



# A Engenharia de Sistemas Processuais em Biotecnologia, Química e Ambiente

Eugénio Campos Ferreira

**Grupo “Bio-Process Systems Engineering”**

(BioPSEg)



Departamento de Engenharia Biológica  
Universidade do Minho, Braga



# Âmbito da Apresentação

- ◆ Principais linhas de investigação do grupo de Engenharia de Sistemas Bioprocessuais (BioPSEg) do Centro de Engenharia Biológica da Universidade do Minho
- ◆ A actividade de investigação tem sido focalizada no desenvolvimento e aplicação de metodologias de engenharia de sistemas processuais (modelação, supervisão e controlo, análise de imagem e integração de processos) a processos biotecnológicos, químicos e ambientais
- ◆ O grupo tem privilegiado as metodologias que se baseiam na descrição dos processos por modelos determinísticos ou de conhecimento com aplicação em tarefas de supervisão (monitorização, diagnóstico e detecção de falhas) e controlo, tendo como finalidade a operação de processos assistida por computador



# Sumário

1. Modelação de Bioprocessos
2. Controlo Adaptativo e Sensores por Programação para estimativa de estado e de parâmetros
3. Desenvolvimento e Aplicação de Análise de Imagem
4. Quimiometria aplicada a Processos Ambientais
5. Supervisão e Controlo de Processos usando Sistemas Periciais
6. Projecto e Integração de Processos para Prevenção da Poluição: Síntese, Análise e Optimização



# Modelação de Bioprocessos

- ◆ Modelo dinâmico de reactores biológicos:
  - ◆ o fenómeno de transformação ou conversão (reacções químicas, bioquímicas e biológicas) de alguns componentes noutros componentes
  - ◆ o fenómeno de transporte/transferência de massa (convecção, difusão) por trocas de líquido e/ou de gás do reactor biológico com o ambiente exterior

$$\text{Acumulação} = \text{Conversão} + (\text{Entrada} - \text{Saída})$$



# Modelo Dinâmico Geral de Reactores Biológicos

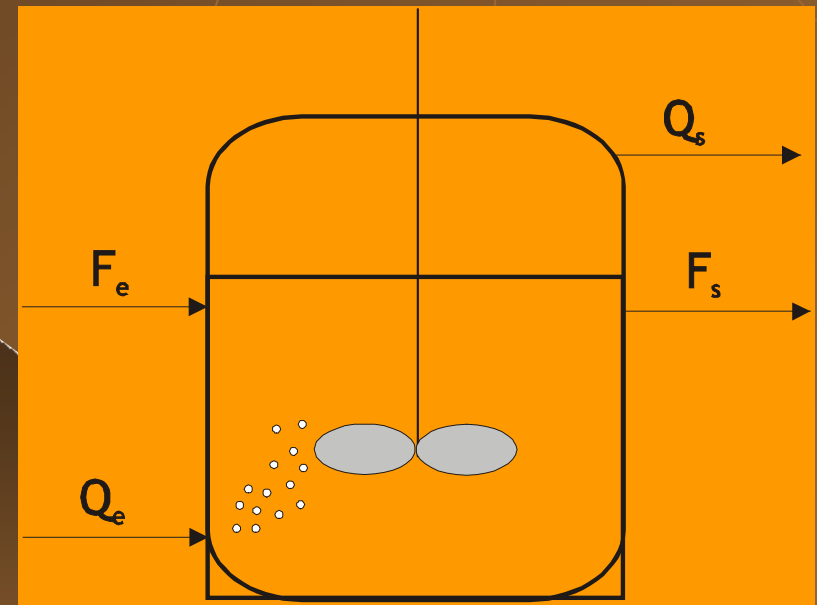
(BASTIN e DOCHAIN, 1990)

$m$  reacções e  $n$  componentes  $\rightarrow$

sistema  $n$  equações diferenciais ordinárias escritas para a concentração de cada componente (variável de estado):

$$\frac{d\xi_i}{dt} = \sum_{j=1, \dots, m} (\pm) k_{ij} r_j - D\xi_i + F_i - Q_i$$

$i=1, \dots, n \quad j=1, \dots, m$





# Modelo Dinâmico Geral de Reactores Biológicos

$$\frac{d\xi}{dt} = Kr(\xi, t) - D\xi + F - Q$$

- ◆ o termo  $Kr$  descreve a cinética das reacções químicas, biológicas ou bioquímicas
- ◆ os termos  $-D\xi + F - Q$  descrevem a dinâmica dos fenómenos de transporte no reactor.

$$\frac{dV}{dt} = F_e - F_s$$



# Modelação das taxas de reacção

$$r_j(\xi, t) \equiv \rho_j(\xi, t) \left( \prod_{k \& j} \xi_k \right)$$

$$0 \leq \rho_j(\xi, t) \leq \rho_{\max}$$

$$\rho^T = [\rho_1, \dots, \rho_m]$$

A função  $\rho_j(\xi, t)$ , denominado *taxa específica de reacção*, é um parâmetro desconhecido, variável no tempo, mas com variação em geral mais lenta de que  $r$ .

$$H(\xi) = \text{diag} \left\{ \prod_{k=j} \xi_k \right\}_{j=1, \dots, m} = \begin{bmatrix} \prod_{k=1} \xi_k & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \prod_{k=2} \xi_k & \dots & 0 \\ 0 & 0 & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & \dots & \prod_{k=m} \xi_k \end{bmatrix}$$

$$\frac{d\xi}{dt} = KH(\xi, t)\rho(\xi) - D\xi + F - Q$$



# A taxa específica de crescimento

$$r_j(\xi) \equiv \mu_j(\xi)X$$

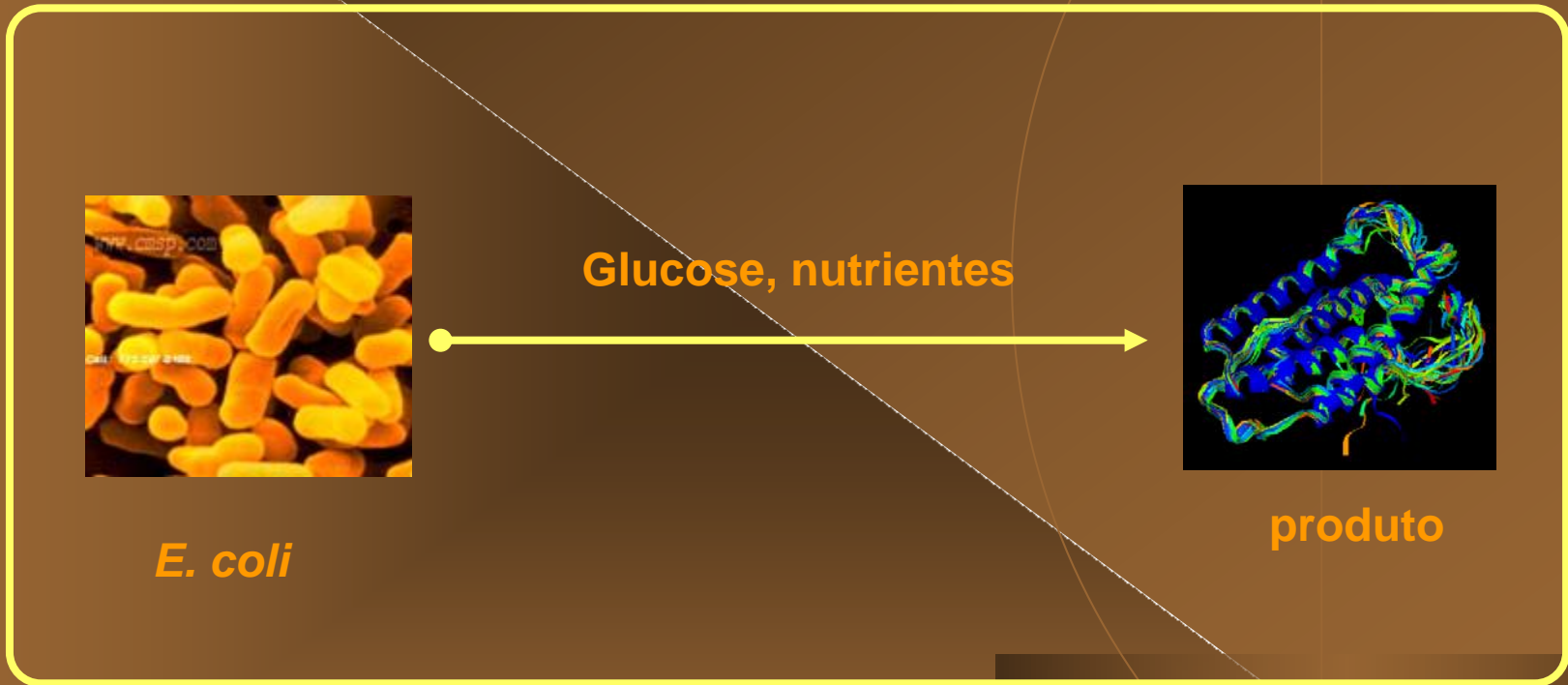
$$\mu = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt}$$

$$\mu(t) = \frac{\mu_{\max} S(t)}{k_m + S(t)}$$





# Produção de uma proteína através de fermentação com *E. coli* recombinante

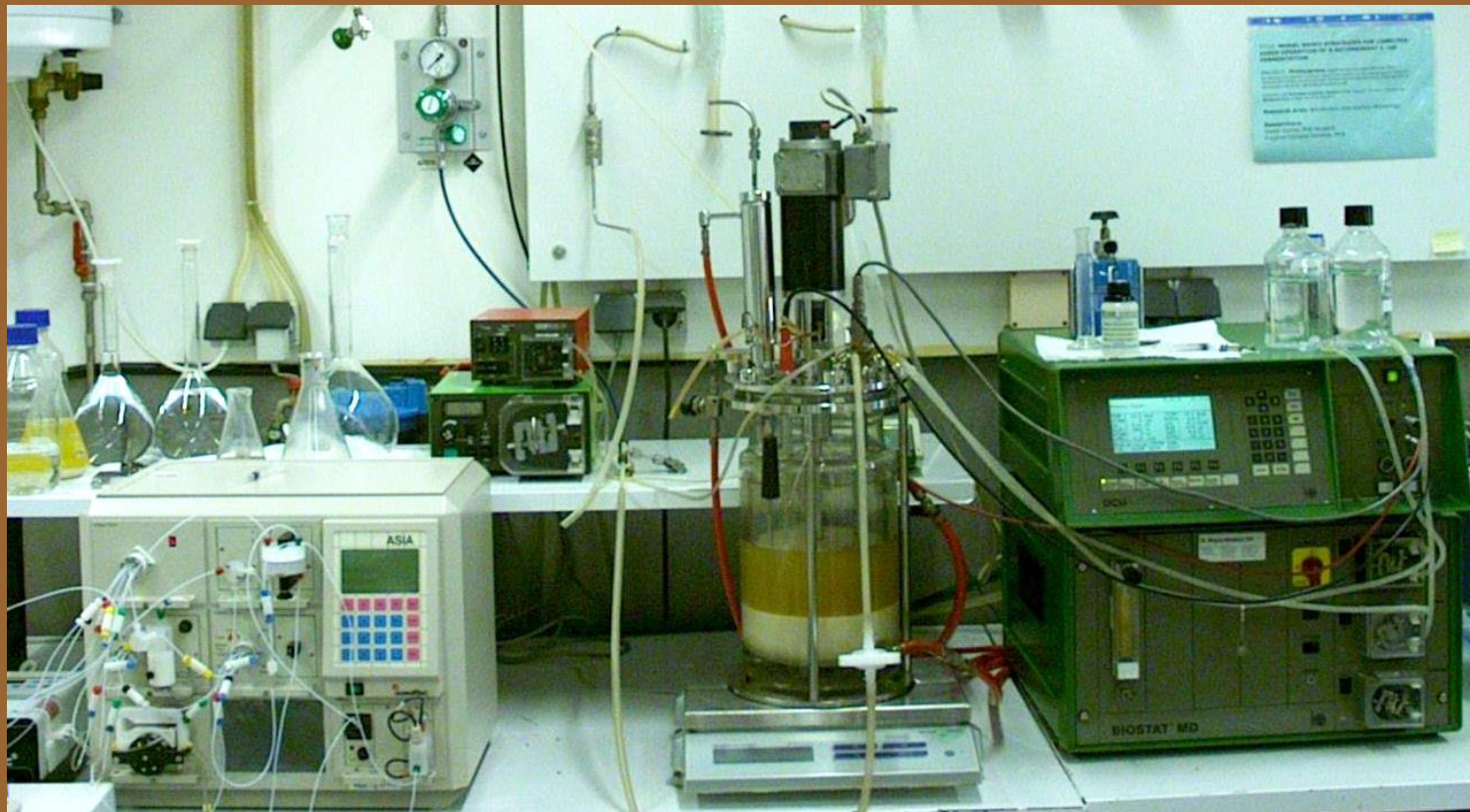


**Problema: inibição pelo acetato a altas concentrações de glucose**



# Produção de uma proteína através de fermentação com E. coli recombinante

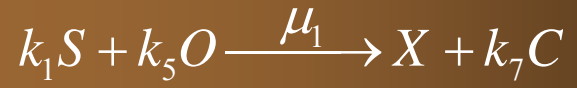
- ◆ Operação semi-contínua com perfil otimizado





