



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
FACULDADE DE QUÍMICA

Daniel Ramon Maia Vieira

ESTABELECIMENTO DE UM MODELO DINÂMICO PARA A
TRANSFERÊNCIA DE MASSA DO TIPO GÁS-LÍQUIDO EM
BIORREATOR AERADO.

BELÉM-PA, 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
FACULDADE DE QUÍMICA

Daniel Ramon Maia Vieira

ESTABELECIMENTO DE UM MODELO DINÂMICO PARA A
TRANSFERÊNCIA DE MASSA DO TIPO GÁS-LÍQUIDO EM
BIORREATOR AERADO.

Monografia apresentada como requisito para a obtenção do grau em bacharel em química industrial pela faculdade de química, Instituto de Ciências Exatas e Naturais da Universidade Federal do Pará.

Orientador: Prof(a). Dra. Simone Aviz de Cardoso

Instituto de Ciências Exatas e naturais

Belém-PA, 2018

Daniel Ramon Maia Vieira

ESTABELECIMENTO DE UM MODELO DINÂMICO PARA A TRANSFERÊNCIA DE MASSA DO TIPO GÁS-LÍQUIDO EM BIORREATOR AERADO

Monografia avaliada em: Belém (PA),..... de de 2018

Banca examinadora

Orientadora/ Presidente da Comissão

Prof(a). Dra. Simone Aviz de Cardoso – ICB

Orientadora/ Presidente da Comissão

Prof(a). Dra. Marcia Gleice da Silva Souza

Orientadora/ Presidente da Comissão

Prof(a). Dr. Robson Monteiro de Sousa – ICEN

Dedico

Aos meus pais, mestres, companheira, amigos e todos que passaram um dia pela minha vida, todos vocês contribuíram para a pessoa que sou hoje, cada um de vocês formou o autor deste trabalho

Ofereço

As mulheres mais importantes da minha vida, Márcia Cristina Maia Martins

Beatriz Alves Bentes

AGRADECIMENTOS

Não posso esquecer jamais de agradecer minha mãe Márcia Cristina Maia Martins, mulher forte que fez o seu melhor por mim, independente das minhas reclamações por seu jeito bruto, eu sempre vou ser muito grato por todos os sacrifícios que você fez por mim. Eu Te Amo muito, espero que eu possa te mostrar que todos esses 24 anos que você dedicou a mim não tenham sido tempo perdido, que seja apenas a personificação do seu amor por mim.

Ao meu pai João Jorge de Barros Vieira e Irmã Jamile Maia Vieira, independente de como é nosso relacionamento vocês sempre estiveram próximos e fazem parte do conjunto que forma essa pessoa.

Aos amigos que trago do meu ensino médio, Arthur Sá, Vinicius Rodrigues e Maurício Modesto, vocês foram parte essencial da minha vida, nunca vou esquecer do alicerce que vocês fundaram na minha vida, sem vocês hoje eu não saberia o que é ter uma verdadeira e longínqua amizade, muito obrigado por todos os momentos. Maurício, espero que tenha paz onde você estiver, saiba que todos nós sentimos muito sua perda.

Aos amigos que ganhei ao longo dessa Graduação, todos vocês me trouxeram experiências que vou guardar por toda vida. Nunca esquecerei de vocês Roger Garrido, Lucas Lima, Kakau Almeida, Glayce Kelly, Hugo Nerí, Jonas Pietro, Fabiane Trindade, Jeferson Pina.

A todas as pessoas que passaram ou estão no grupo LabISisBio, todos vocês foram muito importantes no meu amadurecimento profissional.

Aos professores Alberdan Santos, Simone Cardoso, Antonio Carvalho, vocês foram meus orientadores, amigos e incentivadores, muito obrigado pela paciência e conhecimentos passados, sempre ouvi todos os seus conselhos e diretrizes, esse trabalho é uma contribuição de tudo isso.

À Dra. Márcia Souza, a toda colaboração nos experimentos, orientações, descontrações, nossa amizade é muito especial.

Ao Cássio Marinho e Paulo Witer, muito obrigado pela amizade que vocês me deram, tenho vocês como verdadeiros irmãos, nunca vou esquecer de todas as vezes que me escutaram e me ampararam, vocês amenizaram os momentos difíceis da graduação, sem vocês seria tudo mais difícil.

À Beatriz Bentes, muito obrigado pela motivação que me dá diariamente, você foi peça fundamental na minha pessoa nesses últimos 4 anos, sem você tudo seria muito difícil e pesado, a sua simples presença ameniza todos os meus demônios, todos os dias que pensei em desistir você era um dos motivos me manteve na luta. Obrigado por todos os sentimentos compartilhados. Te Amo muito Bea.

Ao instituto de ciências exatas e naturais da Universidade Federal do Pará, pela oportunidade de realizar este sonho.

Obrigado!

*Não importa o que fizeram com você. O que
importa é o que você faz com aquilo que fizeram
com você.*

Jean-Paul Sartre

RESUMO

Foi realizado um estudo num modelo dinâmico desenvolvido através de um balanço de espécie para o oxigênio presente no fluxo de ar que alimenta um biorreator aerado, ao qual buscou-se estimar parâmetros para o processo de produção de metabólitos por microrganismos cultivados. O processo de transferência de massa nas fases gás-líquido presentes no biorreator foi analisado com relevância, pois a solubilidade de nutrientes líquido e gasosos (oxigênio molecular e dióxido de carbono) são fatores importantes, e limitantes para as culturas. Foi proposto um modelo cinético para o crescimento celular baseado no modelo de Michaelis-Menten. Para compreender esta questão e se obter um maior controle da solubilidade de gases na fase líquida, faz-se uso de um sistema aerado através de um tubo de alimentação o qual injeta ar estéril na fase líquida. A partir de um modelo dinâmico com cinética celular adequada foi possível obter uma melhor representação da condição real, o que permitiu a identificação de parâmetros do processo. Para testar a confiabilidade do modelo foram feitas bateladas com diferentes microrganismos, dessa forma foi possível prever com maior acurácia o comportamento real do processo de produção de metabólitos, assim como mostrar a confiabilidade do modelo para processos no biorreator aerado.

Palavras chave: Modelo dinâmico, K_{La} , biorreator, aerado.

ABSTRACT

The study was carried out from data balance for the present work as indicator of the performance of an aerator, to which it was sought to estimate parameters for the production process of metabolites by cultured microorganisms. The mass transfer process in the gas-liquid phases does not present a bioreactor for its analysis, since the solubility of the liquid and gaseous nutrients is an important and limiting factor for the cultures. A kinetic model for the growth of a Michaelis-Menten model cell was presented. In this case, it is important to control the solubility of gases in a liquid phase, using the aerated system through a feed tube which is injected into a body. An improved representation of the actual condition was obtained from a dynamic model with the appropriate bar code, which allowed the identification of the process. In order to test the performance of the model with different microorganisms, it was obtained with high accuracy the behavior of the production processes of metabolites, as well as to show the stability of the process for non-generating processes.

Keywords: Dynamic model, K_{La} , biorreactor, aerated

:

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1	Descrição das informações necessárias para gerar um modelo matemático de um biorreator	Pag. 21
Figura 2	Modos de operação de reatores do tipo tanque	Pag. 23
Figura 3	Esquema dos obstáculos do transporte de massa de oxigênio da bolha até o consumo da célula	Pag. 25
Figura 4	Foto do biorreator tanque agitado propriedade do LabISisBio da UFPA. Utilizado para obter os resultados experimentais deste trabalho.	Pag. 27
Figura 5	Esquema do Biorreator	Pag. 28
Figura 6	Perfil da fração de oxigênio na fase líquida da primeira batelada, onde A é o perfil descrito pelo modelo de (MÜLLER; MURRAY; MACHNE, 2012) e os parametros de C, B é o perfil com o mesmo modelo porém com os parametros otimizados para o modelo e C é o perfil com o modelo proposto no trabalho.	Pag. 30
Figura 7	Perfil da fração de oxigênio na fase líquida da segunda batelada, onde A é o perfil descrito pelo modelo de (MÜLLER; MURRAY; MACHNE, 2012) e os parametros de C, B é o perfil com o mesmo modelo porém com os parametros otimizados para o modelo e C é o perfil com o modelo proposto no trabalho.	Pag. 31
Figura 8	Perfil da fração de oxigênio na fase líquida da terceira batelada, onde A é o perfil descrito pelo modelo de (MÜLLER; MURRAY; MACHNE, 2012) e os parametros de C, B é o perfil com o mesmo modelo porém com os parametros otimizados para o modelo e C é o perfil com o modelo proposto no trabalho.	Par. 33
Figura 9	Perfil da fração de oxigênio na fase líquida do trabalho de MÜLLER; MURRAY; MACHNE (2012), onde A é o perfil descrito pelo modelo de MÜLLER; MURRAY; MACHNE (2012) e com as condições do seu trabalho, o gráfico B é o perfil do modelo proposto neste trabalho	Pag. 35
Tabela 1	Dados utilizados nas simulações	Pag. 28

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

O_2 .	Oxigênio
$k_{L,a}$.	Coefficiente de transferência volumétrica de oxigênio
$k_{L,b}$, $k_{L,h}$.	Coefficiente de transferência de massa de O_2 entre bolha e líquido e headspace e líquido
STR.	Reator de tanque agitado
CSTR.	Reator de tanque agitado contínuo
H^+ .	Ion hidrogênio
NADH, FADH ₂ .	Coenzimas do metabolismo energético
ADP, ATPH.	Adenosina difosfato e adenosina trifosfato
C_s .	Concentração de O_2 na fase líquida em equilíbrio com a fase gasosa
C .	Concentração de O_2 na fase líquida
K_L .	Coefficiente convectivo de transporte de massa
a .	Área interfacial de troca de massa
A_{bolhas} .	Área total de troca de massa
V .	Volume útil do reator
Na_2SO_3 .	Sulfito de sódio
Na_2SO_4 .	Sulfato de sódio
N_2 .	Nitrogênio molecular
C_l .	Concentração de O_2 na fase líquida
A_b .	Área de bolhas
V_l .	Volume da fase líquida
K_H .	Constante de Henry
C_b .	Concentração de O_2 na fase bolha
A_h .	Área do headspace
C_h .	Concentração de O_2 na fase
q_{cell} .	Taxa de respiração celular
ϕ_g .	Taxa de fluxo de gás

