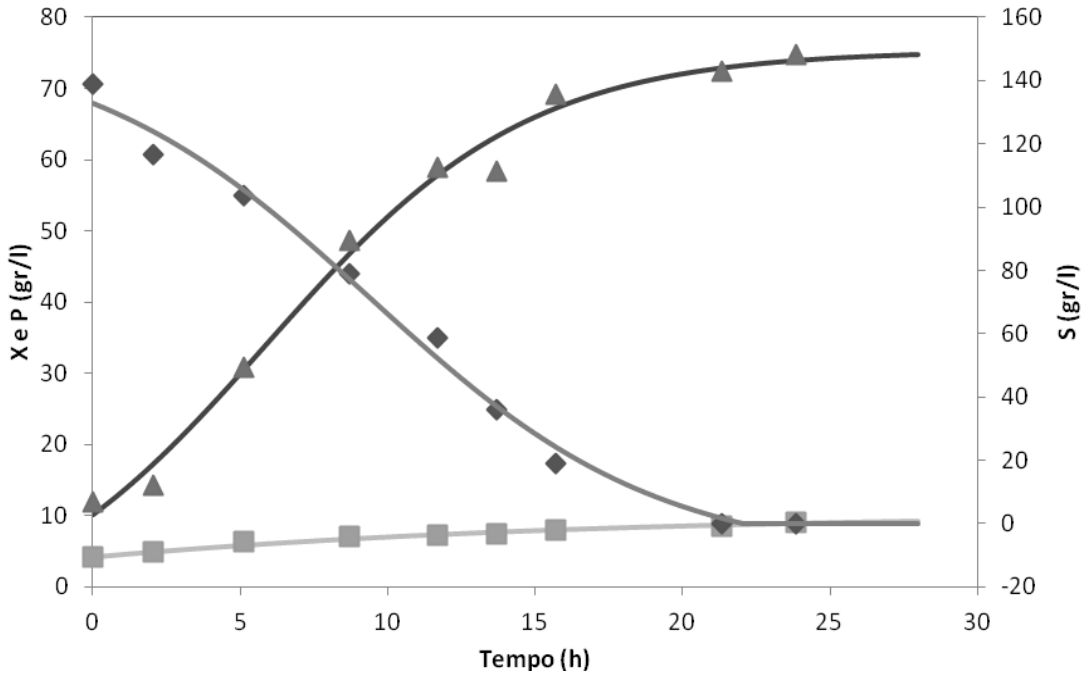


Figura A14. Dados Experimentais e Ajustados (–) dos Dados Cinéticos da Batelada 8 na Temperatura de 36ºC Com Reciclo. Dados Experimentais São Para Concentração De Substrato, S(■); Biomassa, X(▲); Produtos, P(♦).

Tabela A15. Ajustes de Dados Experimentais à Curva Sigmoidal.

Parâmetro	Expressão para o parâmetro	r^2
Substrato	$y = -11{,}44 + 164{,}98/(1 + \exp\left(-\frac{x - 9{,}433}{-4{,}872}\right))$	0,9915
Etanol	$y = 7{,}01 + 82{,}33/(1 + \exp\left(-\frac{x - 5{,}906}{4{,}419}\right))$	0,99
Células Viáveis	$y = 38{,}513 + 48{,}617/(1 + \exp\left(-\frac{x + 28{,}42}{14{,}275}\right))$	0,9878

Os dados obtidos do da batelada 8 nas condições de T =36ºC e So=138,852 são apresentados na figura A15. Os dados correspondem a turbidez, pH, vazão de CO_2 e temperatura. A coleta de dados foi feita cada 3 minutos.