# Desenvolvimento do Modelo

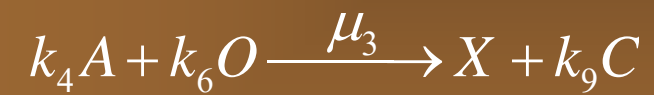
## Oxidative growth on glucose



## Fermentative growth on glucose



## Oxidative growth on acetate



$$\frac{d\xi}{dt} = Kr(\xi, t) - D\xi + F - Q$$

$\frac{d}{dt}$	=	$\begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 \\ -k_1 & -k_2 & 0 \\ 0 & k_3 & -k_4 \\ -k_5 & 0 & -k_6 \\ k_7 & k_8 & k_9 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} \mu_1 \\ \mu_2 \\ \mu_3 \end{bmatrix} X - D$	+	$\begin{bmatrix} X \\ S \\ Ac \\ O_2 \\ C \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 0 \\ DS_{in} \\ 0 \\ OTR \\ 0 \end{bmatrix}$	-	$\begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ CTR \end{bmatrix}$					



# Identificação de Modelos Cálculo de Coeficientes de Rendimento

$$\frac{d\xi}{dt} = Kr(\xi) - D(\xi) + U$$



2 partições de estado:  
 $\xi_a (\in R^p)$  e  $\xi_b (\in R^{n-p})$

$$Z \equiv A\xi_a + \xi_b \quad \text{em que} \quad AK_a + K_b = 0$$

Modelo Auxiliar

$$\frac{dZ}{dt} = -DZ + AU_a + U_b$$

$$Z \equiv AZ_a + Z_b$$

$$\frac{dZ_a}{dt} = -DZ_a + U_a$$

$$\frac{dZ_b}{dt} = -DZ_b + U_b$$

$$\underbrace{(Z_b - \xi_b)}_{y(t)} = A \underbrace{(\xi_a - Z_a)}_{\phi(t)}$$

$$\begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_{n-p} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \theta_1 & \theta_2 & \cdots & \theta_p \\ \theta_{p+1} & \theta_{p+2} & \cdots & \theta_{2p} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ \theta_{n-p+1} & \theta_{n-p+2} & \cdots & \theta_{(n-p) \times p} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \phi_1 \\ \phi_2 \\ \vdots \\ \phi_p \end{bmatrix}$$



# Identificação de Modelos

## Critérios de Optimalidade

$$J_l(k) = \int_0^{t_f} (y(k) - y_m)^T P (y(k) - y_m) dt$$

◆ estimação de parâmetros

$$MFisher = \frac{1}{N} \int_0^{t_f} \left( \frac{\partial y}{\partial k}(t) \right)^T P \left( \frac{\partial y}{\partial k}(t) \right) dt$$

◆ medida da riqueza informativa: Matriz de Informação de Fisher

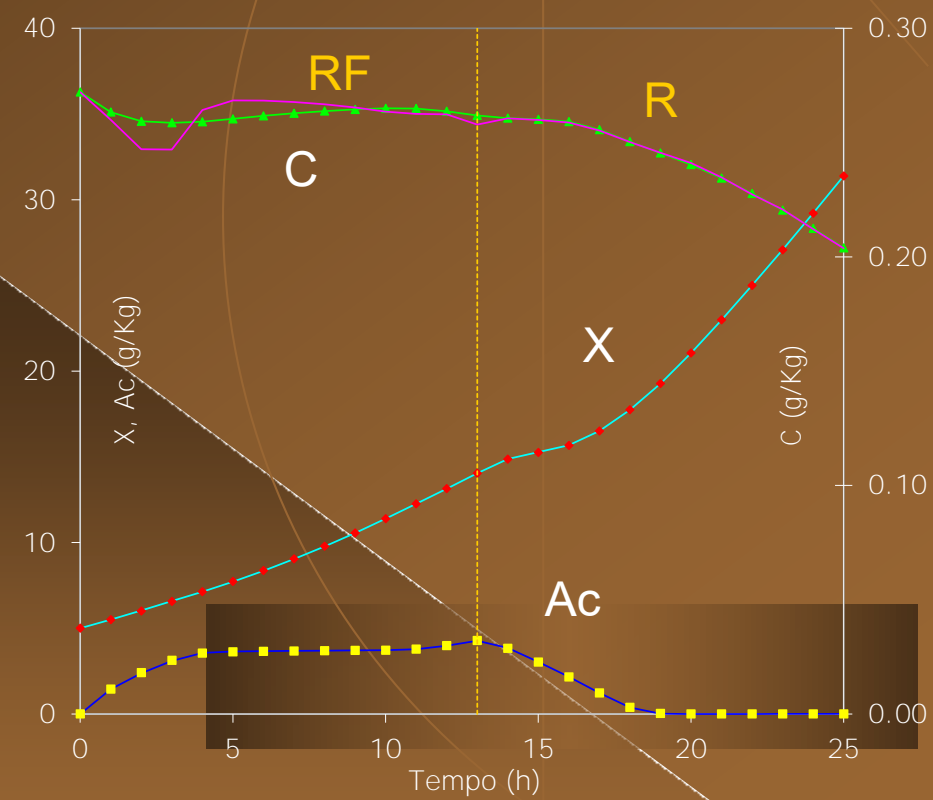
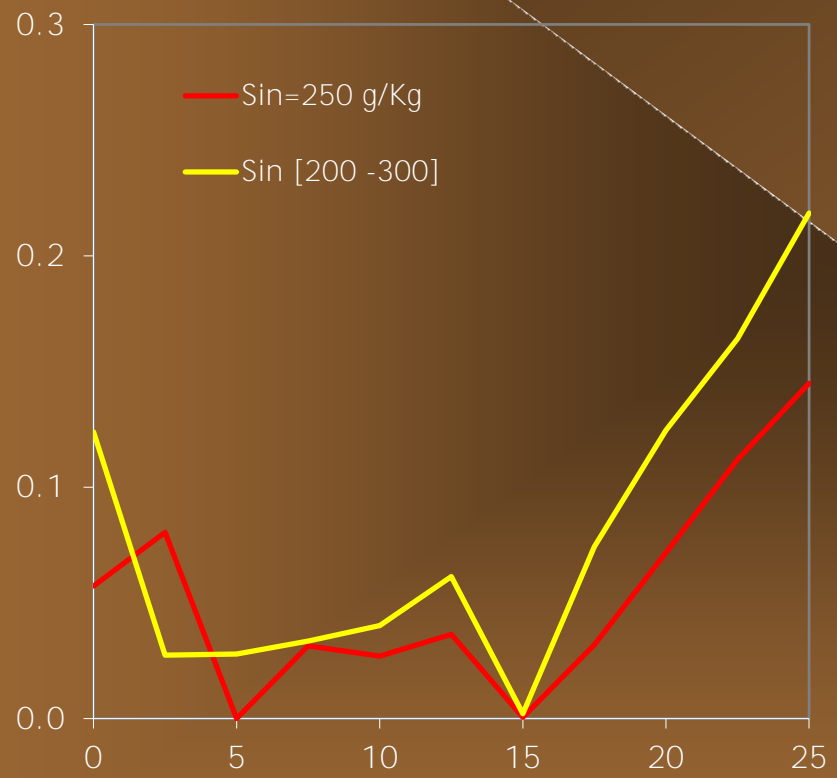
$$MF \begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_{n-p} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \theta_1 & \theta_2 & \dots & \theta_p \\ \theta_{p+1} & \theta_{p+2} & \dots & \theta_{2p} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ \theta_{n-p+1} & \theta_{n-p+2} & \dots & \theta_{(n-p) \times p} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \phi_1 \\ \phi_2 \\ \vdots \\ \phi_p \end{bmatrix} dt$$

Critérios de Optimalidade:

- ◆ D  $\max \det(MFisher)$
- ◆ E  $\max \lambda_{\min}$



# Perfis Óptimos e validação



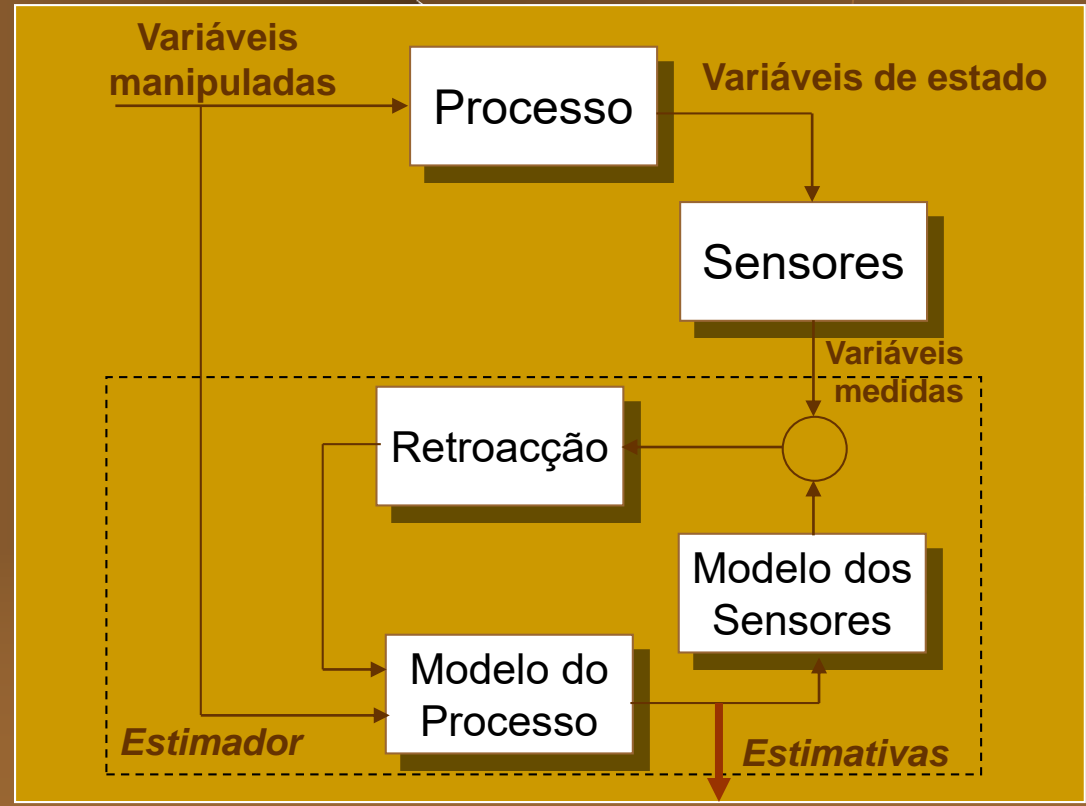
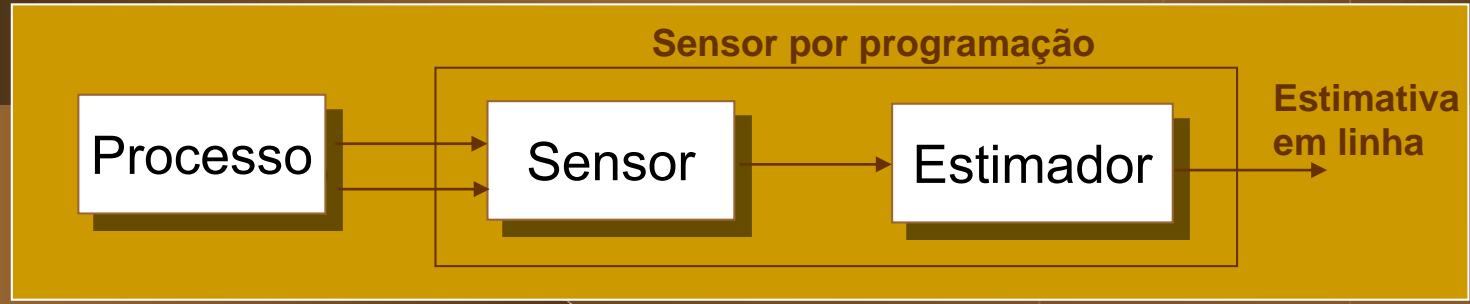


# Controlo Adaptativo e Sensores por Programação para estimativa de estado e de parâmetros

- ◆ Projecto de algoritmos para estimação em linha de variáveis de estado não mensuráveis em linha (observadores) e de parâmetros (taxas específicas de crescimento) em processos biotecnológicos
- ◆ Estudo de questões associadas à sintonização destes sensores por programação
- ◆ Desenvolvimento de leis de controlo adaptativo para a regulação de processos fermentativos



# Sensores por programação (Soft-Sensors)







# Observadores de estados

$$\frac{d\xi}{dt} = Kr(\xi, t) - D\xi + F - Q$$

$$\frac{d\hat{\xi}}{dt} = Kr(\hat{\xi}, t) - D\hat{\xi} + F - Q + \Omega(\hat{\xi})[\xi_1 - \hat{\xi}_1]$$

em que  $\hat{\xi}$  e  $\hat{\xi}_1$  representam a estimativa em linha de  $\xi$  e  $\xi_1$  respectivamente,  $\Omega(\hat{\xi})$  é uma matriz de ganhos de dimensão  $n \times q$ , função de  $\hat{\xi}$ .

sendo  $p$  a *característica* da matriz  $K$ , tem-se

$$K_1 \in \mathbb{R}^{p \times m}, K_2 \in \mathbb{R}^{(n-p) \times m}, \xi_1, F_1, Q_1 \in \mathbb{R}^p \text{ e } \xi_2, F_2, Q_2 \in \mathbb{R}^{(n-p)}$$



# Enunciado

- ◆ *Problema:* Estimação em linha do vector  $\xi_2$  de  $(n - q)$  variáveis de estado, dados:
  - ◆ taxas de reacção  $r(\xi)$  desconhecidas
  - ◆  $\xi_1$ ,  $D$ ,  $F$  e  $Q$  medidos em linha
  - ◆ coeficientes de rendimento conhecidos (matriz  $K$ )
  - ◆ o número  $q$  de variáveis de estado medidas igual ou maior do que a característica da matriz  $K$



# Observadores de estados

$$\frac{d\xi_1}{dt} = K_1 r(\xi_1, \xi_2, t) - D\xi_1 + F_1 - Q_1$$

$$\frac{d\xi_2}{dt} = K_2 r(\xi_1, \xi_2, t) - D\xi_2 + F_2 - Q_2$$

$$Z \equiv A\xi_1 + \xi_2, \quad AK_1 + K_2 = 0, \quad A = -K_2 K_1^{-1}$$

$$\frac{dZ}{dt} = -DZ + A(F_1 - Q_1) + (F_2 - Q_2)$$

- ◆ Note-se nesta última equação a ausência explícita do termo relativo às velocidades das reacções.
- ◆ A dinâmica de Z será independente da matriz A na situação de  $(F_1 - Q_1)$  igual a zero.