V_b .	_____.	Volume da fase bolha
$C_{g, in}$.	_____.	Concentração de O_2 na entrada da aeração
V_h .	_____.	Volume da fase headspace
k_m e V_{max} .	_____.	Parâmetros cinéticos
mol/m^3 .	_____.	mol/metro cúbico
m/h .	_____.	metro/hora
m^2 .	_____.	metro quadrado
m^3 .	_____.	metro cúbico
m^3/h .	_____.	metro cúbico/hora
mol/m^3h .	_____.	mol/metro cúbico hora
DO .	_____.	O_2 dissolvido

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	8
1-INTRODUÇÃO.....	14
2-REVISÃO DA LITERATURA.....	15
MODELAGEM E SIMULAÇÃO DE PROCESSOS FERMENTATIVOS.....	15
REATORES.....	18
TRANSPORTE DE OXIGÊNIO EM REATORES.....	23
3-METODOLOGIA.....	27
4-RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
.5-CONCLUSSÃO.....	36
6- SUGESTÕES.....	37
7-REFERÊNCIAS.....	38

1-INTRODUÇÃO

Os avanços mais recentes dentro da área de biotecnologia e bioprocessos aumentou a produtividade e qualidade dos produtos vindos dessas áreas, devido a isso esses produtos participam fortemente dentro da economia mundial. Ter um controle, e identificar, os parâmetros de bioprocessos para manter a qualidade e o controle dos produtos gerados impacta de maneira significativa no desenvolvimento de tais processos, sua importância afeta até aspectos econômicos, como tratamento de águas residuais, produção de fármacos e vários outros consumíveis, todos esses processos são caros e sensíveis dentro de suas especificidades. Dessa forma otimizar esses processos visando a diminuição de custos e fatores limitantes é de extrema importância. O controle de aeração para aumentar a solubilidade de nutrientes como o oxigênio é um dos parâmetros mais comuns de bioprocessos (DUMONT et al., 2013; JUNIOR, 2018; NIEDZWIEDZ; LASZCZYK, 2014)

Conhecer como está disponível oxigênio dentro de um biorreator, ou mesmo em um bioprocessos, é de extrema importância e difícil mensuração. A quantidade de O_2 no meio é um fator limitante para diversos bioprocessos aeróbicos, pois ele é afetado por diversos fatores: tipo de impulsor, geometria do biorreator, velocidade de agitação e vazão de ar, composição e propriedades do meio, concentração e morfologia do microrganismo e propriedades do biocatalizador. Por esses motivos este se torna um parâmetro a ser pensado no desenvolvimento e projeto de biorreatores, ou na execução de um bioprocessos, na comparação de eficiência entre biorreatores e no scale up desses equipamentos, conhecendo o perfil de O_2 no biorreator é possível ajustar ele manipulando a aeração e agitação do equipamento (CERRI et al., 2016; JUNNE et al., 2013; MOUTAFCHIEVA et al., 2013; SOUZA et al., 2014).

Através do coeficiente de transferência volumétrica de oxigênio (K_{La}) é possível obter o perfil de O_2 dissolvido no meio líquido de um cultivo, este parâmetro fornece informações importantes de como está a concentração de O_2 ao longo do processo, assim como se é necessário ter um maior ou menor fornecimento de O_2 ao processo, essa necessidade pode ser vista na produção de poliésteres através do metabolismo de bactérias ou no tratamento de esgotos por lodo ativado (HARIBABU; SIVASUBRAMANIAN, 2013; KSHIRSAGAR et al., 2013; NIEDZWIEDZ; LASZCZYK, 2014).

Neste trabalho foi investigado a viabilidade de um novo modelo matemático o qual descreve o K_{La} em um biorreator aerado pelos parâmetros K_{Lb} e K_{Lh} , coeficiente de transferência de massa de O_2 entre bolha e líquido e headspace e líquido, tal investigação foi realizada através da ferramenta de modelagem e simulação computacional desse processo. Por este motivo, o presente estudo busca desenvolver estudos nas áreas de modelagem e simulação de processos de geração de produtos biotecnológicos em biorreatores aerado a fim de realizar estudos de investigação preditiva capaz de reproduzir resultados experimentais padrões, com o auxílio de uma nova ferramenta de análise matemática que descreve as transferências de massa no interior do equipamento.

2-REVISÃO DA LITERATURA

2.1-MODELAGEM E SIMULAÇÃO DE PROCESSOS FERMENTATIVOS

As ferramentas de simulação e modelagem são úteis na validação de projetos, desenvolvimento de processos, aumento de produção e diminuição de custos. O grande interesse da indústria e o avanço da tecnologia de computadores possibilitou o avanço na solução numérica de modelos que descrevem problemas de engenharia, com esse salto a modelagem passou de um campo científico para a engenharia aplicada. Um dos maiores diferenciais no desenvolvimento dessa ciência é a grande geração de simuladores comerciais de processo, sendo funcionais e aplicáveis em várias áreas o seu uso é gigantesco e aplicável em vários objetivos. Apesar de todo o desenvolvimento dentro da ciência de modelagem ainda é necessário buscar o máximo de conhecimento e desenvolvimento dentro da área, essa necessidade vem do fato de muitos bioprocessos aplicados por anos terem uma série de complexidade, essa dificuldade dificulta a formulação de modelos, isso é visto na dificuldade de representar as complexas reações intracelulares de bilhões de células controlando seu ambiente extracelular (CRAVEN; WHELAN; GLENNON, 2014; PINTO; LAGE, 2001; SOARES, 2003).

Toda área que usa ferramentas de modelagem busca relacionar um conjunto de variáveis que descrevem de forma adequada, dentro da precisão necessária ao problema, o caso que deseja ser estudado, todas essas relações são o modelo, em uma modelagem matemática esse modelo é constituído de equações algébricas-diferenciais. Um modelo tenta descrever o mais próximo possível da realidade um fenômeno, esse fenômeno é baseado nas variáveis, conjunto de observações experimentais, fornecidas ao modelo, tais variáveis estão sujeitas a erros de medida e incertezas experimentais (CRAVEN; WHELAN; GLENNON, 2014; MENDES; VALDMAN; SOUZA JÚNIOR, 2011).

Podemos classificar um modelo matemático de duas formas, modelo empírico ou teórico. Um modelo teórico se apoia em conceitos que descrevem de forma fundamentada todo o fenômeno que está sendo modelado chegando assim a um resultado amparado nos conceitos que o descrevem. Os modelos empíricos não necessitam essencialmente de conceitos teóricos, por esse motivo eles são restringidos a descrição de conjuntos específicos de pontos experimentais. A diferença de um modelo empírico e teórico pode ser crucial, afinal, enquanto o modelo empírico pode falhar durante a descrição do processo, no modelo teórico não haverá essa limitação, uma vez que todo o sistema já tem os conceitos necessários no modelo para o bom desenvolvimento da modelagem. Mesmo afirmando que um modelo empírico não apresenta uma exatidão deve-se lembrar de que o modelo empírico precede o teórico, pois quando o estudo e experimentação empírica apresenta um comportamento regular ele pode ser descrito em forma de leis que as quais integram os dados empíricos coletados (CHAPRA; CANALE, 2011; CRAVEN; WHELAN; GLENNON, 2014; PINTO; LAGE,

2001).

Como descrito anteriormente um modelo pode ser a junção de fundamentos teóricos os quais expressa matematicamente as características de um sistema e ou processo, essa relação pode ser descrita da seguinte forma:

$$\text{variável dependente} = f(\text{variável independente, parâmetros, termos forçantes}) \quad 2.1$$

a equação 2.1 pode variar de uma simples relação algébrica para um conjunto de várias equações diferenciais onde a variável dependente é o comportamento ou o estado do sistema de estudo, variáveis independentes são dimensões onde o comportamento está sendo descrito, isso pode ser definido como o tempo ou espaço, parâmetros são as propriedades ou composição do sistema, termos forçantes são as influências externas que afetam o sistema em estudo(CHAPRA; CANALE, 2011).

Aplicar ferramentas de modelagem em bioprocessos consiste em demonstrar por meio de equações matemáticas os balanços de massa de cada componente participante do processo, esse processo é decorrido em biorreatores, a descrição matemática desse balanço deve estar relacionada as transformações bioquímicas do processo e às velocidades dessas transformações. Um bioprocessos real tem uma grande carga de complexidade, devido os fundamentos físico-químicos, bioquímicas e genéticos, junto com limitações matemáticas nos faz estimar modelos que possam ser ideais, que possam seguir as propriedades mais adequadas do processo, pois o modelo deve ter um grau de complexidade e solução economicamente viável e um esforço computacional possível de ser executado. Criação de modelos auxiliam na otimização e controle de bioprocessos, por ter essa função o desenvolvimento dessa ciência possibilita compreensão e melhoria pelas ferramentas disponíveis da simulação, otimizando a implementação de malhas de controle de bioprocessos, sendo úteis até no seu monitoramento e diagnóstico (MENDES, 2012; NOORMAN, 2011; SCHMIDELL et al., 2001)

Os modelos que descrevem fermentações podem ser alocados em dois grandes grupos, modelos fenomenológicos e entrada-saída. Modelos fenomenológicos são fundamentados em hipóteses e correlações teóricas e ou empíricas, relacionando essas informações é possível explicar os fenômenos e o comportamento do processo estudado, é essencial que estes modelos possam ser baseados em equações de conservação de massa, energia e quantidade de movimento e nos conhecimentos da físico-química, pois isso torna o modelo mais confiável para interpolações e extrapolações ao serem comparados a modelos puramente empíricos.(NOORMAN, 2011; SCHMIDELL et al., 2001)

Os princípios mais básicos de balanços de massa, velocidade de transporte e termodinâmica são

adaptáveis e fundamentam adequadamente o processo que será descrito, porém esses princípios não podem ser aplicados efetivamente em cinéticas de transformação, modelos cinéticos, pois já existe fundamentos distintos para as fermentações, esse fato é bem conhecido na produção da penicilina, pois os seus valores de rendimento de estimados a cerca de 70 anos atrás não foi atingido, essa impossibilidade não é devido a insuficiência nos equipamentos usados, ela surge pela própria limitação do metabolismo do microrganismo, suas cinéticas de geração de produto. Pelo modelo cinético podemos definir dois grupos de modelos, modelos estruturados e não estruturados, o primeiro refere-se a modelos que levam em consideração os componentes intracelulares dos componentes biológicos do modelo, com isso é possível entender o estado das células e o seu comportamento diante das mudanças do meio ambiente, no segundo modelo não estruturado todo o material celular é descrito por uma variável, sem levar em consideração o seu os componentes intracelulares. É possível atribuir outra classificação ao modelo a partir do comportamento dos microrganismos, existem modelos segregados onde os microrganismos tem diferentes aspectos como, espécies, idade da colônia, tamanho de estrutura biológica e de metabolismo, enquanto que os modelos não segregados a população é homogênea em todos os aspectos.(NOORMAN, 2011; SCHMIDELL et al., 2001; WANG et al., 2015).