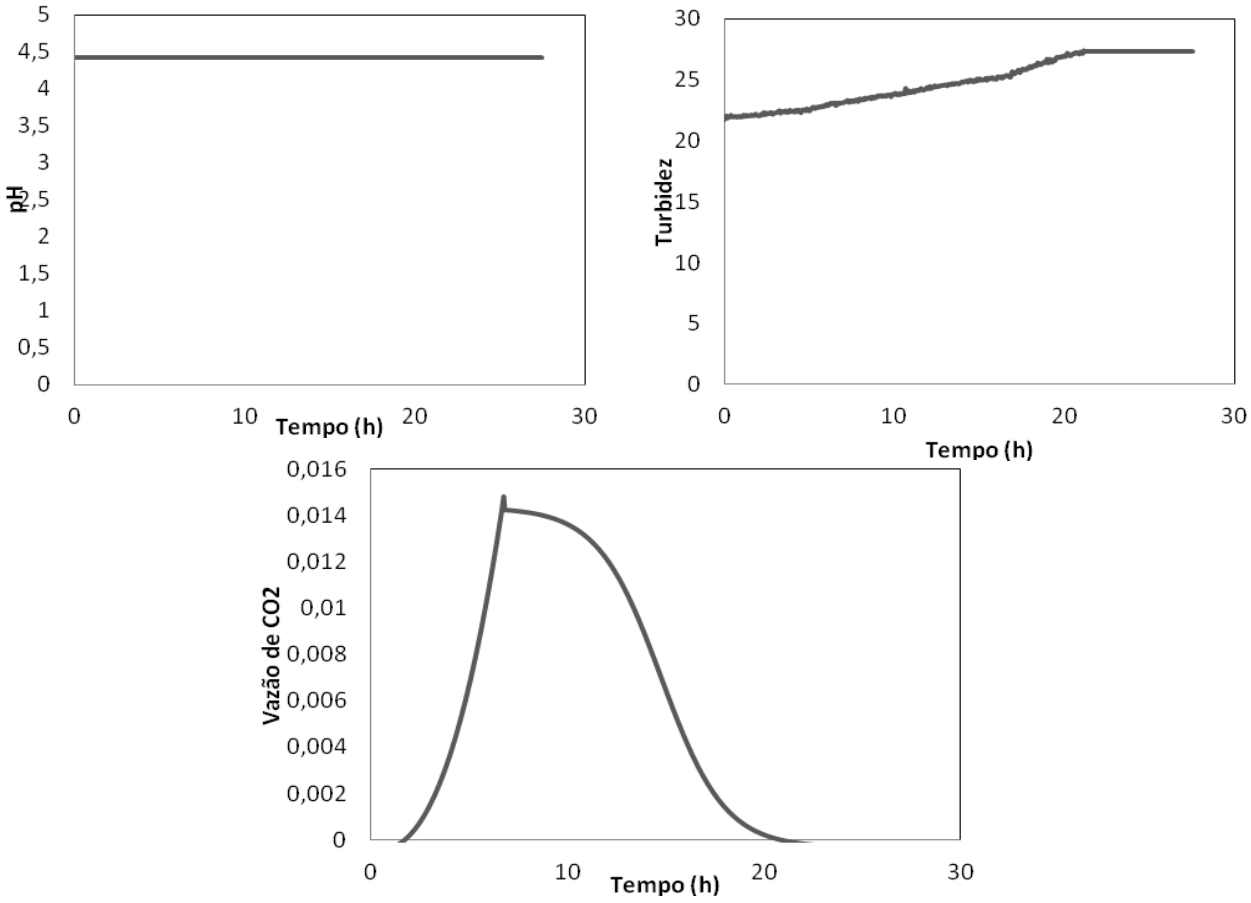


Gráfico A15. pH, Turbidez, Vazão de CO_2 ao Longo Do Tempo De Fermentação.

Dados Experimentais da Batelada a T= 38°C e S_0= 147,701 g/L, Batelada 9. Nessa fermentação a viabilidade é muito próxima a 100%, então vamos só a usar o valor da massa seca que seria a totalidade das células sem morte celular.

Tabela A16. Dados Experimentais da Batelada nº8.