# Observador assimpptótico

(Bastin e Dochain, 1990)

$$Z \equiv A\xi_1 + \xi_2$$

$$\frac{d\hat{Z}}{dt} = -D\hat{Z} + A(F_a - Q_a) + (F_b - Q_b)$$

$$\hat{\xi}_2 = \hat{Z} - A\xi_1$$



# Estimadores de cinética

$$\frac{d\xi}{dt} = KH(\xi, t)\rho(\xi) - D\xi + F - Q$$

$$r(\xi) \equiv H(\xi)\rho(\xi)$$

*Problema:* Estimação em linha do vector  $\rho(\xi, t)$  dados:

- ◆ vector de variáveis de estado  $\xi$  conhecido por medição em linha e estimação por observador
- ◆  $D$ ,  $F$  e  $Q$  medidos em linha
- ◆ coeficientes de rendimento conhecidos (matriz  $K$ )
- ◆ matriz  $H(\xi)$  de funções conhecidas

$$\frac{d\hat{\xi}}{dt} = KH(\xi)\hat{\rho}(t) - D\xi + F - Q - \Omega_1(\xi - \hat{\xi})$$

$$\frac{d\hat{\rho}}{dt} = \Omega_2(\xi - \hat{\xi})$$



# Estimador baseado num observador

(Bastin e Dochain, 1990)

$$\frac{d\hat{\xi}}{dt} = KH(\xi)\hat{\rho}(t) - D\xi + F - Q - \Omega(\xi)(\xi - \hat{\xi})$$

$$\frac{d\hat{\rho}}{dt} = [KH(\xi)]^T \Gamma(\xi)(\xi - \hat{\xi})$$

- ◆ Normalmente, as matrizes  $\Omega$  e  $\Gamma$  tomam a seguinte forma:
  - ◆  $\Omega \equiv \text{diag}\{-\omega_i\}$ ,  $\Gamma \equiv \text{diag}\{\gamma_j\}$
  - ◆  $\omega_i, \gamma_j \in \mathbb{R}^+$  com  $i=1, \dots, n$  e  $j=1, \dots, r$



# Estimador baseado num observador (alternativa)

- ◆  $\psi \equiv K_s^{-1} \xi_s$
- ◆ Esta transformação é introduzida para desacoplamento do modelo dinâmico geral relativamente às taxas de reacção

$$\frac{d\psi}{dt} = H(\xi)\rho(\xi) - D\psi + K_s^{-1}(F_s - Q_s)$$

$$\frac{d\hat{\psi}}{dt} = H\hat{\rho} - D\psi + K_s^{-1}(F_s - Q_s) - \Omega_1(\psi - \hat{\psi})$$

$$\frac{d\hat{\rho}}{dt} = \Omega_2(\psi - \hat{\psi})$$

$$\Omega_1 \equiv \text{diag}\{-\omega_{1,i}X\}$$

$$\Omega_2 \equiv \text{diag}\{\omega_{2,i}X\}$$

em que  $\omega_{1,i}, \omega_{2,i} \in \mathbb{R}^+$  com  $i=1, \dots, r$ .



# Estimadores de dinâmica de 2ª ordem

$$\frac{d(\psi - \hat{\psi})}{dt} = H(\rho - \hat{\rho}) - \Omega_1(\psi - \hat{\psi})$$

$$\frac{d^2 \hat{\rho}}{dt^2} = \Omega_2 \frac{d(\psi - \hat{\psi})}{dt}$$

- ◆  $\Omega_1 \equiv \text{diag}\{-\omega_i\}$
- ◆  $\Omega_2 \equiv H^T(\xi)\Gamma$ , com  $\Gamma \equiv H^{-1}(\xi) \cdot \text{diag}\{\gamma_i\}$
- ◆ Se  $H(\xi)$  for uma matriz diagonal obtém-se:

$$\tau_i^2 \frac{d^2 \hat{\rho}_i}{dt^2} + 2\zeta_i \tau_i \frac{d\hat{\rho}_i}{dt} + \hat{\rho}_i = \rho_i \quad i=1, \dots, r$$

com  $\tau_i = (\gamma_i h_i)^{-0.5}$  e  $\zeta_i = 0.5 \omega_i (\gamma_i h_i)^{-0.5}$



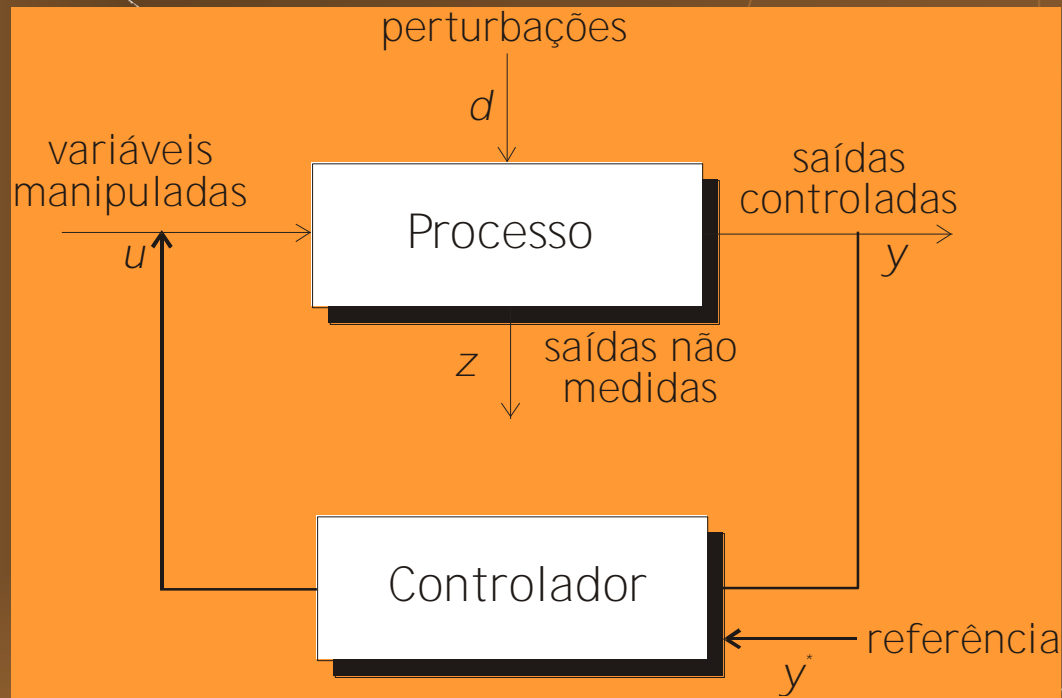


# Controlo Adaptativo

- ◆ A síntese das leis de controlo não linear é realizada por técnicas de geometria diferencial com linearização do sistema por retroacção de estado.
- ◆ A adaptação é feita com base na estimação de parâmetros variáveis no tempo.
- ◆ Os controladores, obtidos por redução de ordem do modelo de estado, foram aplicados na produção de fermento de padeiro e na produção de proteínas recombinantes em cultura de alta densidade celular de *Escherichia coli*

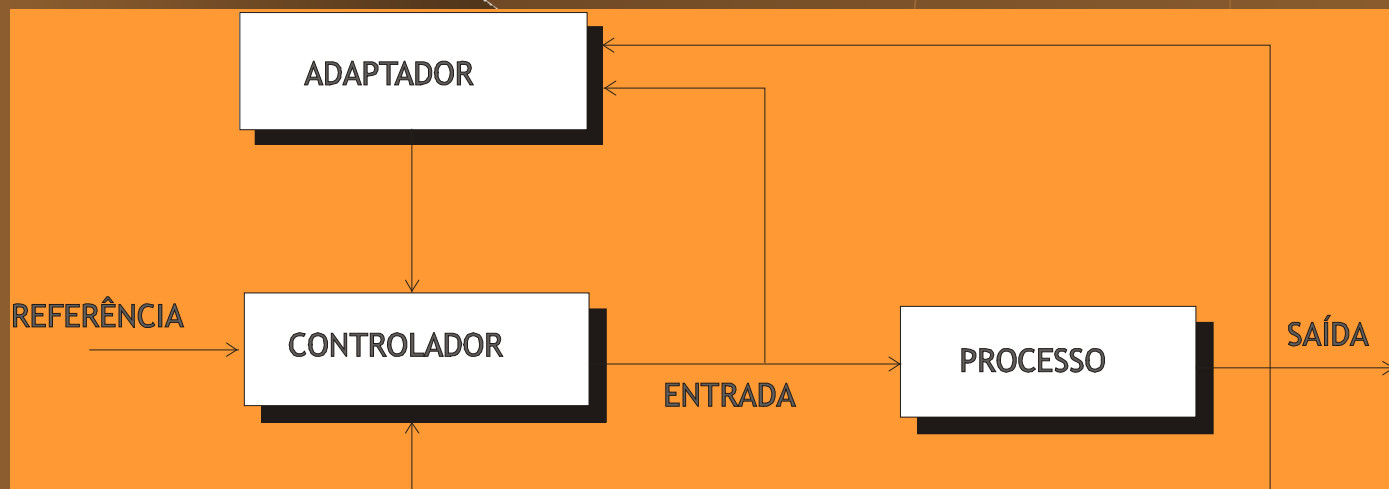


# Controlo por retroacção





# Controlo Adaptativo





## E. coli: vias metabólicas

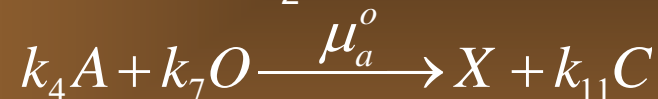
### Oxidative growth on glucose



### Fermentative growth on glucose



### Oxidative growth on acetate



### Maintenance





## Modelo Dinâmico para Biorreactores

$$\frac{d\xi}{dt} = Kr - D\xi + u$$

*Escherichia coli*

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} X \\ S \\ A \\ O \\ C \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 & 0 \\ -k_1 & -k_2 & 0 & -1 \\ 0 & k_3 & -k_4 & -k_5 \\ -k_6 & 0 & -k_7 & -k_8 \\ k_9 & k_{10} & k_{11} & k_{12} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mu_s^o \\ \mu_s^f \\ \mu_a^o \\ m \end{bmatrix} X - D \begin{bmatrix} X \\ S \\ A \\ O \\ C \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 \\ DS_{in} \\ 0 \\ OTR \\ -CTR \end{bmatrix}$$



## Estado Oxidativo

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} X \\ S \\ A \\ O \\ C \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 \\ -k_1 & 0 & -1 \\ 0 & -k_4 & -k_5 \\ -k_6 & -k_7 & -k_8 \\ k_9 & k_{11} & k_{12} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mu_s^o \\ \mu_a^o \\ m \end{bmatrix} X - D \begin{bmatrix} X \\ S \\ A \\ O \\ C \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 \\ DS_{in} \\ 0 \\ OTR \\ -CTR \end{bmatrix}$$

## Estado Oxidativo-Fermentativo

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} X \\ S \\ A \\ O \\ C \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 \\ -k_1 & -k_2 & -1 \\ 0 & k_3 & 0 \\ -k_6 & 0 & -k_8 \\ k_9 & k_{10} & k_{12} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mu_s^o \\ \mu_s^f \\ m \end{bmatrix} X - D \begin{bmatrix} X \\ S \\ A \\ O \\ C \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 \\ DS_{in} \\ 0 \\ OTR \\ -CTR \end{bmatrix}$$



# Redução de ordem do modelo

- ◆ A estrutura cinética é difícil de modelar sendo, portanto, considerada desconhecida
- ◆ É necessário obter um modelo reformulado sem o conhecimento dos termos cinéticos
- ◆ Assumindo que alguns componentes de estado, com dinâmicas rápidas, estão em estado pseudo-estacionário, é possível aplicar a técnica da perturbação singular e reformular o modelo