Os modelos entrada-saída são constituídos de relações empíricas para descrever a influência que alteram as variáveis de entrada ou nas de saída ou as medidas do processo, com esses modelos é possível descrever as condições de um sistema, saídas do mesmo, com uma quantidade definida de variáveis de entrada medidas (SCHMIDELL et al., 2001).

A principal base da formulação de um modelo matemático para um bioprocessos é a escrita do seu balanço material, o balanço é fundamentado na lei da conservação de Antoine Laurent Lavoisier: “*Na natureza nada se cria, nada se perde, tudo se transforma*” o balanço material é basicamente a aplicação deste conceito (FELDER; ROUSSEAU, 2005; HIMMELBLAU; RIGGS, 2014; LIN, 1995). A equação geral para balanço de um sistema contém a seguinte forma:

$$\left(\begin{array}{c} \text{Taxa da grandeza} \\ \text{que entra} \end{array} \right) - \left(\begin{array}{c} \text{Taxa da grandeza} \\ \text{que sai} \end{array} \right) \pm \left(\begin{array}{c} \text{Taxa da grandeza} \\ \text{gerada ou consumida} \end{array} \right) = \left(\begin{array}{c} \text{Taxa da grandeza} \\ \text{que acumula} \end{array} \right) \quad 2.2$$

a entrada pode ser chamada de alimentação, é todo componente que entra no sistema, o termo geração é todo e quaisquer componentes que podem ser gerados dentro do sistema durante o processo sendo descrito por cinéticas, saída é o ponto onde os produtos ou rejeitos são retirados do sistema, consumo é a taxa de desaparecimento de componentes durante o processo, também é representado por uma cinética, e o acúmulo é o quanto de substâncias são depositados no sistema durante o processo (FELDER; ROUSSEAU, 2005; FOGLER, 2012).

Podemos identificar um bioprocesso como o processo no qual há a ação de um ou mais agentes biológicos, durante esses processos são empregadas operações que visam o tratamento do substrato para que seja possível ocorrer a conversão em produto por rota bioquímica e para no fim ser submetida aos processos de downstream (tratamentos aplicados ao final de uma fermentação para recuperar o produto desejado). A fermentação sendo um tipo de bioprocesso, pode ser executada de forma contínua, descontínua e ou semidescontínua, este trabalho foi feito a partir de fermentações descontínua. Fermentações descontínuas são similares aos processos em batelada, nessa forma o meio de cultura é inoculado com o microrganismo que executara o processo fermentativo quando for estabelecida as condições ótimas para o seu desenvolvimento, ao fim do processo o produto é descarregado e é submetido aos tratamentos finais adequados a ele. Os processo fermentativos descontínuos, em relação aos contínuos, tem menos riscos de contaminação e são muito flexíveis na sua operação, porém seus processos podem não ter grandes rendimentos e passam por longos períodos com o processo fermentativo parado, tempo de descarga e lavagem do fermentador (DE SIQUEIRA, 2013; SANTOS, 2008).

Existem duas principais formas de fermentação para gerar produtos de interesse, essas formas são chamadas de fermentação submersa e fermentação em estado sólido. A fermentação sólida é efetuada em substratos no estado sólido, na ausência ou com pouca água livre disponível, esse processo é desenvolvido sobre a superfície da matéria a ser fermentada, geralmente o material consegue absorver água para isso, são usados substratos fibrosos, nessa técnica os nutrientes podem, ou não, estar solúveis.(OLIVEIRA et al., 2012)

A fermentação submersa é a técnica mais aplicada, pois é um processo onde existe uma grande facilidade para proporcionar o crescimento de microrganismos, pois nele o pH e temperatura são controlados com maior facilidade além da possibilidade na recuperação dos produtos de interesse com maior eficiência em procedimentos de downstream. Esta técnica é chamada de fermentação submersa por ser executada em meio fermentativo líquido, desta forma os nutrientes como peptonas, açúcares e substâncias complexas, vitaminas e ions, e fontes indutoras para a geração dos produtos de interesse encontram-se solúveis e disponíveis no meio líquido e com grande disponibilidade de água livre, essa técnica é mantida a uma agitação constante para manter uma aeração ideal e homogeneidade dos nutrientes (OLIVEIRA et al., 2012; ORLANDELLI et al., 2012).

2.2-REATORES

A forma mais simples de definir o que são biorreatores (reatores bioquímicos, ou reatores biológicos) é a qual os descrevem como um recipiente utilizado para efetuar uma ou mais reações biológicas efetuadas por enzimas ou células vivas (de diferentes fontes animais ou vegetais), ou seja, representam todo e qualquer

local ou equipamento onde células e enzimas realizam a conversão de substrato em produto, para isso o equipamento deve manter condições ótimas para que os vetores biológicos possam ter a maior atividade possível. Com estes conceitos definidos é possível afirmar que até uma célula pode ser considerada como um biorreator. Sabendo que este equipamento pode ser usado ou com células vivas ou com enzimas é possível separar este equipamento em duas classes: reatores enzimáticos e reatores com células vivas (OLIVEIRA-LOPES; DA CUNHA, 2008; SCHMIDELL et al., 2001; SILVA, 2013).

Os fermentadores foram os primeiros reatores desenvolvidos. Os reatores que utilizam células vivas são os mais conhecidos e os mais utilizados, de forma geral, a sua utilização na indústria vem sendo largamente efetuada desde 1940 na geração de inúmeros produtos como enzimas, antibióticos, vitaminas, ácidos orgânicos, solventes, e ou no tratamento de resíduos industriais e ou domésticos. Tal equipamento é o coração de qualquer processo de conversão de uma matéria prima em um produto final, sendo o único componente insubstituível (HILL; ROOT, 2014; SCHMIDELL et al., 2001).

Para entender o desempenho de biorreatores é necessário entender os fenômenos físicos e biológicos que ocorrem no seu interior. Os fenômenos físicos que influenciam o desempenho de processos de um biorreator são os seguintes:

- Padrão de fluxo do substrato juntamente com o seu tempo de circulação;
- Eficiência na disponibilização de ar no tanque de reação, assim como o volume de gás o qual ele pode reter;
- Transferência de massa de oxigênio no seu interior;
- Capacidade de homogeneizar o todos os elementos do tanque e todos os efeitos referentes ao cisalhamento desta homogeneização no tanque de reação.

os efeitos mencionados anteriormente podem ser controlados manipulando a geometria do biorreator e o seu agitador (efetuar ajustes na agitação) assim como manipular a viscosidade do substrato usado no processo e as tensões interfaciais, esses dois fenômenos afetam as bolhas de gases geradas durante os processos efetuados nos biorreatores. Os fenômenos biológicos que afetam a utilização de biorreatores são:

- Taxa de crescimento celular;
- Produtividade celular;
- Taxa de absorção de substrato;

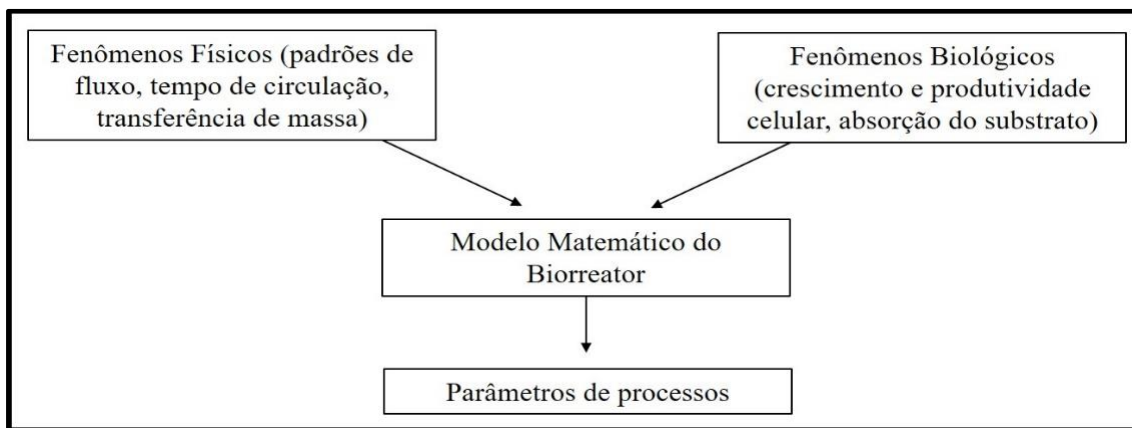
geralmente essas informações são obtidas em ensaios laboratoriais, muitas vezes decorridos em condições muito distantes das grandes escalas. Portanto entender essas propriedades afetam significativamente o desempenho global de qualquer processo executado em um biorreator. Entender outras áreas como: engenharia de bioprocessos, balanço de massas e energia, transferência de massa e calor, entre outras são necessárias para ter uma melhor descrição do desempenho de biorreatores. Como a necessidade de informação

é muito grande o desenvolvimento de biorreatores é uma das áreas mais complexas para se atuar (DUNN et al., 2009; SILVA, 2013).