	Concentrações (g/L)				
t (h)	Massa seca	Etanol	Substrato	Glicose	Frutose
0	2,22	1,776	147,701	54,696	66,432
2,02	3,6	6,024	136,82	52,224	72,828
6,15	4,22	21,3	100,57	30,876	57,888
8,15	4,82	30,27	88,904	24,222	52,662
11,02	5,26	39,564	69,876	15,498	42,288
14,18	5,26	43,602	57,764	9,708	34,794
17,85	6,09	43,374	28,608	5,124	23,484
19,6	6,99	61,62	19,056	0	19,056
23,6	5,46	70,548	0	0	0
26,6	5,82	70,017	0	0	0
29,35	5,91	70,128	0	0	0

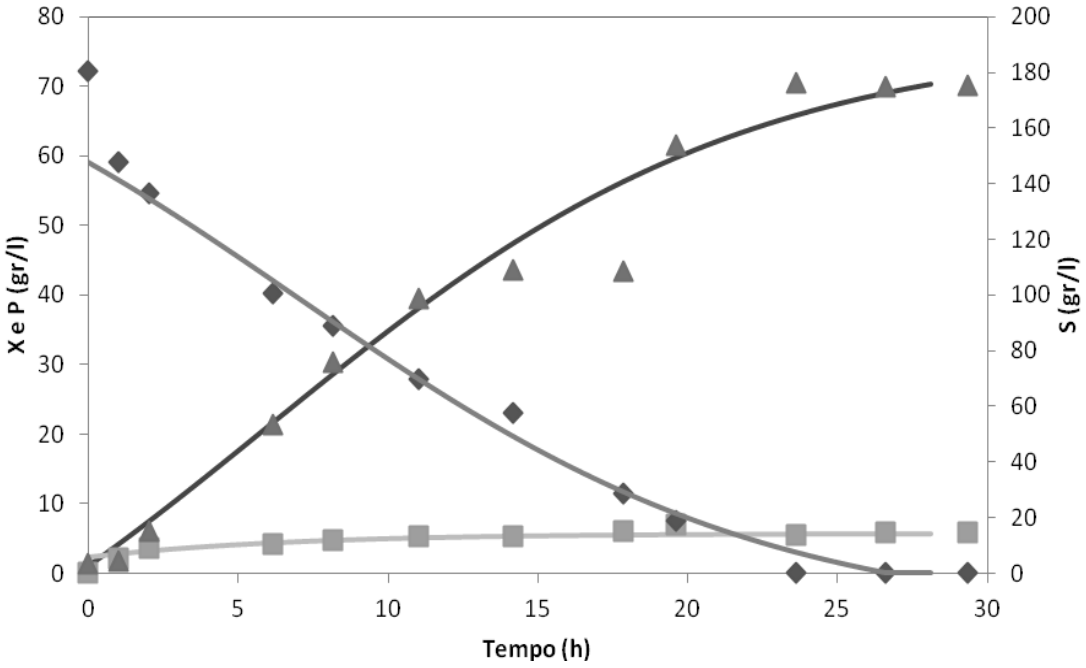


Figura A16. Dados Experimentais e Ajustados (–) dos Dados Cinéticos Da Batelada 9 na temperatura de 38ºC Sem Reciclo. Dados Experimentais São Para Concentração De Substrato, S(■); Biomassa, X(▲); Produtos, P(♦).

Tabela A17. Ajustes de Dados Experimentais à Curva Sigmoidal.

Parâmetro	Expressão para o parâmetro	r^2
Substrato	$y = -34{,}715 + 111{,}60/(1 + \exp\left(-\frac{x-6}{7{,}966}\right))$	0,994
Etanol	$y = 4{,}348 + 80{,}185/(1 + \exp\left(-\frac{x-11{,}431}{7{,}38012}\right))$	0,9832
Células Viáveis	$y = 1{,}33 + 9{,}8/(1 + \exp\left(-\frac{x-0{,}875}{7{,}4926}\right))$	0,9928

Os dados obtidos do da batelada 9 nas condições de T =36ºC e So=147,701 são apresentados na figura A17. Os dados correspondem a turbidez, pH, vazão de CO_2 e temperatura. A coleta de dados foi feita cada 3 minutos