# Redução de ordem do modelo

- ◆ Glucose, Oxigénio e CO<sub>2</sub> exibem dinâmicas rápidas enquanto que a Biomassa e o Acetato exibem dinâmicas lentas

$$\frac{dS}{dt} = 0; \quad \frac{dO}{dt} = 0; \quad \frac{dC}{dt} = 0$$

- ◆ As taxas de crescimento são obtidas como funções do vector  $u$  para ambos os modelos parciais:

$$\begin{bmatrix} \mu_s^o X \\ \mu_a^f X \\ mX \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} f_{11}(K) & f_{12}(K) & f_{13}(K) \\ f_{21}(K) & f_{22}(K) & f_{23}(K) \\ f_{31}(K) & f_{32}(K) & f_{33}(K) \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} -DS_{in} \\ -OTR \\ CTR \end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} \mu_s^o X \\ \mu_s^f X \\ mX \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} g_{11}(K) & g_{12}(K) & g_{13}(K) \\ g_{21}(K) & g_{22}(K) & g_{23}(K) \\ g_{31}(K) & g_{32}(K) & g_{33}(K) \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} -DS_{in} \\ -OTR \\ CTR \end{bmatrix}$$





# Redução de ordem do modelo

- ◆ Substituindo as equações algébricas na equação dinâmica do acetato obtém-se o modelo de entrada-saída:

$$\frac{dA}{dt} = -\theta_1 CTR - \theta_2 OTR + \theta_3 DS_{in} - DA$$

- ◆  $\theta_1$ ,  $\theta_2$  e  $\theta_3$  são funções dos coeficientes de rendimento dependendo em cada instante do regime metabólico em vigor

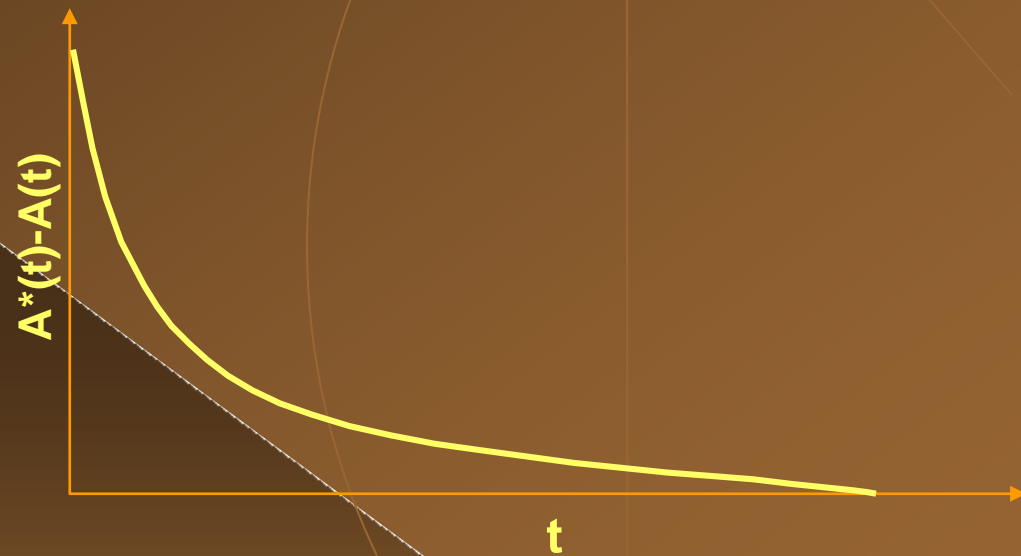


# Lei de controlo

- ◆ Objectivo: controlar  $A$  que seguirá a referência  $A^*$
- ◆ Seleccção de uma dinâmica estável de 1ª ordem para o ciclo fechado

$$\frac{d}{dt}(A^* - A) + \lambda(A^* - A) = 0$$

$\lambda$  - ganho do controlador



- ◆ Combinar este modelo de referência com o modelo de entrada-saída:

$$\frac{dA}{dt} = -\theta_1 CTR - \theta_2 OTR + \theta_3 DS_{in} - DA$$



# Lei de controlo

- ◆ Obtém-se a seguinte lei de regulação adaptativa linearizante

$$D(t) = \frac{\hat{\theta}_1 CTR + \hat{\theta}_2 OTR + \lambda_1 (A^* - A)}{\hat{\theta}_3 S_{in} - A}$$

- ◆ Forma discretizada da lei de regulação:

$$D_k = \frac{\hat{\theta}_{1,k} CTR_k + \hat{\theta}_{2,k} OTR_k + \lambda_1 (A^* - A_k)}{\hat{\theta}_{3,k} S_{in} - A_k}$$



# Leis de estimação

- ◆ Forma discreta das leis de adaptação de  $\theta_i$  (estimador de 2ª ordem):

$$\hat{\theta}_{1,k+1} = \hat{\theta}_{1,k} + T \frac{A^* - A_k}{CTR_k \tau^2}$$

$$\hat{\theta}_{2,k+1} = \hat{\theta}_{2,k} + T \frac{A^* - A_k}{OTR_k \tau^2}$$

$$\hat{\theta}_{3,k+1} = \hat{\theta}_{3,k} + T \frac{A^* - A_k}{D_k S_{in} \tau^2}$$

ERRORS Initial Values Graphics

stop  
STOP

Path  
C:\Irocha\Fermentação\Fed-Batch\02-06-30\02-06-30.xls

GAS

9.92

0.25

Tools

- Wrench and screwdriver
- Hand cursor
- Arrow cursor
- Text tool
- Eraser
- Selection tool
- Hand cursor
- Red stop button
- Yellow plus button
- Red pipette
- Printer icon
- Pen icon

N<sub>2</sub> 78.20 %  
O<sub>2</sub> 18.40 %  
CO<sub>2</sub> 3.60 %

Feed

-378.8 g

26.30 %

Temp (°C) 36.9  
pH 6.98  
pO<sub>2</sub> (%) 28.3  
STIRR 505

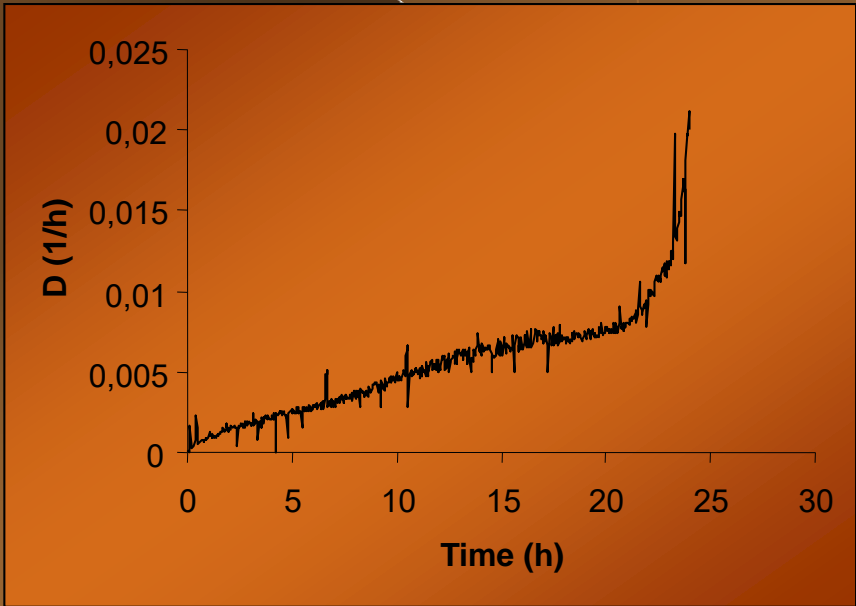
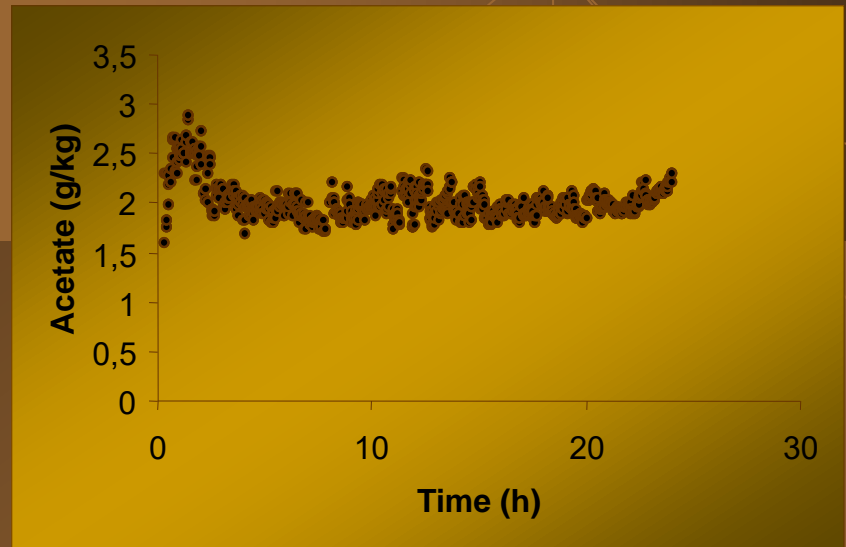
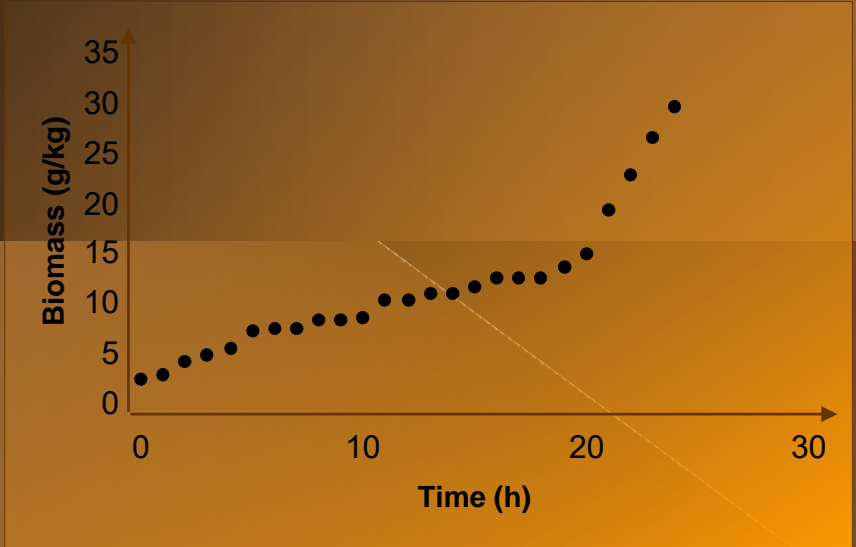
37.0 7.00 30.0

Acid 2.3 mL  
Base 50.0 mL

3.650 kg

Control box with green light

2.32 g/kg acetate  
0.23 g/kg glucose





# Desenvolvimento e Aplicação de Análise de Imagem

## ◆ Oportunidades para Aplicação de Análise de Imagem:

- ◆ Desenvolvimento de computadores mais rápidos
- ◆ Placas avançadas de aquisição de imagem
- ◆ Software sofisticado



\$/qualidade



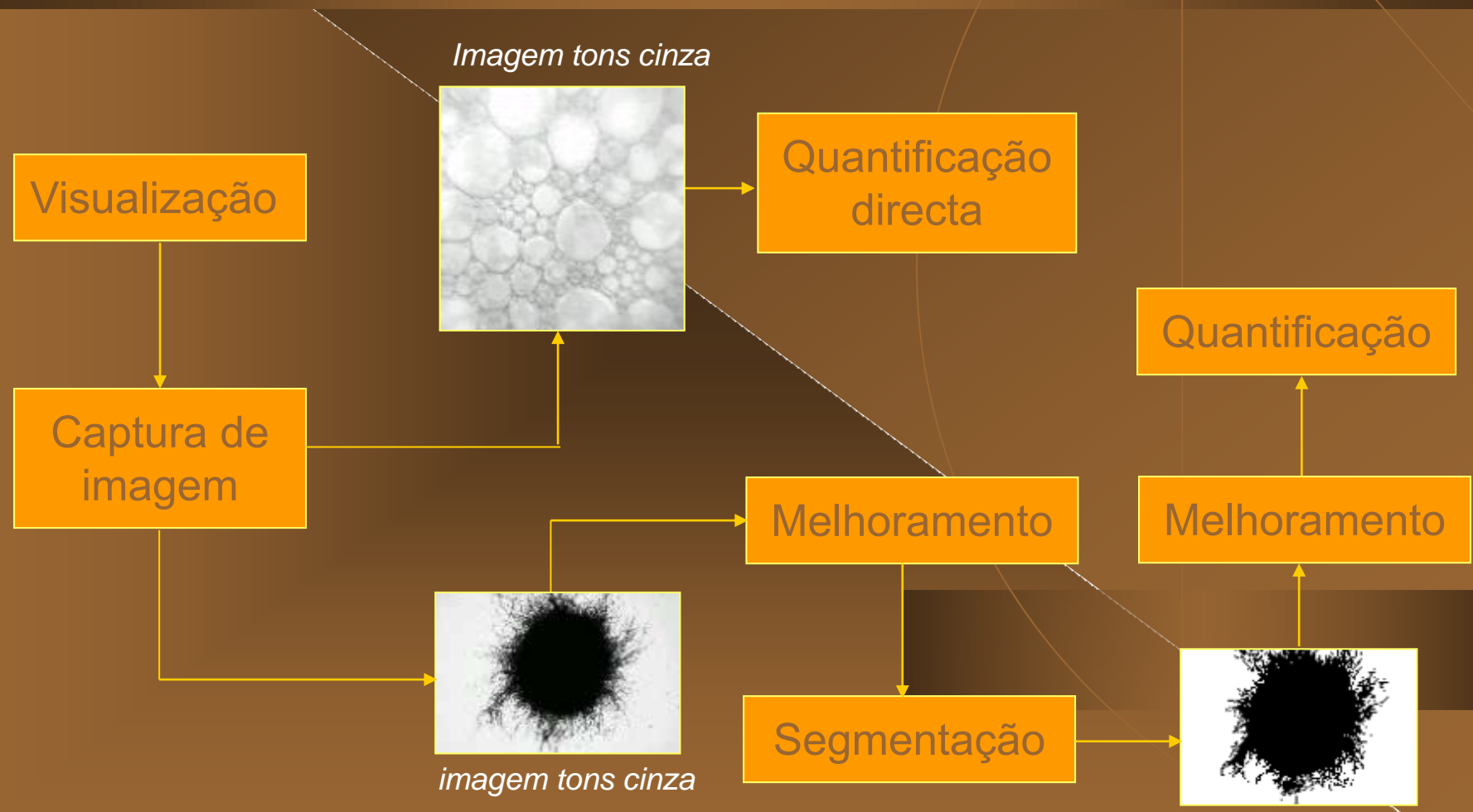
## ◆ A análise de Imagem possibilita:

- ◆ Melhoramento de imagens
- ◆ Identificação automática de partículas
- ◆ Meio rápido de obtenção de informação morfológica: poupança de tempo e recursos





# Princípios do Processamento de Imagem







# Desenvolvimento de software para aplicações de análise de imagem em tratamento de efluentes e biotecnologia

- ◆ Reconhecimento e identificação de diversas espécies de protozoários presentes em Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETAR)
- ◆ Caracterização morfológica de agregados microbianos em digestores anaeróbios
- ◆ Descrição da morfologia de agregados microbianos e abundância de bactérias filamentosas numa ETAR
- ◆ Estudo da morfologia e fisiologia de leveduras



# Análise de Imagem em Lamas Activadas

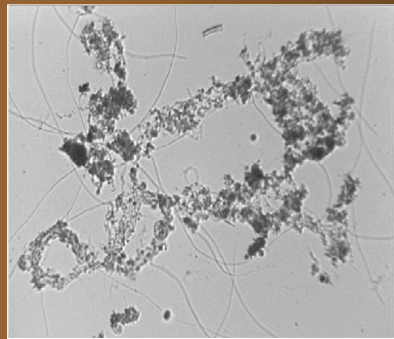
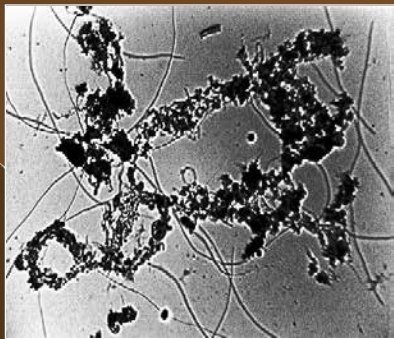


Imagem inicial



Melhoramento

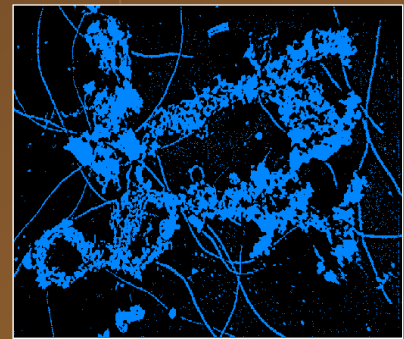
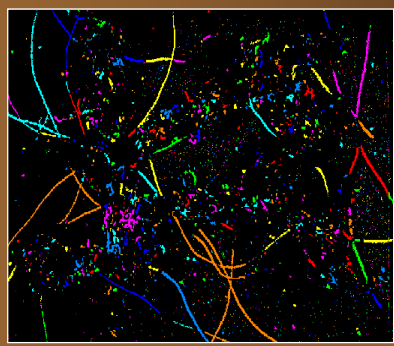


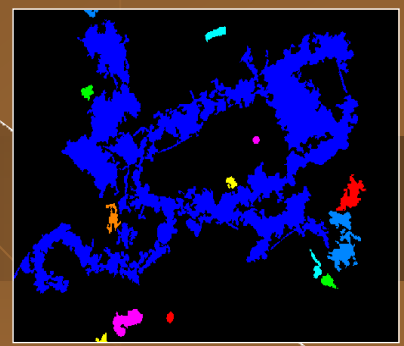
Imagem binária



Marcação



Filamentos

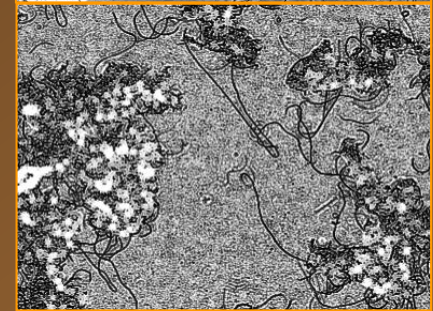
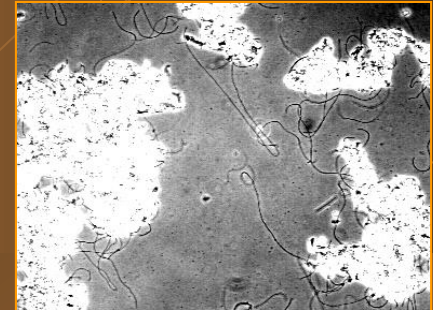


Flocos



# Programa “filamentos”

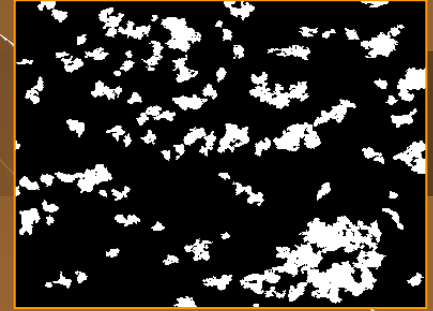
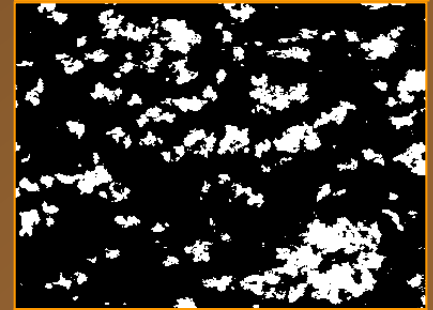
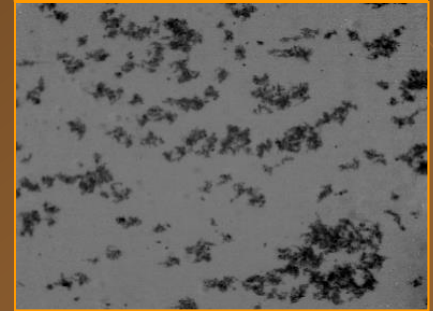
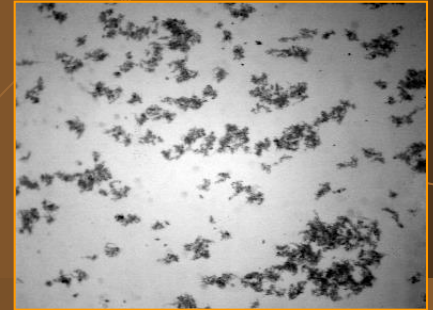
- ◆ **Pré-processamento:** filtro “Chapéu Mexicano”, homogeneização do fundo, filtro de *Wiener* e equalização do fundo
- ◆ **Segmentação:** segmentação dos flocos; eliminação dos flocos e segmentação dos filamentos
- ◆ **Pós-processamento:** redução ao esqueleto, remoção dos ramos falsos, eliminação dos filamentos inferiores a 15 pixéis e dos flocos pequenos
- ◆ **Caracterização dos filamentos:** Número de Filamentos, Comprimento do Filamento e Comprimento Total





# Programa “Flocos”:

- ◆ **Pré-processamento:** homogeneização do fundo
- ◆ **Segmentação:** valor fixo de limiar
- ◆ **Pós-processamento:** limpeza do bordo, remoção de pequenos detritos
- ◆ **Caracterização dos flocos:** Área do floco, Área Total, Solidez, Extensão, Excentricidade, Convexidade, Factor de Forma e Esfericidade





# Granulação em Digestão Anaeróbia

Alguns passos de processamento de imagem para *Flocs*

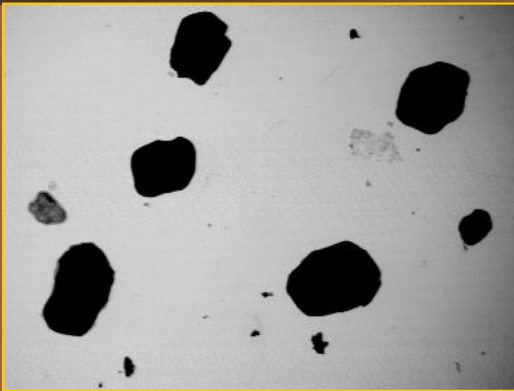
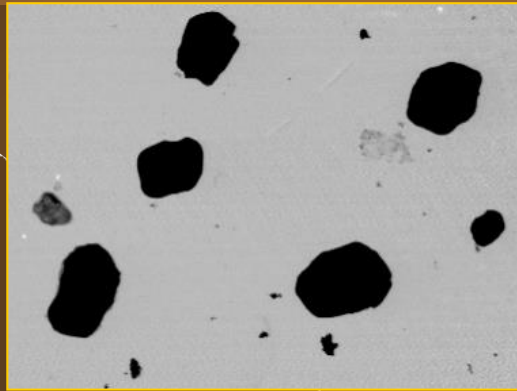


Imagem adquirida



Após subtracção do fundo

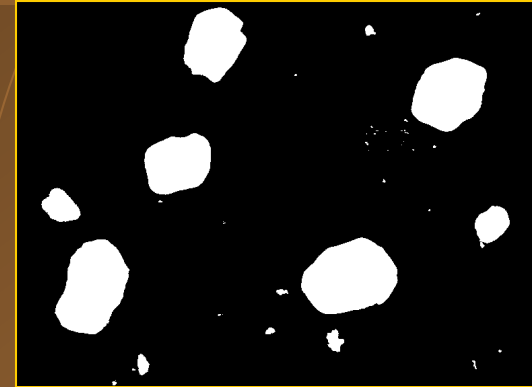


Imagem final

O programa *Flocs* consiste em 3 passos principais:

- **Melhoramento da imagem e binarização:** subtracção da imagem de fundo e binarização através de um valor limiar definido.
- **Identificação do floco:** Eliminação de objectos (detritos) inferiores a 5x5 pixéis; “border-kill” e identificação dos flocos restantes.
- **Caracterização do floco:** determinação de parâmetros morfológicos: área, diâmetro equivalente, largura (diâmetro de Feret mínimo) e esferecidade.



# Alguns passos de processamento de imagem do programa *Filaments*

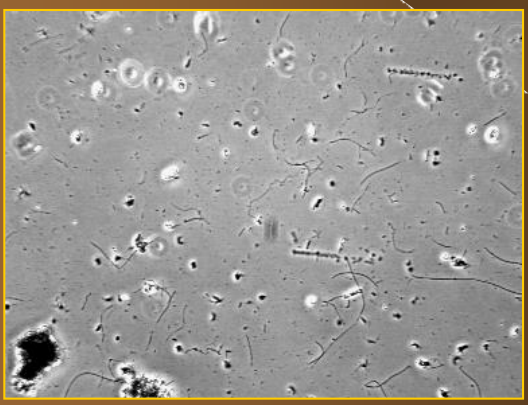


Imagem adquirida

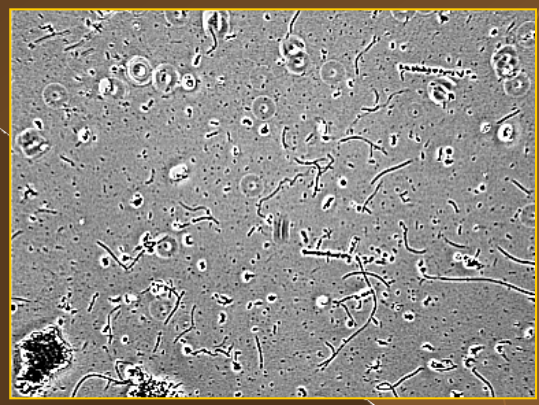
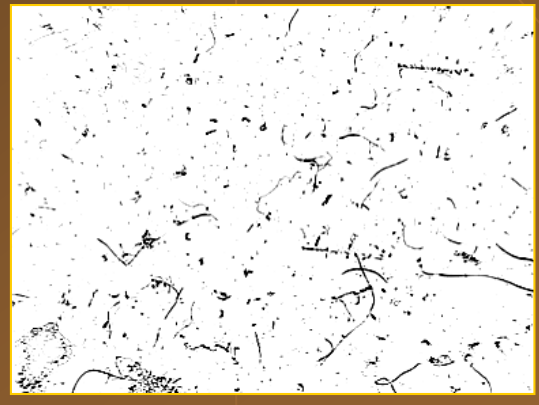


Imagem "Mexican hat"