Para todos os problemas possíveis que possam afetar um bom processo fermentativo em biorreatores é possível estudá-los e analisá-los com a ajuda de ferramentas computacionais, estabelecendo modelos matemáticos, modelos os quais tem a capacidade de descrever e simular os fenômenos e efeitos ocorridos no equipamento nos dando uma descrição do desempenho do mesmo, pela figura 1 é possível estimar um fluxo das informações necessárias para o estabelecimento de um modelo matemático. Como mostrado na Figura 1 um modelo matemático pode descrever um processo no biorreator, com o uso dessa ferramenta é possível analisar as interações dos fenômenos físicos e biológicos ocorridos em um biorreator, não importando a escala do processo. Por mais complexo que o processo possa ser ele poderá ser solucionado, se todas as informações relacionadas ao equipamento forem bem analisadas e combinadas com sucesso no modelo, possibilitando a solução do mesmo e expressando resultados bem definidos sendo possível definir taxas de produção de células e produtos, seletividade do produto, o controle ideal dos processos com uma considerável exatidão e confiança (DUNN et al., 2009).

Existe um grande leque de reatores na indústria química e todos são voltados para várias finalidades, a quantidade de modelos é tão grande que é possível achar mais de um tipo de reator para o mesmo processo, isso pode ser visto no processo de nitração do tolueno onde é possível usar reatores em processo descontínuo, o de tanque agitado em processo contínuo e reatores de tanque agitados em série, também é possível usar apenas um reator para a execução de mais de um processo, como reatores de fluxo do tipo tubular, utilizados na nitração de glicerina, na sulfonação de compostos aromáticos, ou reações em fase gasosa, tais como o craqueamento térmico ou a nitração de parafinas. (FROMENT; DE WILDE; BISCHOFF, 2011). Os biorreatores são usados em muitos processos de produção, a quantidade de produtos gerados com biorreatores é imensa, um exemplo é a produção de vacinas sendo um dos produtos, de sistemas de pequenos biorreatores com tanque agitado (STR) ou em reatores do tipo leito, mais produzidos e sendo um dos dez medicamentos mais vendidos, biorreatores anaeróbicos ou aerados do tipo membrana são alguns dos tipos de biorreatores essenciais em sistemas de tratamento águas residuais, sem o emprego deste equipamento o tratamento de esgotos seriam extremamente lentos isso causaria sérios problemas ambientais (BAREITHER et al., 2013; RAJENDRAN R, LINGALA R, VUPPU SK, BANDI BO, MANICKAM E, MACHERLA SR, DUBOIS S, HAVELANGE N, 2014; SPIRITO et al., 2014; TAPIA et al., 2016).

Figura 1 – Descrição das informações necessárias para gerar um modelo matemático de um biorreator.



Fonte: Gerado a partir do trabalho de DUNN et al., 2009.

Mencionado anteriormente, existe inúmeras configurações de biorreatores e as suas aplicações são duas vezes maior do que o número de modelos existentes. Com esse grande volume de possibilidade também foi gerado uma grande especificidade de estudos em cada um desses equipamento, afinal cada um apresenta determinadas qualidades e interferentes. Com isso será descrito os principais pontos e informações dos modelos mais comuns de biorreatores, partindo da ideia de que existe duas configurações físicas de biorreatores, os do tipo tanque e tipo tubo (HILL; ROOT, 2014). Neste trabalho será usado apenas os reatores do tipo tanque.

Os biorreatores do tipo tanque ideais tem a capacidade de manter toda a sua composição interna e sua temperatura homogênea em qualquer ponto do seu tanque de reação, ele pode ser operado de muitas formas, Figura 2, os modos de operação suportados são três, batelada, semibatelada e fluxo contínuo. Na operação em batelada, Figura 2 A) o substrato é carregado no equipamento e permanece no mesmo todo o processo, o produto também é retirado integralmente no final do processo, todo e qualquer elemento do tanque do biorreator apresentara a composição homogênea em qualquer ponto do seu tanque, porém, essa composição será variável com o tempo, biorreatores em batelada são mais eficientes em processo que geram pequenas quantidades de material ou na produção de diversos produtos com um único equipamento, as reações líquidas em que é necessário produzir uma pequena quantidade de produto o reator em batelada é mais eficiente, o modo batelada é muito útil para definir dados de processos, como a cinética da reação. Não são eficientes em reações gasosas de escala comercial. (DA RÓS et al., 2010; FROMENT; DE WILDE; BISCHOFF, 2011; HILL; ROOT, 2014).

A operação em batelada é efetuada preferencial em tanques cilíndricos posicionados verticalmente, essa geometria é mais empregada devido a sua facilidade de limpeza e o menor custo na sua fabricação, o tanque pode ser feito de aço comum ou inoxidável, porém é mais vantajoso usar materiais de vidro ou polímeros na superfície interna evitando problemas de corrosão e sanitização, o sistema de agitação é

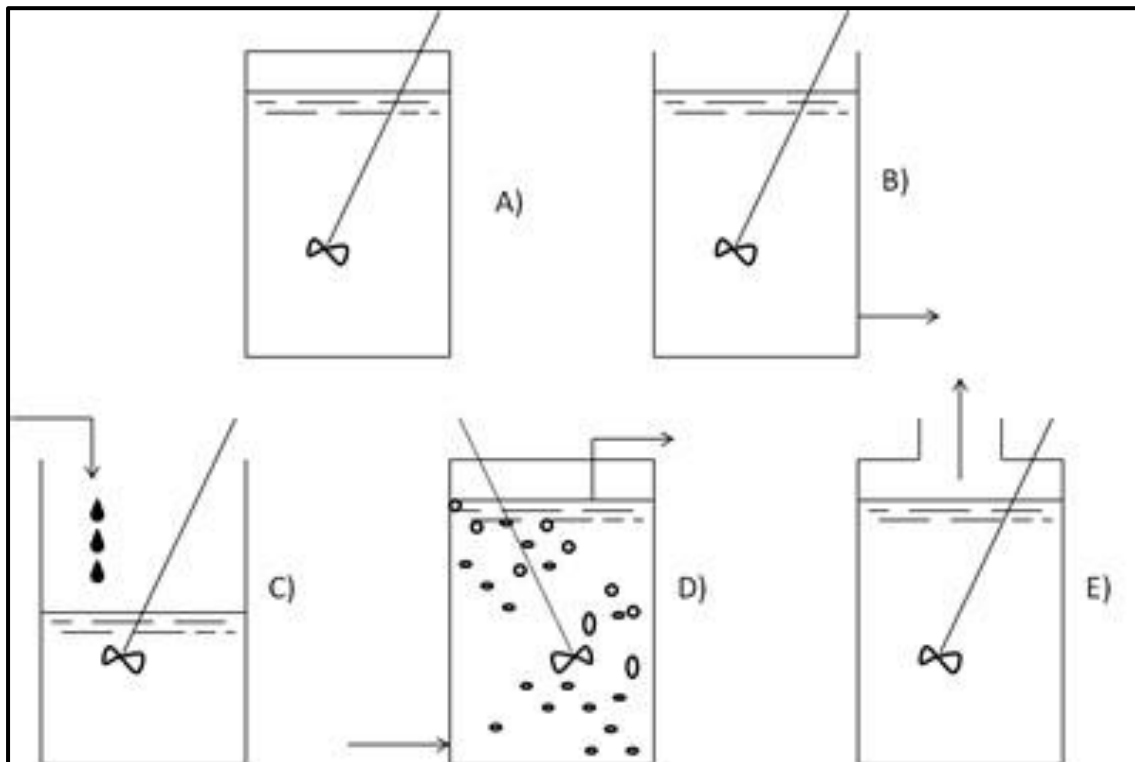
influenciado pelo diâmetro do tanque, devido a isso pode ser necessário a utilização de sistemas de agitação mais complexos, agitação fornecida por palhetas de diversas configurações e ou por borbulhamento forçado por uma bomba externa ou embutida. Tanto no equipamento quanto na operação em batelada é necessário efetuar um controle energético do sistema com trocadores de calor, a configuração desse trocador de calor pode ser diverso, sendo acoplado ao equipamento ou por artifícios diretos, com acoplamento pode ser usado uma jaqueta com fluido de troca de calor que reveste o tanque externamente, ou por tubos internos, para controle de temperatura diretamente no meio pode ser usado aquecimento por uma resistência elétrica ou por queima direta, a escolha do método vai depender da área do equipamento, possíveis incrustações e as exigências de calor do processo (FROMENT; DE WILDE; BISCHOFF, 2011; HILL; ROOT, 2014).

Os reatores que operam em modo batelada são efetivos para o uso em bancada, porém não são muito efetivos na escala industrial, pois eles não suportam grandes quantidades de sistemas imobilizados e sofrem muito com as tensões de cisalhamento causadas pela agitação mecânica, eles exigem um grande volume para ter um bom rendimento, o tempo de conversão de substrato em produto é muito grande e o tempo para separar o produto é maior ainda, afinal toda a reação ocorre no mesmo tanque (SILVA, 2013).

Na Figura 2 B) é descrito a operação em fluxo contínuo, ele é representado por um CSTR (reator de tanque agitado continuamente) onde ele é parcialmente preenchido com substrato enquanto existe uma alimentação do mesmo até atingir o produto final, ele pode também ser usado em modo de semibatelada. A operação em fluxo contínuo é preferencialmente mais usada em processos que exigem uma maior capacidade de processamento. Os CSTR são os reatores do tipo tanque mais usados em modo de fluxo contínuo, pois eles podem ser usados em série, onde cada CSTR ligado vai executar uma etapa do processo a ser efetuado, essa forma de operação é usada com frequência na transesterificação de biodiesel aproveitando ao máximo a vantagem de poder ter etapas de separação entre os tanques, evitando a inibição pelo produto ou subproduto do processo, um exemplo é a separação do glicerol liberado na transesterificação do biodiesel (FROMENT; DE WILDE; BISCHOFF, 2011; HILL; ROOT, 2014; SILVA, 2013)

Na Figura 2 C), D) e E) está apresentada a operação em semibatelada, ele pode ser dividido em três formas de operação, no modo C) o equipamento é alimentado com substrato ininterruptamente, no modo D) enquanto a um substrato é considerado contínuo, os restantes são considerados em forma de batelada, na operação E) há uma vazão constante de produto no tanque, onde o equipamento é carregado com o substrato e o produto é retirado a medida que o produto é formado. A operação de semibatelada pode ser efetuada no mesmo equipamentos que são feitos as operações de batelada, no entanto os projetos dos reatores que operam em semibatelada são os mais difíceis de serem estudados, pois o seu sistema é considerado aberto e em condições não estáveis, no entanto tal modo de operação é muito eficiente na seletividade de reações em fase líquida, isso é possível pois nele é muito prático controlar o surgimento de subproduto indesejáveis efetuando um simples controle na alimentação do substrato (FOGLER, 2012; FROMENT; DE WILDE; BISCHOFF,

Figura 2 – Modos de operação de reatores do tipo tanque.