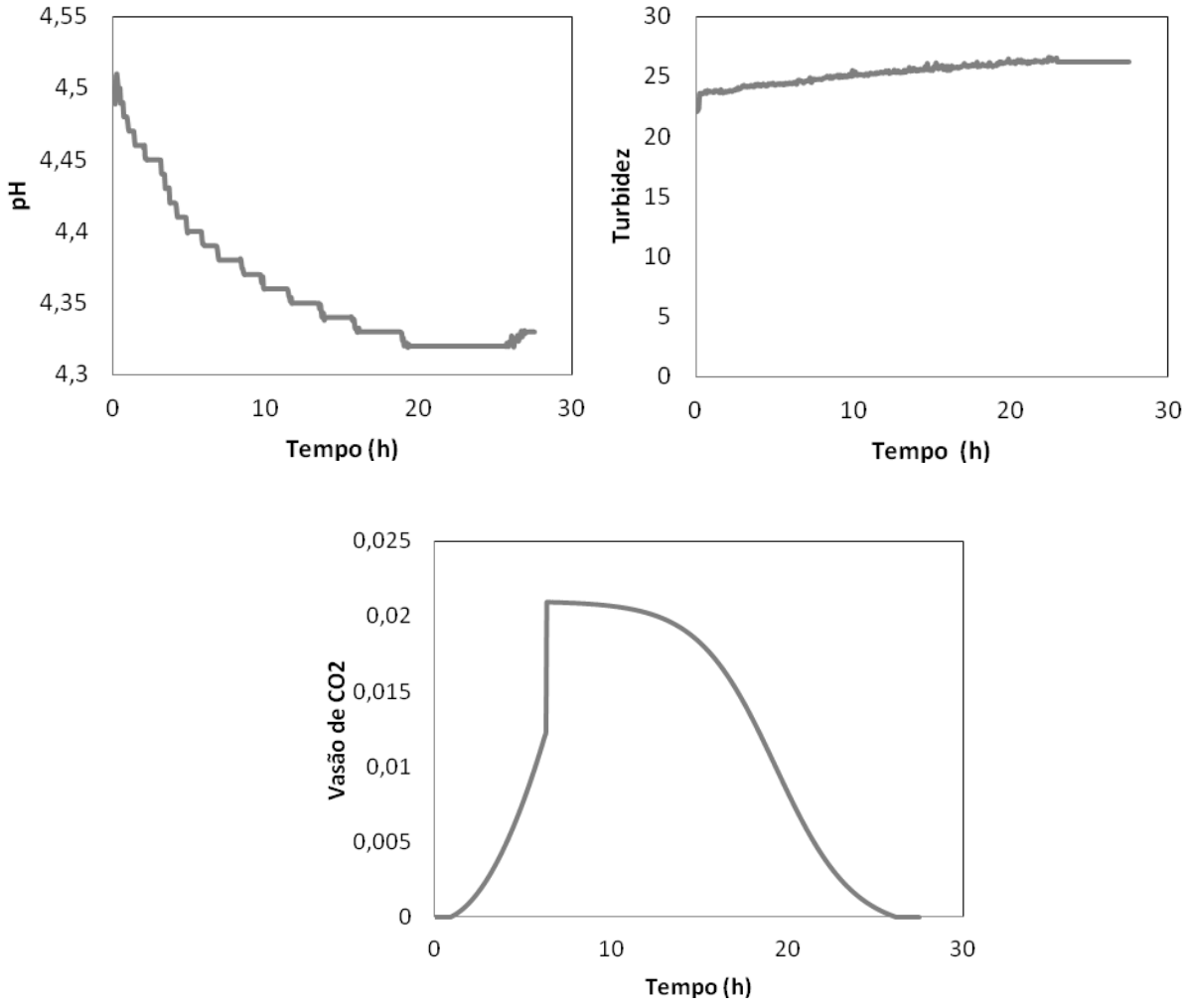


Figura A17. pH, Turbidez, Vazão de CO_2 ao Longo do Tempo de Fermentação.

Dados experimentais da batelada a T= 38°C e S_0 = 126,254 g/l. Batelada 10. Com reciclo da batelada 9. A viabilidade do processo é 100% por tanto não existe a morte de células, o dão usado é o valor da massa seca.