Homogeneização

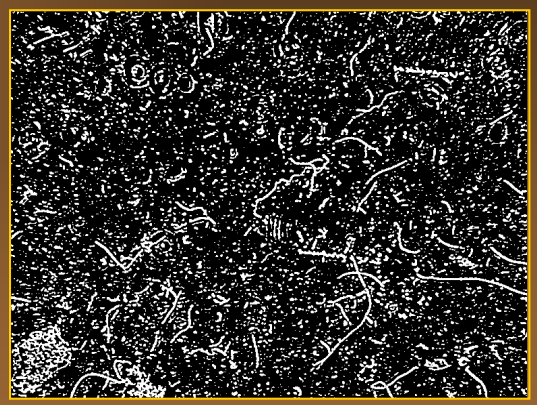


Imagem binária inicial



Imagem de Filamentos



# Outras aplicações de AI em Digestão Anaeróbica

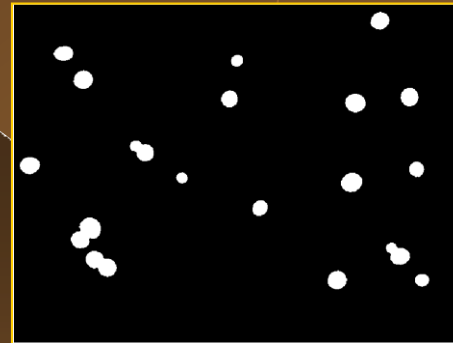
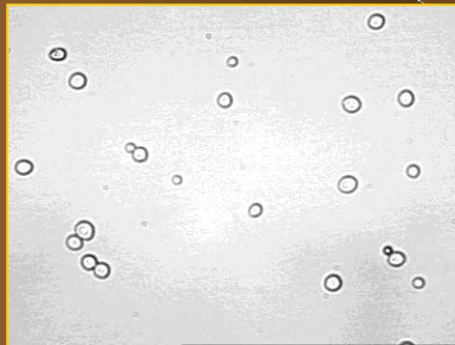
- ◆ Detecção automática da desintegração de grânulos em lamas anaeróbicas de reactores EGSB de tratamento de ácido oleico
- ◆ Utilitário para a determinação do tempo de granulação
- ◆ Combinação com técnicas de biologia molecular e testes de actividade
- ◆ Caracterização de lamas anaeróbicas em situações de choques



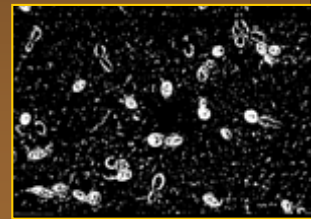
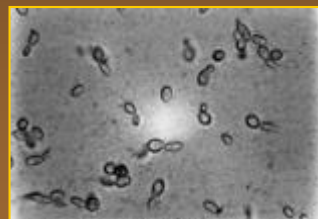
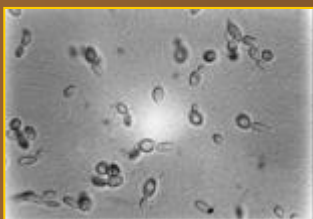


# AI em Processos de Fermentação

- ◆ Classificação da morfologia de *Saccharomyces cerevisiae*



- ◆ Análise morfológica da levedura *Yarrowia lipolytica* em situações de stress





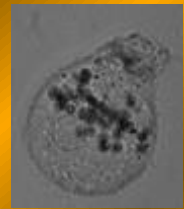


# Reconhecimento Automático de Protozoários por Análise de Imagem

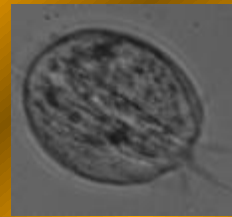
- ◆ Os protozoários podem ser usados como indicadores biológicos do desempenho de uma ETAR. Contudo, a sua identificação é morosa e necessita de técnicos bem preparados.
- ◆ Foram desenvolvidos programas para análise automática de imagens de protozoários.
- ◆ As espécies foram isoladas e identificadas através de técnicas de estatística multivariável.



# Protozoários ciliados presentes em ETARs



Colpidium



Glaucoma



Litonotus



Tetrahymena



Trachelophyllum

## Nadadores



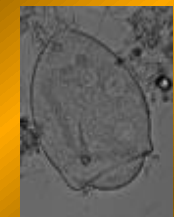
Epistylis



Zoothamnium



Opercularia



V. convallaria



V. microstoma

## Sésseis



Euplotes

## Móveis de fundo



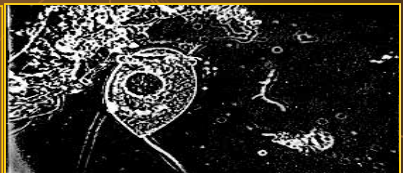
Prorodon

## Carnívoros



# Ciliados

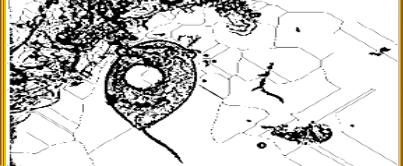
Carnívoros



Móveis de fundo



Com pedúnculo



Nadadores



Flagelados



Metazoários



Amiba com teca





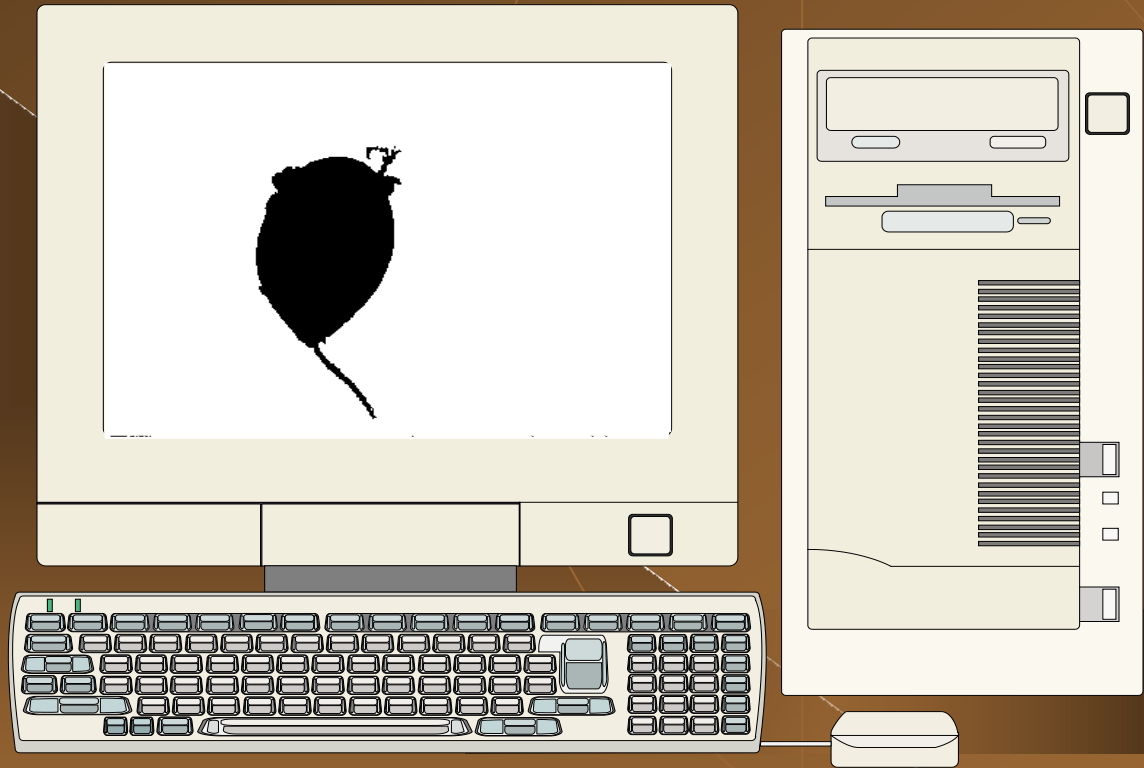
# O predomínio de algumas espécies pode fornecer valiosas informações sobre o estado de funcionamento de uma ETAR:

- ◆ **Pequenos flagelados:** revela uma má eficiência que pode ser causada por lamas pouco oxigenadas ou entrada de substâncias em vias de fermentação
- ◆ **Pequenas amebas nuas e flageladas:** revela uma má eficiência que pode ser causada por uma carga elevada ou de baixa degradabilidade
- ◆ **Pequenos ciliados nadadores (< 50 µm):** revela uma eficiência medíocre que pode ser causada por um tempo de residência demasiado curto ou lamas pouco oxigenadas
- ◆ **Grandes ciliados nadadores (> 50 µm):** revela uma eficiência medíocre que pode ser causada por uma carga demasiado elevada
- ◆ **Ciliados sésseis:** revela uma baixa eficiência que pode ser causada por fenómenos transitórios
- ◆ **Ciliados móveis de fundo:** revela uma boa eficiência
- ◆ **Ciliados sésseis em conjugação com móveis de fundo:** revela uma boa eficiência
- ◆ **Amebas com teca:** boa eficiência indicando estar-se perante uma carga baixa e/ou diluída e uma boa nitrificação



# Alguns passos da programa de processamento de imagem (v. 1)

1. Imagem inicial com ampliação x400
2. Melhoramento do contorno por equalização local com histograma
3. Subtracção do fundo por operações de **“opening”** e **“closing”** para remover o halo.
4. Segmentação semi-automática baseada no Mapa de Distância Euclidiana.
5. No caso de floco em contacto com a margem da imagem com protozoário intacto há eliminação de parte do floco por rotina de **“border-killing”**. O contorno do protozoário é **“fechado”** por operações de **“abertura”**.
6. Preenchimento da silhueta e segmentação semi-automática baseada no Mapa de Distância Euclidiana.
7. Eliminação de flocos através de séries de erosões e reconstruções da silhueta do protozoário. Se os flocos forem maiores que os protozoários, são isolados e removidos por uma subtracção lógica .





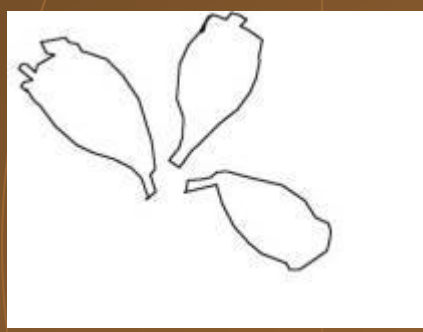
# Alguns passos da programa de processamento de imagem(v. 2)



Imagem adquirida



Imagem pré-tratada



Regiões de interesse



Protozoários recuperados

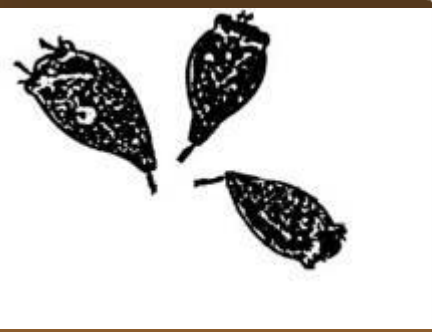


Imagem binária

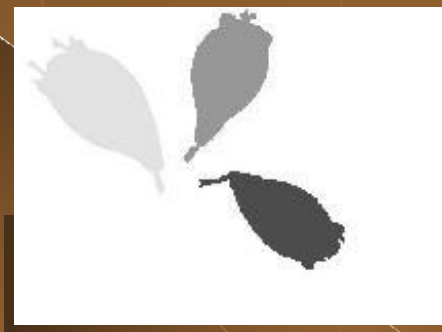


Imagem final marcada



# Quimiometria aplicada a Processos Ambientais

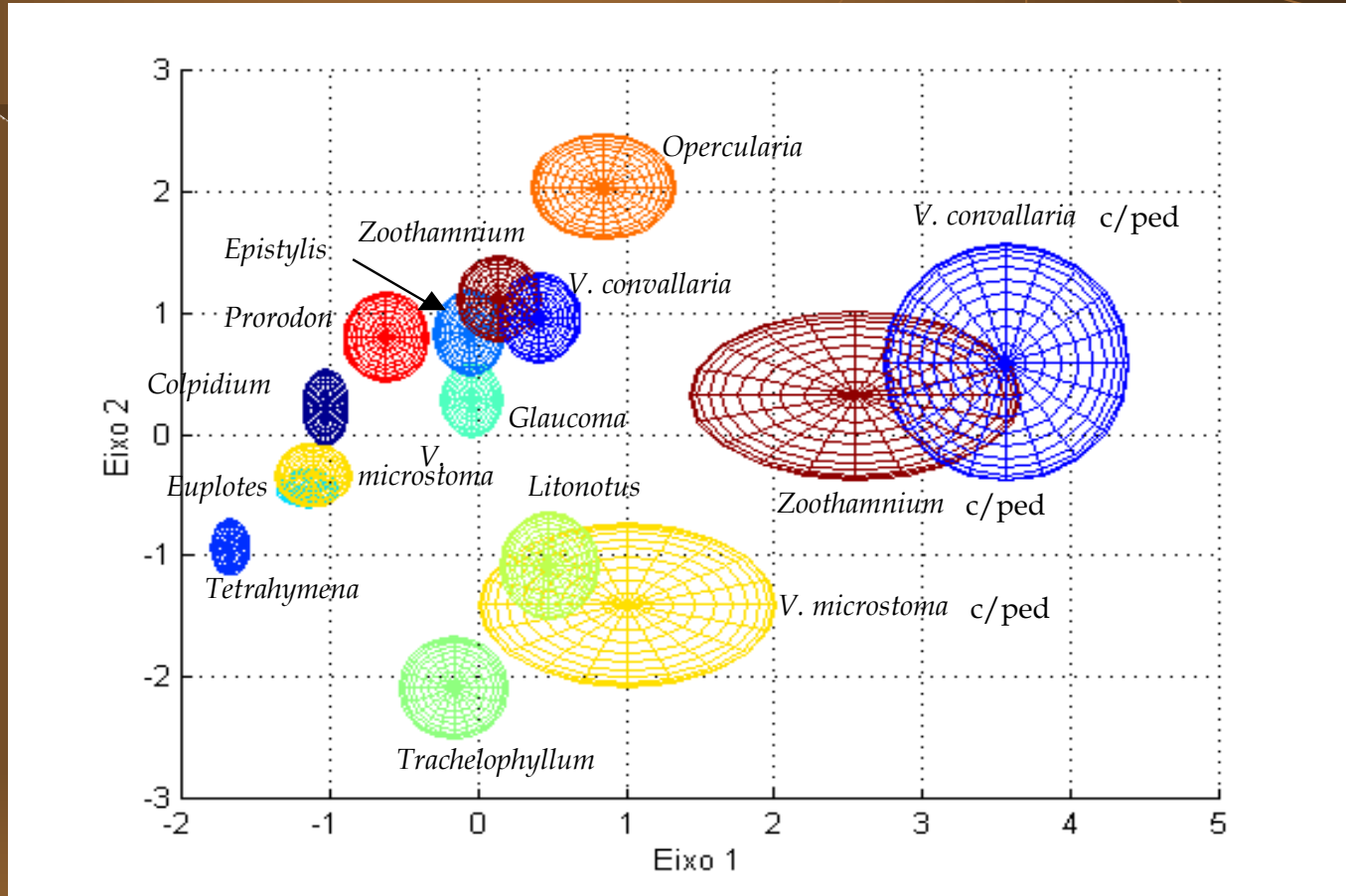
Técnicas de quimiometria no tratamento de informação obtida por análise de imagem em processos de microbiologia ambiental.