Fonte: Gerado a partir do trabalho de (HILL; ROOT, 2014)

2.3-TRANSPORTE DE OXIGÊNIO EM REATORES

Bioquimicamente a molécula de O_2 é o último receptor de elétrons na cadeia respiratória, isso é devido a redução do O_2 à água por íons H^+ , o oxigênio oxida as coenzimas NADH e $FADH_2$ da glicose e do ciclo de Krebs. Todo esse processo no qual o oxigênio participa permite o armazenamento de energia nas células pela conversão de ADP em ATP, essa conversão gera energia necessária para as reações síntese de biomoléculas essenciais para manutenção celular e obtenção de produtos de interesse. Caso a disponibilidade de oxigênio não seja o suficiente para o meio as células direcionam parte do fluxo de carbono para um metabolismo fermentativo, gerando produtos indesejáveis, diminuindo a geração de biomassa e de proteínas recombinantes (JUNIOR, 2014)

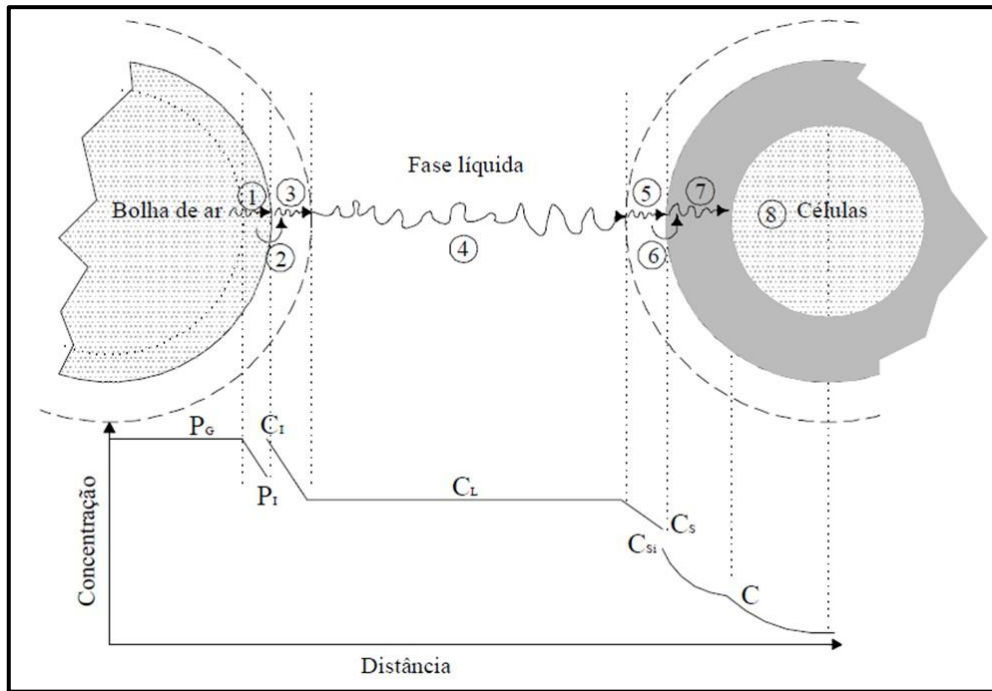
Dos nutrientes que estão disponíveis em um meio de cultura para microrganismos o oxigênio é o nutriente menos solúvel de todos que estão disponíveis, para aumentar a disponibilidade de oxigênio solúvel no meio são empregados sistemas de aeração e agitação que aceleram o processo de solubilização facilitando a chegada de oxigênio nas células. Os microrganismos que tem o metabolismo aeróbico exigem uma demanda

progressiva de oxigênio para a manutenção das suas atividades biológicas, crescimento e à respiração celular, devido a isso é muito comum em bioprocessos haver a mesma necessidade de oxigênio, independente da forma de operação do bioprocessamento. A demanda de oxigênio pode sofrer interferência de alguns fatores como, o tipo de microrganismo ou célula usado no bioprocessamento, a fase de crescimento do microrganismo, a velocidade do crescimento celular e a concentração de células no meio. A distribuição insuficiente de oxigênio no meio, devido as configurações adotadas ao reator, pode prejudicar o desenvolvimento de uma operação, essa interferência pode ser observada em tratamentos de esgotos, pois a insuficiência de O_2 é um fator limitante para as reações de oxidação de amônia.(BUSTAMENTE, 2013; GARCIA-OCHOA; GOMEZ, 2009; THANS, 2008; YE et al., 2012).

É possível esquematizar as principais etapas do transporte de oxigênio desde uma bolha ou meio gasoso até a célula consumir o oxigênio, oito são os obstáculos que dificultam o transporte de massa de oxigênio (AJADIR FAZOLO; FORESTI; ZAIAT, 2001; GARCIA-OCHOA; GOMEZ, 2009). Esses obstáculos são os seguintes:

1. Entre o seio do gás da bolha e a interface gás-líquido
2. Interface gás-líquido
3. Próximo à interface gás-líquido, entre essa interface e o meio líquido
4. Meio líquido
5. Entre o meio líquido e a interface líquido-sólido (resistência externa)
6. Interface líquido sólido
7. Fase sólida (resistência interna)
8. Sítios de reação bioquímica (dentro do microrganismo)

Figura 3 – Esquema dos obstáculos do transporte de massa de oxigênio da bolha até o consumo da célula.



Fonte: Gerado a partir do trabalho de (AJADIR FAZOLO; FORESTI; ZAIAT, 2001)

Com o auxílio da teoria das duas películas estagnadas, considera uma bolha de ar suspensa no meio líquido que carrega uma película estagnada de ar na interface gás-líquido e o seio gasoso, similarmente é admitido a existência de outra película, porém de líquido estagnado circundando a bolha de ar. Com base na teoria anterior é possível definir a taxa volumétrica de oxigênio, ou sua concentração, em cultivos de microrganismo aeróbicos, para isso é empregado o uso de uma equação que a qual relaciona a concentração de oxigênio dissolvido na fase líquida em equilíbrio com a pressão parcial de oxigênio da fase gasosa (C_s), a concentração do oxigênio na fase líquida (C) e o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{LA}):

$$\frac{dC_{O_2}}{dt} = k_L a (C_s - C) \quad 2.3$$

o k_{LA} é um coeficiente vindo do produto de dois termos, coeficiente convectivo de transferência de massa (k_L) e a área interfacial de troca de massa (a), esse termo é o quociente da área total de troca de massa (A_{bolhas}) e o volume útil do biorreator (V):

$$a = \frac{A_{bolhas}}{V} \quad 2.4$$

os termos A_{bolhas} e V dependem das seguintes variáveis, as propriedades físicas do líquido (densidade, viscosidade dinâmica e tensão superficial), difusividade da molécula de O_2 no líquido e a intensidade de agitação e vazão de alimentação de ar. A determinação do k_{LA} é um parâmetro de avaliação da transferência de oxigênio em biorreatores levando em consideração as condições de operação e a geometria do sistema (AJADIR FAZOLO; FORESTI; ZAIAT, 2001; BUSTAMENTE, 2013; ESPERANÇA, 2014; GUERREIRO, 2013; JUNIOR, 2014; THANS, 2008).

O k_{LA} é um parâmetro importante, com este parâmetro bem definido é possível comparar a eficiência de misturadores e biorreatores, ele também descrever com grande satisfação a maneira que o O_2 se difunde da fase gasosa para o líquido, podendo estabelecer a demanda adequada de O_2 na cultura, dessa forma é essencial determinar o k_{LA} nos processos fermentativos de biorreatores, com esse coeficiente definido é possível efetuar ajustes no equipamento (rotor, geometria do biorreator velocidade de agitação e vazão de ar), composição e propriedades do meio, concentração e morfologia do microrganismo e propriedades do biocatalizador, visando melhorar a disponibilidade de O_2 durante o processo fermentativo. Para determinar o k_{LA} é possível empregar três métodos distintos, método químico, método físico, método biológico. (BUFFO, 2016; BUSTAMENTE, 2013; JUNIOR, 2014; MOUTAFCHIEVA et al., 2013; MÜLLER; MURRAY; MACHNE, 2012).

O método químico para medição do k_{LA} mais comum é o de oxidação de sulfito por O_2 . A oxidação do sulfito é baseada na rápida oxidação do sulfito de sódio (Na_2SO_3) ao sulfato de sódio (Na_2SO_4), a concentração de O_2 é medida por um eletrodo que analisa até todo o Na_2SO_3 seja oxidado a Na_2SO_4 , o ensaio é laboratorial e o tempo de ensaio é em horas, o método é muito trabalhoso e limitado (ARAÚJO, 2009; BUSTAMENTE, 2013; JÚNIOR, 2015; MOUTAFCHIEVA et al., 2013).

As medidas de k_{LA} por métodos físicos podem ser feitos pelo método dinâmico, nesse método é analisado a concentração de O_2 dissolvido no meio, para isso é borbulhado nitrogênio (N_2) no meio líquido para levar a concentração de O_2 a zero, após atingir esse nível é borbulhado ar ou O_2 com uma vazão conhecida, o k_{LA} é estimado pela equação descrita no trabalho de (BUSTAMENTE, 2013; SCARGIALI et al., 2010).