Tabela A18. Dados Experimentais da Batelada nº10.

	Concentrações (g/L)				
t (h)	Massa seca	Etanol	Substrato	Glicose	Frutose
0	3,53	15,348	126,254	43,812	53,928
4	3,6	24,252	112,797	40,8	59,712
10	4,54	35,028	84,823	23,136	49,452
13	5,03	52,986	77,079	18,516	45,9
16	5,09	56,856	61,222	13,896	36,288
19	5,62	60,636	54,926	10,152	32,376
22	6,09	64,482	42,978	6,114	26,4
25	6,16	73,659	26,169	5,625	20,544
28	6,43	78,885	16,122	0	16,122
30,92	6,42	81,216	13,092	0	13,092
35,42	6,09	77,244	0	0	0

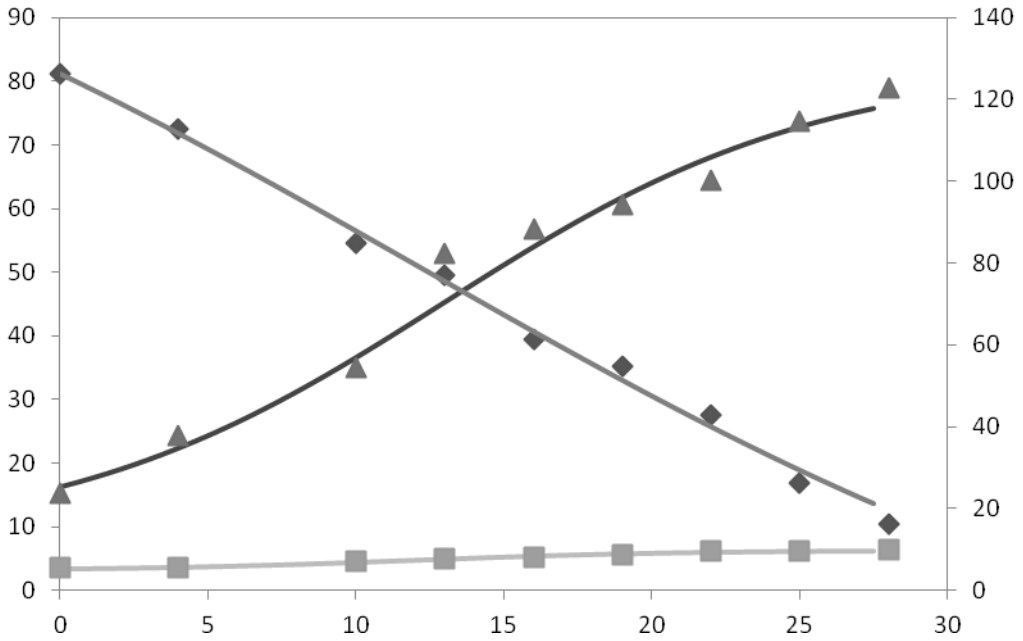


Figura A18. Dados Experimentais e Ajustados (–) dos Dados Cinéticos Da Batelada 10 na Temperatura de 38ºC Com Reciclo. Dados Experimentais São Para Concentração De Substrato, S(■); Biomassa, X(▲); Produtos, P(♦).

Tabela A19. Ajustes de Dados Experimentais à Curva Sigmoidal.

Parâmetro	Expressão para o parâmetro	r^2
Substrato	$y = -4{,}7022 + 156{,}287/(1 + \exp\left(-\frac{x - 13{,}237}{-6{,}684}\right))$	0,9954
Etanol	$y = 4{,}348 + 80{,}185/(1 + \exp\left(-\frac{x - 11{,}431}{7{,}38012}\right))$	0,9832
Células Viáveis	$y = 1{,}33 + 9{,}8/(1 + \exp\left(-\frac{x - 0{,}875}{7{,}4926}\right))$	0,9928

Os dados obtidos do da batelada 10 nas condições de T =36ºC e So=147,701 são apresentados na figura A19. Os dados correspondem a turbidez, pH, vazão de CO_2 e temperatura. A coleta de dados foi feita cada 3 minutos