- ◆ Técnicas de “Análise Discriminante”, “Análise de Componentes Principais” e “Redes Neurais” usadas para identificação de cada espécie ou grupo de populações de protozoários e metazoários presentes em várias ETARs.
- ◆ O reconhecimento dos protozoários/metazoários e sua classificação foram realizados através de parâmetros morfológicos.
- ◆ Técnica de “Mínimos Quadrados Parciais” empregue para correlacionar a informação morfológica obtida por análise de imagem com os parâmetros “Sólidos Suspensos Totais” e “Índice Volumétrico de Lamas” em sistemas de tratamento de efluentes por lamas activadas.



# Análise de Componentes Principais

Eixos:  
Combinação  
linear de forma  
A/P, forma de  
Feret,  
Excentricidade,  
Área,  
Comprimento



*V. microstoma* e *Opercularia* sp. são protozoários indicadores de baixa eficiência no tratamento de efluentes, estão bem isolados, permitindo inferir possíveis anomalias no desempenho da ETAR



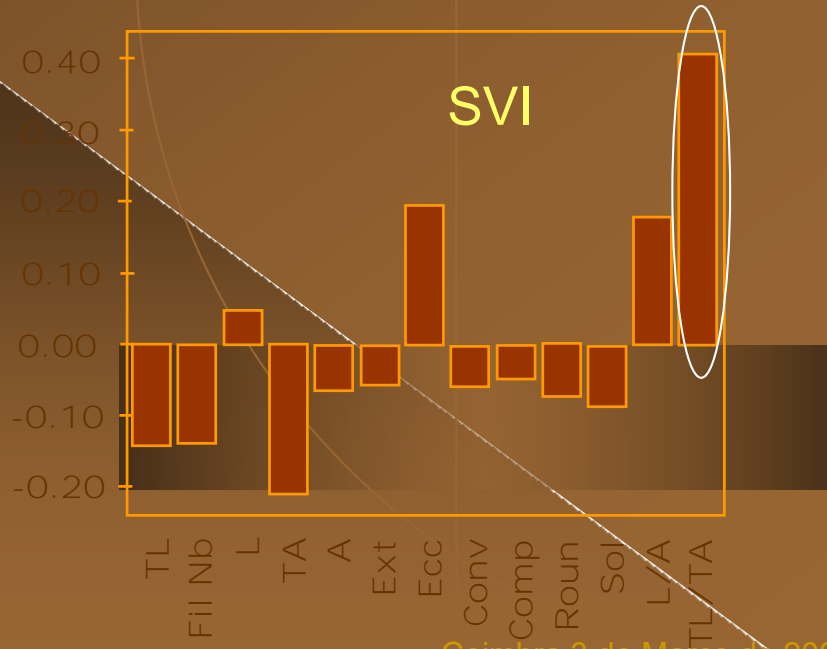
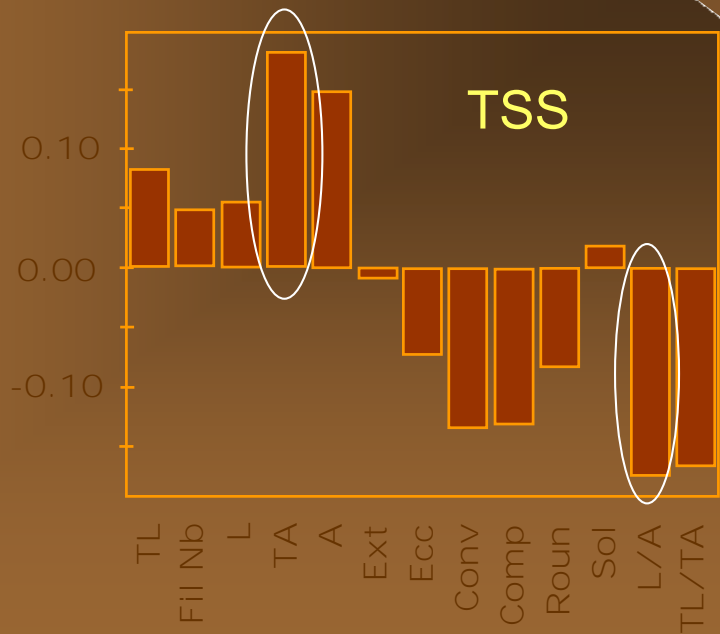


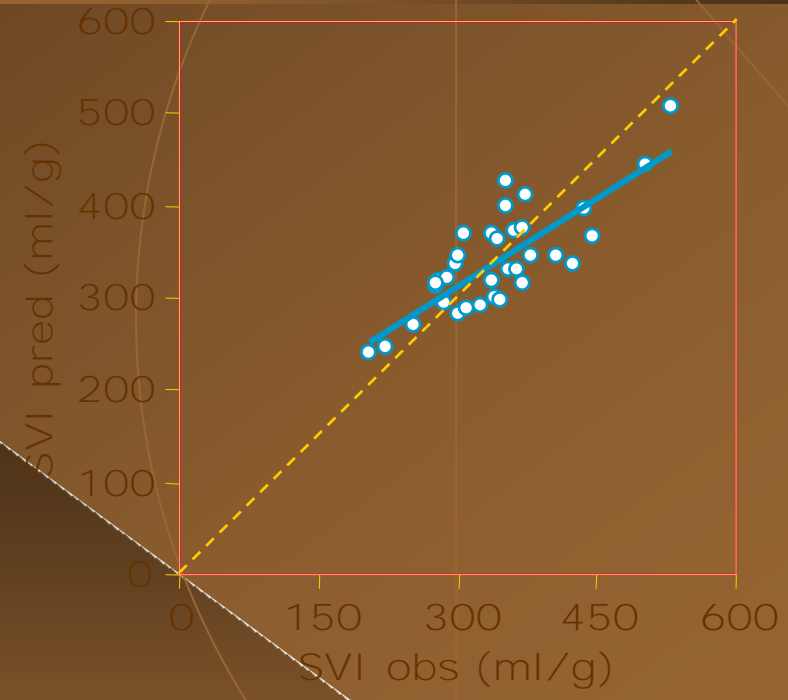
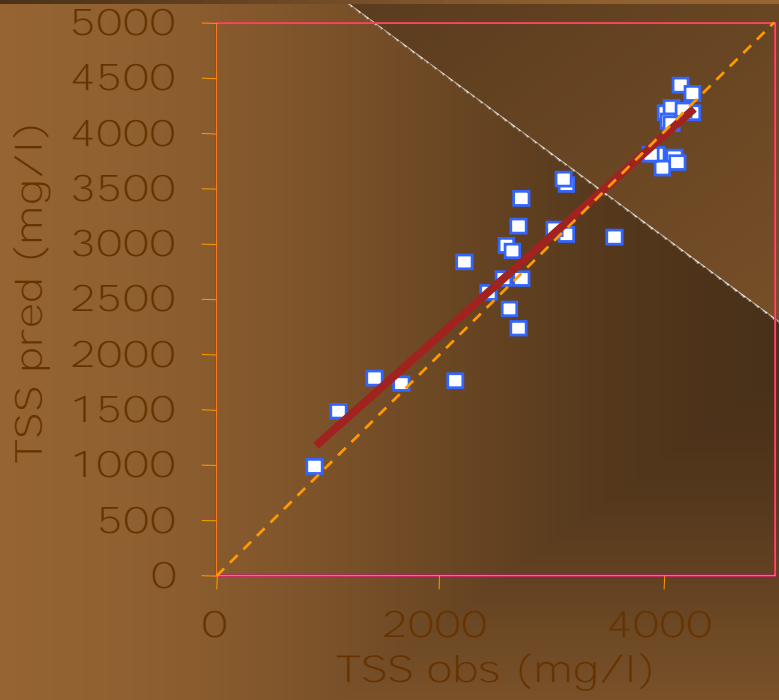
# Lamas Activadas

- ◆ Os parâmetros morfológicos foram relacionados com os Sólidos Suspensos Totais (TSS) e com o Índice Volumétrico de Lamas (SVI) através da técnica PLS:
  - ◆ extrai combinações lineares (de modo idêntico a PCA e FA) de propriedades essenciais modelando a dependência de 2 conjuntos de dados
  - ◆ determina a correlação entre as propriedades originais e os vectores latentes de forma a avaliar o tipo de propriedades de interação para ambas as séries de dados



- ◆ PLS realizado com dados de TSS e SVI (variáveis Y) e os descritores morfológicos (variáveis X)
- ◆ A análise PLS mostra um pequeno aumento na variabilidade explicada acima de 3 componentes
- ◆ Os coeficientes de regressão mais elevados entre TSS e as variáveis X ocorrem para a “área total do floco” (TA) e o rácio “comprimento médio do filamento / área média do floco” (L/A)
- ◆ Os coeficientes de regressão mais elevados entre SVI e as variáveis X ocorrem para o rácio “comprimento total dos filamentos / área total dos flocos” (TL/TA)







# Outras aplicações de Quimiometria

- ◆ **Análise Discriminante como Alternativa à ACP no Estudo de Protozoários:**
  - ◆ Aumenta a variabilidade entre classes em vez da variabilidade dentro da classe (caso da ACP)
  - ◆ Determina novas variáveis (funções discriminantes) como combinações lineares dos descritores originais, com o objectivo de aumentar a variabilidade entre classes e, desse modo, se obter uma melhor separação entre as espécies e/ou os grupos estudados de protozoários
  - ◆ Os grupos ou as classes dos dados são modelados com o alvo de reclassificar o objecto com um baixo risco de erro e de classificar objectos novos usando as novas funções discriminantes



Espécie	% Rec.	
<i>Nematoda</i>	100 %	Very Good
<i>Suctorina</i>	98 %	
<i>Trochilia</i>	95 %	
<i>Litonotus</i>	90 %	
<i>Peranema</i>	88 %	Good
<i>Arcella</i>	86 %	
<i>Trachellophyllum</i>	86 %	
<i>Euplotes</i>	84 %	
<i>Aelosoma</i>	81 %	
<i>Euglypha</i>	80 %	
<i>Aspidisca cicada</i>	78 %	
<i>Vorticella aquadulcis</i>	78 %	
<i>Monogononta</i>	76 %	
<i>Trithigmostoma</i>	74 %	
<i>Digononta</i>	71 %	Reasonable
<i>Vorticella microstoma</i>	70 %	
<i>Vorticella convallaria</i>	66 %	
<i>Epistylis</i>	56 %	
<i>Zoothamnium</i>	52 %	Poor
<i>Carchesium</i>	43 %	
<i>Opercularia</i>	42 %	