Análise na fase de gás é uma técnica biológica de estimar o k_{LA} , nela é medido a concentração de O_2 na entrada do fluxo de ar e na saída, nesse método a fração de oxigênio consumido é extremamente relevante, pois se não houver um grande valor de consumo a variação de O_2 na entrada até a saída não será significativa necessitando utilizar outro método para medir o k_{LA} (GARCIA-OCHOA; GOMEZ, 2009; MOUTAFCHIEVA et al., 2013).

3-METODOLOGIA

As bateladas foram feitas em um biorreator aerado com volume máximo de 10 litros, figura 4, no biorreator foi efetuado três ensaios efetuando medidas do oxigênio dissolvido no meio (DO) através do medidor do equipamento. Cada batelada usou um microrganismo diferentes. A primeira batelada foi com o *Lactobacillus bulgarius* em meio Mueller-Hinton o segundo ensaio foi feito com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* em meio saboro, o terceiro ensaio foi feito de acordo com o trabalho de SOUZA (2016).

Figura 4 - Foto do biorreator tanque agitado propriedade do LabISisBio da UFPA. Utilizado para obter os resultados experimentais deste trabalho.



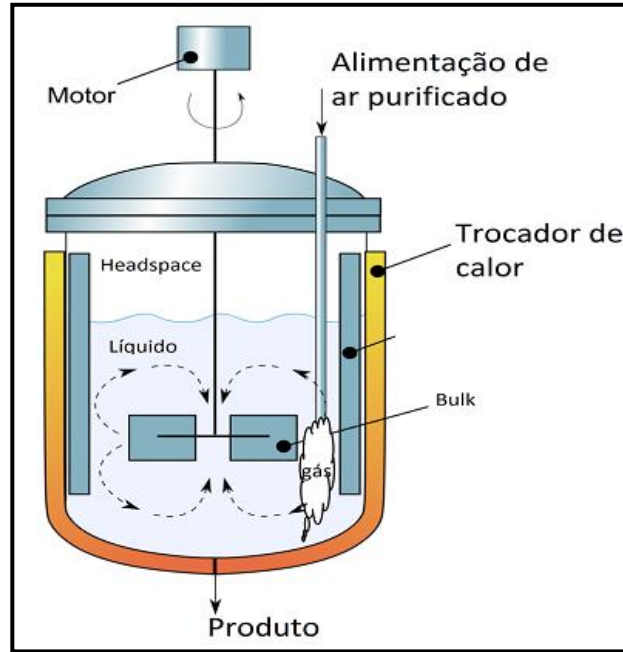
Fonte: Gerado pelo autor deste trabalho

As equações que descrevem o modelo matemático do problema foram desenvolvidas através de um balanço de espécies para a espécie gasosa, O_2 , baseadas no estudo proposto por (MÜLLER; MURRAY; MACHNE, 2012), o modelo descreve a transferência de massa no biorreator, o modelo é aplicado nas fases líquida, head space e bolha, as equações que iram descrever a transferência de O_2 estão presentes nas eqs. 3.1-3.3. A Figura 5 apresenta um esquema teórico do biorreator utilizado para fazer as proposições do modelo, na figura estão descritas as fases onde será aplicado o estudo. As medidas físicas fixas do biorreator usados nas simulações estão disponíveis na Tabela 1.

Tabela 1. Dados utilizados nas simulações.

V_l (m ³)	V_b (m ³)	V_h (m ³)	ϕ_g (m ³ /h)	$C_{g,in}$ (mol/m ³)	A_h (m ²)	A_b (m ²)	A_l (m ²)	V_T (m ³)
0,0076	$1,4137 \times 10^{-5}$	0,00594	0,75	23,3413	0,0283	0,0028	0,0283	0,00761414

Figura 5 - Esquema do Biorreator.



Fonte: Gerado a partir do trabalho de (WANG et al., 2017)

Balanco de massa (O₂) para a parte líquida do biorreator:

$$\frac{dc_l}{dt} = k_{L,b} \frac{A_b}{V_l} (k_H c_b - c_l) + k_{L,h} \frac{A_h}{V_l} (k_H c_h - c_l) + q_{cell} \quad 3.1$$

Balanco de massa (O₂) para a parte head space do biorreator:

$$\frac{dc_b}{dt} = \frac{\phi_g}{V_b} (c_{g,in} - c_b) - k_{L,b} \frac{A_b}{V_b} (k_H c_b - c_l) \quad 3.2$$

Balanco de massa (O₂) para a parte bolha do biorreator:

$$\frac{dc_h}{dt} = \frac{\phi_g}{V_h} (c_b - c_h) - k_{L,h} \frac{A_h}{V_h} (k_H c_h - c_l) \quad 3.3$$

onde C_l , C_b , C_h e $C_{g,in}$ são as concentrações de O_2 na fase líquida, bolha, head space e e na entrada da aeração respectivamente, em mol/m^3 , $K_{L,b}$ e $K_{L,h}$ são os coeficientes de transferência de massa entre bolhas e líquido, head space e líquido, respectivamente em m/h , K_H é a constante de Henry, A_b , A_h são a área de transferência de massa entre as bolhas e o líquido e entre head space e o líquido, respectivamente em m^2 , V_l , V_b e V_h são os volumes das áreas do tanque de líquido, head space e bolhas em m^3 , enquanto o φ_g é a taxa de fluxo de gás em m^3/h . O termo q_{cell} , eq. 4, é referente a taxa de respiração da célula em $\text{mol/m}^3\text{h}$:

$$q_{cell} = - \left(\frac{\varphi_g}{V_l} \right) C_{g,in} \frac{V_{max} C_l(t)}{k_m + C_l(t)} \quad 3.4$$

onde k_m e V_{max} são parâmetros cinéticos do modelo proposto, ele representa uma medida da atração da enzima pelo substrato e a velocidade máxima da reação, explicado por FOGLER (2012).

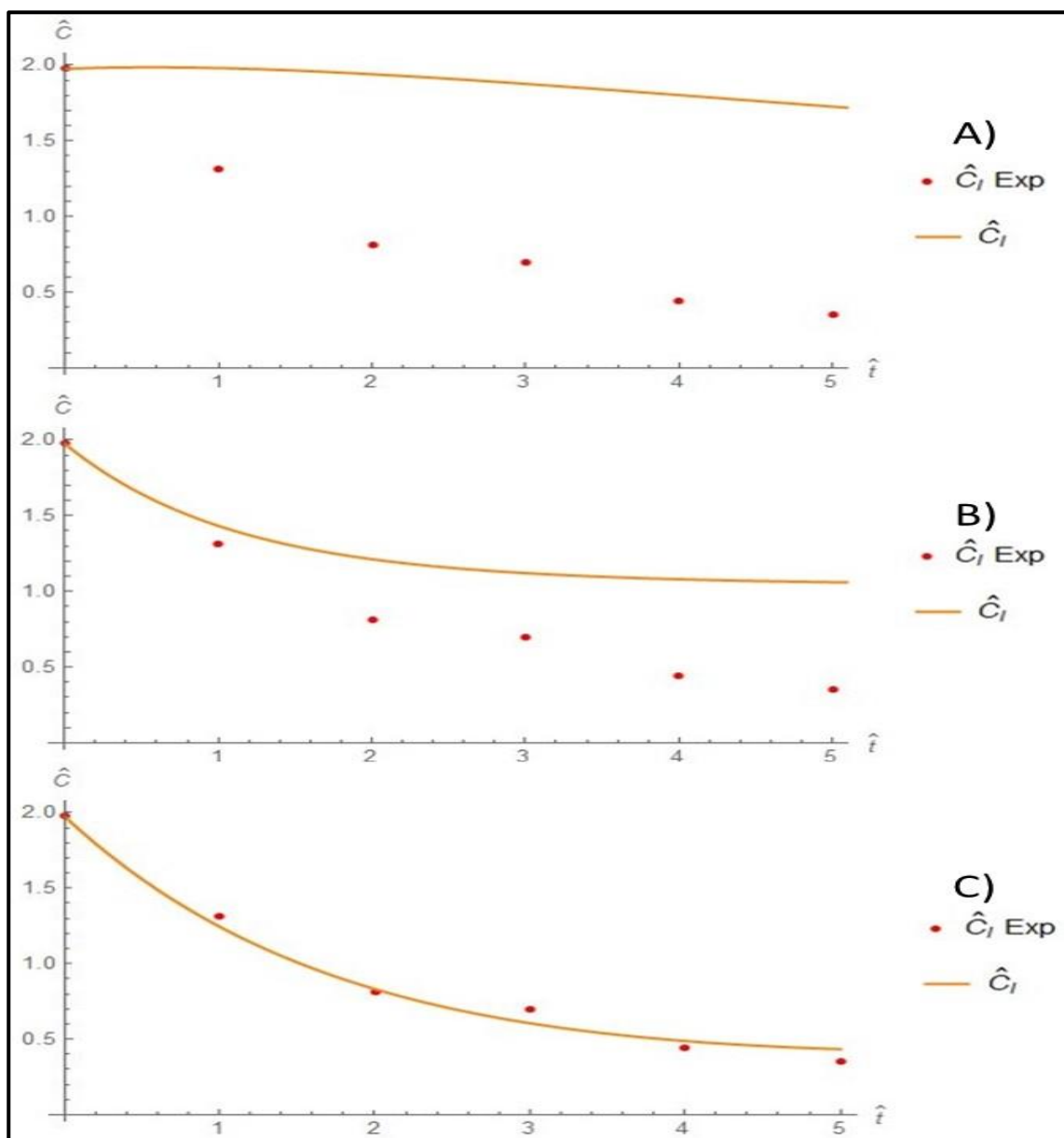
As eqs. (3.1-3.3) foram solucionadas numericamente empregando-se o pacote de solução de equação diferenciais ordinárias do software *Mathematica*, e com o comando `NDSolve` desse software que soluciona numericamente equações diferenciais, com as seguintes condições iniciais:

$$C_b(t = 0) = C_{g,in}; C_l(t = 0) = 0; C_h(t = 0) = 0 \quad 3.5-3.7$$

4-RESULTADOS E DISCUSSÃO

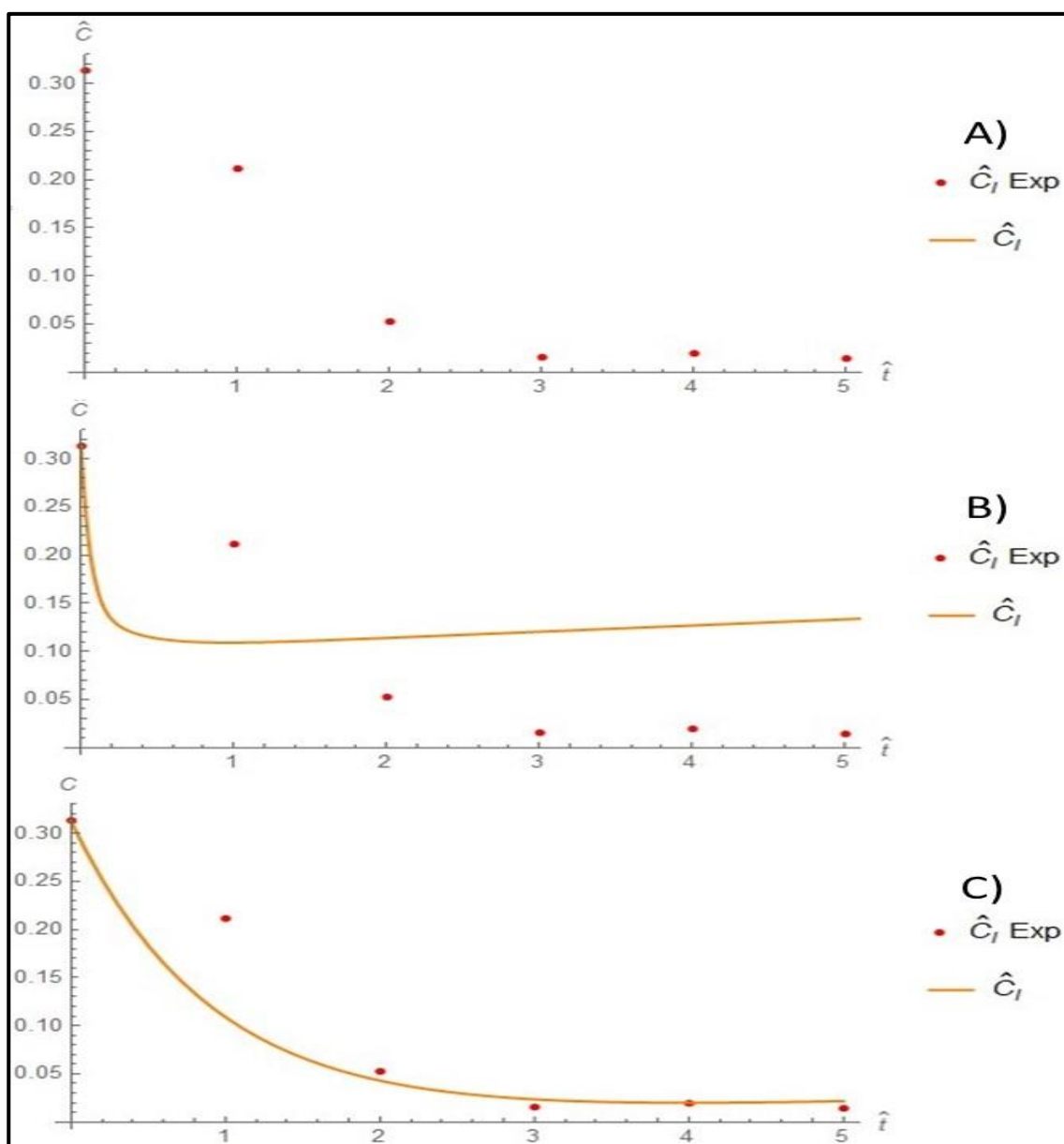
Em todas as bateladas, o ensaio com a bactéria e levedura, foi estimado a quantidade de O_2 dissolvido (DO) na fase líquida usando o medidor digital do próprio biorreator, exceto o terceiro ensaio, os dados foram obtidos do trabalho de SOUZA (2016). Foi feita uma análise a mais tratando os dados disponíveis no trabalho de MÜLLER; MURRAY; MACHNE (2012).

Figura 6 – Perfil da fração de oxigênio na fase líquida da primeira batelada, onde A é o perfil descrito pelo modelo de (MÜLLER; MURRAY; MACHNE, 2012) e os parâmetros de C, B é o perfil com o mesmo modelo porém com os parâmetros otimizados para o modelo e C é o perfil com o modelo proposto no trabalho.



Fonte: Gerado pelo autor deste trabalho.

Figura 7 – Perfil da fração de oxigênio na fase líquida da segunda batelada, onde A é o perfil descrito pelo modelo de (MÜLLER; MURRAY; MACHNE, 2012) e os parâmetros de C, B é o perfil com o mesmo modelo porém com os parâmetros otimizados para o modelo e C é o perfil com o modelo proposto no trabalho.



Fonte: Gerado pelo autor deste trabalho.

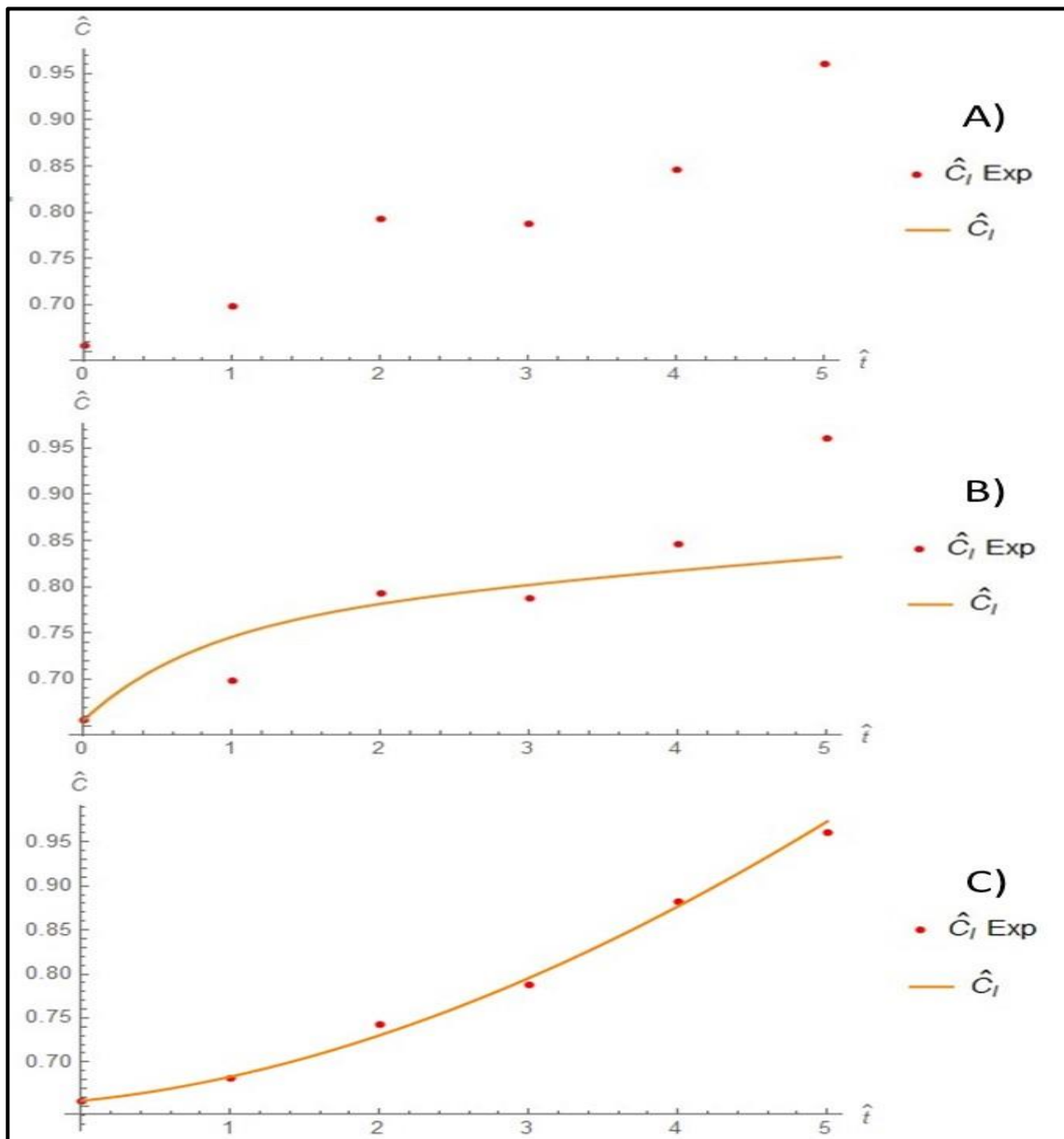
Com o primeiro ensaio efetuado com a bactéria foi possível gerar os gráficos da figura 6, onde o gráfico A mostra a fração de oxigênio na fase líquida do biorreator descrito pelo modelo desenvolvido por (MÜLLER; MURRAY; MACHNE, 2012) com os ajustes no $K_{L,b}$ e $K_{L,h}$ aplicados no modelo desenvolvido para esse trabalho, gráfico C, pelo gráfico A a reta laranja que descreve o perfil calculado pelo modelo indica que haveria uma grande quantidade de O_2 dissolvido na fase líquida, perfil que não condiz com o ensaio experimental, pontos vermelhos, ajustando $K_{L,b}$ e $K_{L,h}$ para o modelo de (MÜLLER; MURRAY; MACHNE, 2012) foi gerado o gráfico B, os valores estimado de $K_{L,b}$ e $K_{L,h}$ foram 68 m/h e 60 m/h, esses valores indicam que ao longo da batelada a concentração de O_2 diluído na fase líquida seria maior do qual foi medido experimentalmente. No

gráfico C é possível ver o ajuste atingido com o modelo proposto neste trabalho, o modelo seguiu a tendência dos pontos experimentais, os valores de $K_{L,b}$ e $K_{L,h}$ que proporcionaram esse ajuste foram 180 m/h e 70 m/h, os parâmetros da cinética de Michaelis-Menten adotados para o ajuste foram retirados dos trabalhos de (HERTZBERGER, 2018; YI; KOT; BEZKOROVAINY, 1998).