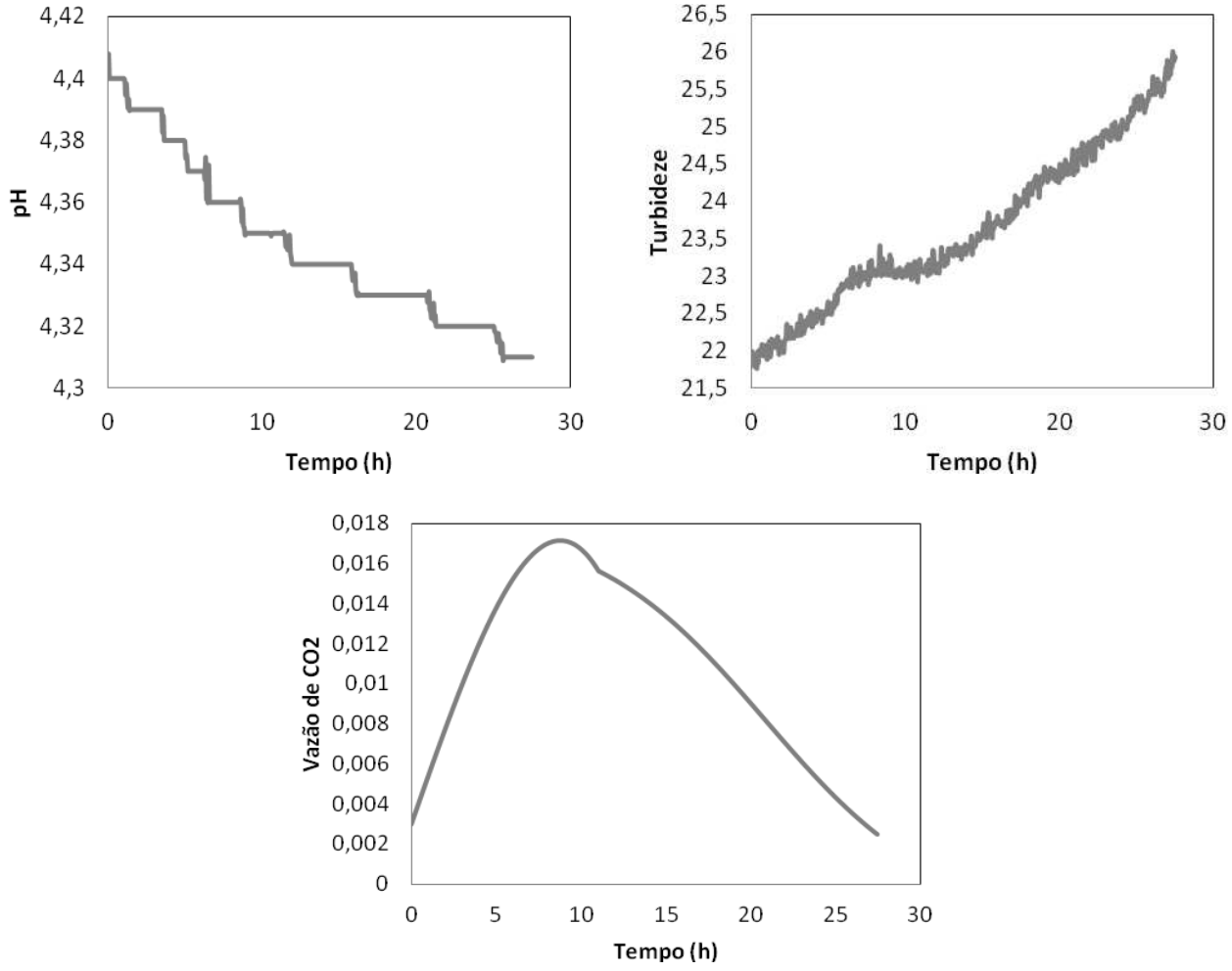


Figura A19. pH, Turbidez, Vazão de CO_2 ao Longo do Tempo de Fermentação.