	% Rec
Ciliates	94 %
Flagelates	88 %
Metazoan	86 %
Testate Amoebae	83 %

Ciliates	% Rec
Carnivorous	94 %
Crawling	92 %
Stalked	90 %
Free Swimming	86 %



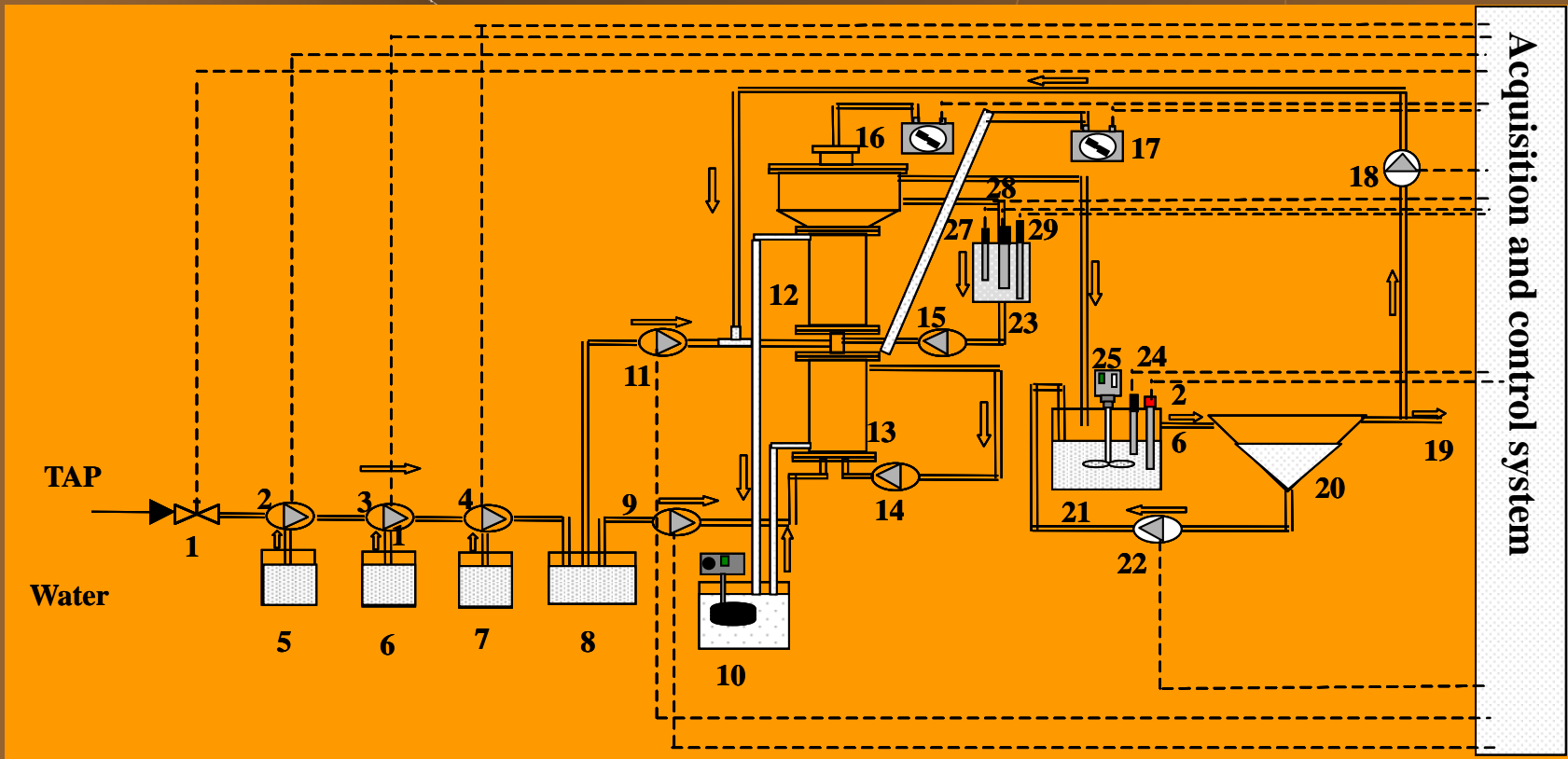
# Supervisão e Controlo de Processos usando Sistemas Periciais

- ◆ Desenvolvimento de sistemas periciais para supervisão e controlo de sistemas de tratamento de efluentes:
  - ◆ Sistemas difusos (Fuzzy) baseados em conhecimento para diagnóstico e controlo da remoção biológica de nutrientes englobando tratamentos sequenciais anaeróbios/anóxico/aeróbio
  - ◆ Sistema pericial supervisor baseada em regras IF **“facto”** THEN **“conclusões”** (estado ou acção):
    - ◆ Uma regra deriva o conhecimento a partir dos factos.
    - ◆ O facto é uma descrição da relação entre a variável de entrada e a sua variável de saída.
    - ◆ As regras são geradas através do conhecimento do perito humano.



# Processo combinado de remoção biológica de nutrientes englobando tratamentos sequenciais anaeróbios/anóxico/aeróbio

*em curso*





# Implementação em DataEngine para LabView

- ◆ As regras distinguem 5 níveis (muito elevado, elevado, normal, baixo e muito baixo)
- ◆ C fuzzy Means.vi e fuzzy Rule Base.vi usados, respectivamente, para construir o diagnóstico e os sistemas de controlo.
- ◆ O algoritmo iterativo “fuzzy c-means” engloba os processos de “agrupamento” e “etiquetagem”.
  - ◆ No “agrupamento” (ou treino) são atribuídos aos objectos diferentes graus de pertença a diferentes classes ou agrupamentos.
  - ◆ A “etiquetagem” consiste na atribuição de nomes de classes aos agrupamentos.
- ◆ Algoritmo “Fuzzy Rule Base”:
  - ◆ As entradas escalares são transformadas em conjuntos difusos de pertença por **funções de “fuzificação”**
  - ◆ Esta informação é enviada ao engenho de inferência
  - ◆ Os valores de pretença são seguidamente transformados nas necessárias variáveis de saída escalares através de um passo de **“desfuzificação”**
- ◆ A toolbox “Fuzzy Logic” para MATLAB é usado para prototipagem do sistema difuso.





- ◆ As variáveis de saída do sistema de controlo:
  - ◆ a relação R1 entre o caudal de by-pass o caudal de alimentação
  - ◆ a relação R2 entre o reciclo externo e o caudal de alimentação
- ◆ Variáveis de entrada:
  - ◆ a relação de COD/N na entrada do reactor anóxico
  - ◆ concentrações do nitrito e nitrato no efluente.
- ◆ São usadas funções lineares de pertinência para descrever as variáveis da entrada.
- ◆ Os valores de “Desfuzificação” das funções de pertinência são obtidos pelo método do centróide da área.



# Projecto e Integração de Processos para Prevenção da Poluição: *Síntese, Análise e Optimização*

- ◆ Desenvolvimento de ferramentas educativas com base no Solver do EXCEL para ensino de optimização no projecto e integração de processos
- ◆ Outros trabalhos em curso:
  - ◆ Estratégias de minimização de efluentes e resíduos na síntese de processos
  - ◆ Síntese de redes de separação induzidas por calor para condensação de compostos orgânicos voláteis



# Ferramentas educativas com base no Solver do EXCEL para ensino de optimização no projecto e integração de processos

- ◆ Constituição de uma base de dados de casos de estudo de síntese de processos resolvidos em EXCEL Solver
- ◆ Optimização de problemas não lineares e lineares
- ◆ Casos de estudo adaptados para efeito de demonstração em 2 disciplinas:
  - ◆ “Estratégia em Engenharia de Processo” (UMinho)
  - ◆ “Estratégia do Processo Químico” (FEUP)
- ◆ Ficheiros EXCEL: [www.deb.uminho.pt/ecferreira/download](http://www.deb.uminho.pt/ecferreira/download)
  - ◆ E.C. Ferreira, R. Lima and Romualdo Salcedo, Spreadsheets in Chemical Engineering Education - a tool in process design and process integration. *Int. J. Engineering Education*, in press, 2004.
  - ◆ Ferreira, E.C., Salcedo, R. Can Spreadsheet Solvers Solve Demanding Optimization Problems? *Computer Applications in Engineering Education*, 9:1, 49-56, 2001
  - ◆ Ferreira, E.C., Salcedo, R. Optimizing VOC removal by absorption/stripping using spreadsheets. *Chemical Engineering*, 108:1, 94-98, 2001.



# Ferramentas educativas com base no Solver do EXCEL para ensino de optimização no projecto e integração de processos

## ◆ Alguns exemplos:

- ◆ Optimização de uma unidade para a recuperação contínua de solventes orgânicos usando uma torre de absorção de gás com recuperação do solvente num stripper, com aproveitamento térmico
- ◆ Recuperação de benzeno de uma emissão gasosa
- ◆ Projecto de uma rede de reactores químicos
- ◆ Solução de balanços materiais na produção de cloreto de vinil a partir de etileno
- ◆ Remoção de fenol de efluentes



# Estratégias de minimização de efluentes e resíduos na síntese de processos

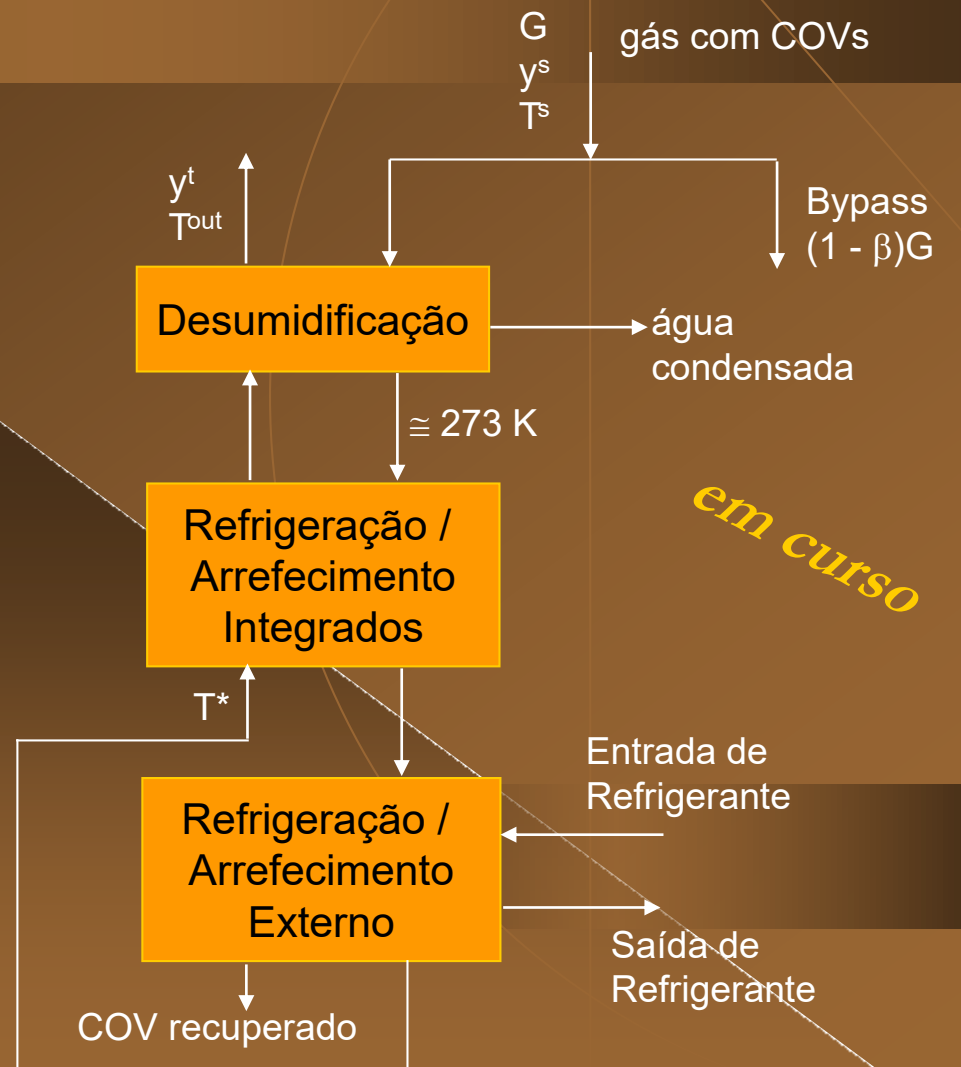
- ◆ Projecto de redes de transferência de massa capazes de transferirem certos contaminantes de um conjunto de correntes ricas para um conjunto de correntes pobres com vista à redução da descarga de efluentes e do consumo de água
- ◆ Analogia com Pinch de Energia
- ◆ Caso de estudo (Rossiter, 1995): Refinaria da Amoco (Yorktown)
- ◆ Ferramentas de optimização: Excel Solver, GAs, LINGO

*em curso*



# Síntese de redes de separação induzidas por calor para condensação de compostos orgânicos voláteis

- ◆ Projecto óptimo de redes de separação induzidas por permuta de calor: aplicação na remoção/recuperação de COVs por condensação
- ◆ Selecção do refrigerante
- ◆ Custo mínimo de utilidades: compromisso entre custo de operação e custos fixos





# Agradecimentos

## Equipa BioPSEg

- ◆ Post-Doc:
  - ◆ Velislava Lubenova
  - ◆ Isabel Rocha
  - ◆ Luís Amaral
- ◆ Estudantes Doutoramento:
  - ◆ Olga Pires
  - ◆ Ana Cristina Veloso
- ◆ Estudantes Mestrado
  - ◆ Florbela Vidigueira
  - ◆ Cíntia Costa
  - ◆ Sandra Carvalho

## Colaborações Internas

- ◆ Grupo Biotecnologia Ambiental:
  - ◆ Manuel Mota
  - ◆ Madalena Alves
  - ◆ Alcina Pereira
  - ◆ Pablo Araya-Kroff
- ◆ Isabel Belo

## Colaborações Nacionais

- ◆ Grupo PSE da FEUP, Porto
  - ◆ Sebastião Feyo de Azevedo
  - ◆ Romualdo Salcedo



# Agradecimentos

## Colaborações Internacionais

- ◆ Ecole Nationale Supérieure des Industries Chimiques, Institut National Polytechnique de Lorraine - LSGC, Nancy, França (M.-N. Pons)
- ◆ Université Catholique de Louvain, Unité d'automatique, de dynamique et d'analyse des systèmes (AUTO) , Belgica (Denis Dochain, Georges Bastin)
- ◆ Universitat Autònoma de Barcelona, Departament of Chemical Engineering Bellaterra, Espanha (J. Lafuente, J. Baeza)
- ◆ École Polytechnique de Montréal, UR-CPC Unité de Recherche sur le Contrôle des Procédés (Bio)Chimiques, Montréal, Canadá (M. Perrier)
- ◆ Universidade Federal de Pernambuco, Department of Chemical Engineering, Recife, Brasil (Maurício da Motta)
- ◆ Universidade Federal do Rio de Janeiro, Department of Chemical Engineering, Brasil (M.A. Zarur Coelho)