Com os valores de $K_{L,b}$ e $K_{L,h}$ estimados é possível ajustar a aeração do processo adequando o ambiente ao microrganismo, no caso de uma fermentação com *Lactobacillus* essa aeração pode ser opcional, uma vez que esse organismo consegue migrar de um metabolismo aeróbico para um anaeróbico, (RICCIARDI et al., 2014; SASAKI et al., 2014), no entanto esse comportamento não é muito interessante, para isso é importante manter o perfil ideal de O_2 no meio, esse controle é melhor feito ajustando o parâmetro $K_{L,b}$.

O segundo ensaio foi efetuado com a levedura *Saccharomyces*, foi possível gerar os gráficos da figura 7, onde o gráfico A mostra a fração de oxigênio na fase líquida do biorreator descrito pelo modelo desenvolvido por (MÜLLER; MURRAY; MACHNE, 2012) com os ajustes no $K_{L,b}$ e $K_{L,h}$ aplicados no modelo desenvolvido para esse trabalho, gráfico C, pelo gráfico A a reta laranja que descreve o perfil calculado pelo modelo não está presente, pois os parâmetros $K_{L,b}$ e $K_{L,h}$ descrevem uma quantidade de O_2 dissolvido na fase líquida tão grande a qual não é possível ver na escala do gráfico, esse comportamento não é compatível com o ensaio. Ajustando $K_{L,b}$ e $K_{L,h}$ para o modelo de MÜLLER; MURRAY; MACHNE, (2012) foi gerado o gráfico B, os valores estimados de $K_{L,b}$ e $K_{L,h}$ descreveram uma diminuição na concentração de O_2 diluído na fase líquida logo no início do processo seguido de um sutil aumento, em seguida a fração de O_2 fica constante, no entanto esse comportamento não segue a tendência da batelada.

Figura 8 – Perfil da fração de oxigênio na fase líquida da terceira batelada, onde A é o perfil descrito pelo modelo de (MÜLLER; MURRAY; MACHNE, 2012) e os parâmetros de C, B é o perfil com o mesmo modelo porém com os parâmetros otimizados para o modelo e C é o perfil com o modelo proposto no trabalho.



Fonte: Gerado pelo autor deste trabalho.

O gráfico C da figura 7 apresenta o ajuste conseguido pelo modelo proposto neste trabalho, o modelo conseguiu agregar grande parte dos pontos experimentais, os valores de $K_{L,b}$ e $K_{L,h}$ que ajustaram a reta foram 0,068 m/h e 9,05 m/h, os parâmetros da cinética de Michaelis Menten adotados para o ajuste foram retirados dos trabalhos de (LIAN; MISHRA; ZHAO, 2018; RIZZI et al., 1997).

O cultivo submerso da *Saccharomyces* gera um meio muito coloidal, devido a formação irregular de peletes da levedura (CURRAN; BUGEJA, 2014; GALANAKIS et al., 2012). Essa má formação de peletes dificulta a aeração do meio, resultando em um valor menor de $K_{L,b}$ no ajuste, isso faz com o a transferência de O_2 entre o headspace e a fase líquida seja mais significativo, resultando em um valor maior no $K_{L,h}$.

O terceiro ensaio efetuado foi obtido a partir dos dados disponíveis na tese de SOUZA (2016) com eles foram construídos os gráficos da figura 8, onde o gráfico A mostra a fração de oxigênio na fase líquida do biorreator descrito pelo modelo desenvolvido por (MÜLLER; MURRAY; MACHNE, 2012) com os ajustes no $K_{L,b}$ e $K_{L,h}$ aplicados no modelo desenvolvido para esse trabalho, gráfico C, pelo gráfico A a reta laranja, o perfil calculado pelo modelo, indica que haveria uma grande quantidade de O_2 dissolvido na fase líquida, valores tão grandes que não estão na escala do gráfico, tal perfil não condiz com o ensaio experimental, uma vez que os valores medidos de DO estão abaixo de 1 na escala do gráfico.

Ajustando $K_{L,b}$ e $K_{L,h}$ para o modelo de (MÜLLER; MURRAY; MACHNE, 2012) foi gerado o gráfico B, os valores estimado de $K_{L,b}$ e $K_{L,h}$ foram 48 m/h e 74,5 m/h, esses valores foram os que melhora adequaram a reta para o modelo de MÜLLER; MURRAY; MACHNE (2012), porem mesmo esses valores não conseguiram ajustar de forma adequada o perfil de O_2 diluído no meio, esse ajuste não atinge os níveis de O_2 no meio, a reta fica bem abaixo dos pontos finais do ensaio experimental.

No gráfico C é possível ver o ajuste atingido com o modelo proposto neste trabalho, o modelo seguiu a tendência dos pontos experimentais, os valores de $K_{L,b}$ e $K_{L,h}$ que proporcionaram esse ajuste foram 13,5 m/h e 11 m/h, os parâmetros da cinética de Michaelis Menten adotados para o ajuste foram retirados do trabalho de SOUZA (2016). Com o Ajuste foi possível seguir satisfatoriamente a tendência dos pontos coletados durante o experimento.

Com Os dados do trabalho de MÜLLER; MURRAY; MACHNE (2012) foi gerado os gráficos da figura 9, com a aplicação do modelo desenvolvido neste trabalho foi possível descrever o perfil de O_2 na fase líquida com maior exatidão, quando comparado com o gráfico do trabalho fonte. No trabalho de MÜLLER; MURRAY; MACHNE (2012) para conseguir um ajuste adequado a reta calculada, ele usou de outros modelos e condições para atingir um modelo que pudesse descreve o comportamento compatível com os dados obtidos por ele.

O modelo MÜLLER; MURRAY; MACHNE (2012) não consegue efetuar um ajuste da reta adequado pois a terceira parcela da equação 2.1, q_{cell} , não leva em consideração o metabolismo do microrganismo usado no biorreator, termo usado por ele é o seguinte:

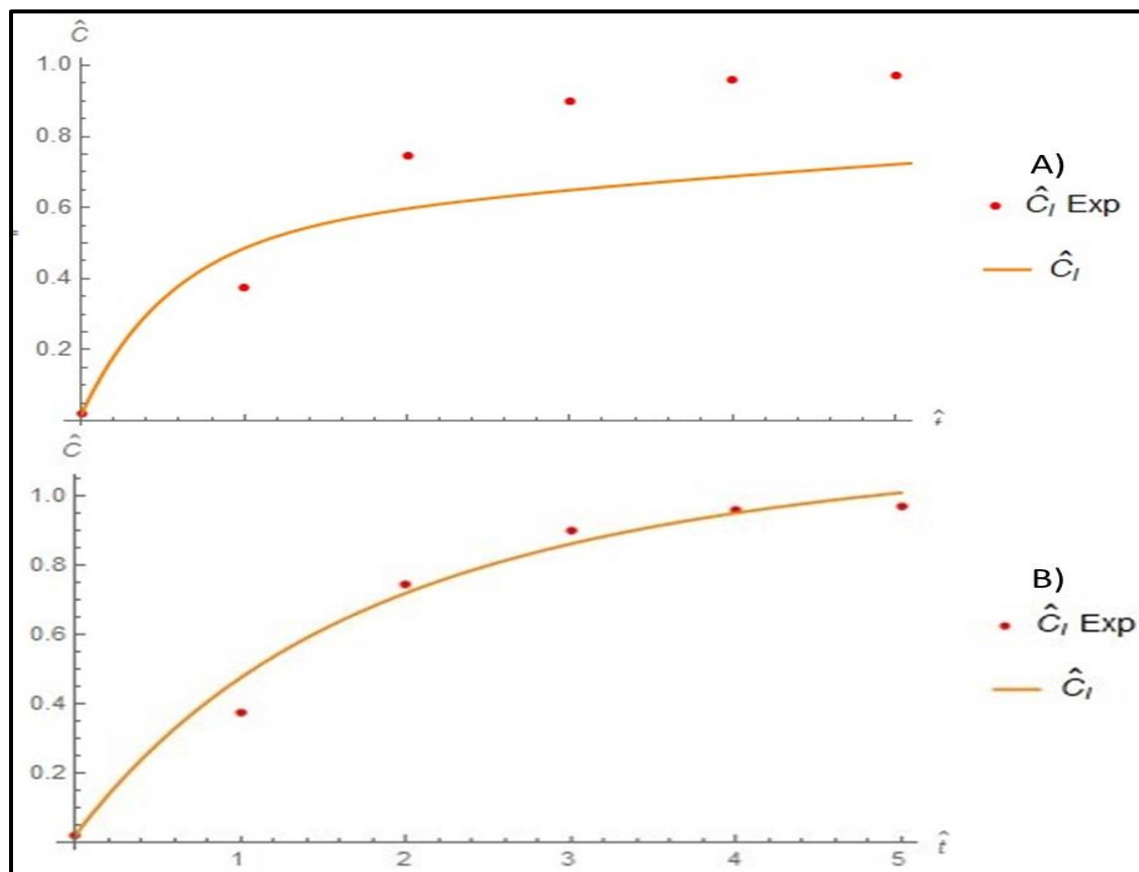
$$q_{cell} = -\left(\frac{V_L}{\varphi_g}\right)(C_{g,in} - C_h(t)) \quad 4.1$$

essa parcela considera que a respiração celular é baseada na quantidade de oxigênio na alimentação, em nada essa parcela leva em consideração o metabolismo do microrganismo, ignorando fatores importantes como, crescimento e morte celular, afinidade com o substrato, velocidade de geração dos produtos e entre outros

fatores (CORNISH-BOWDEN, 2015; PHELAN et al., 2012; WANG; POST, 2013).

O acréscimo de uma cinética enzimática de Michaelis-Menten, eq. 3.4, na terceira parcela da eq. 3.1 foi o fator crucial para o ajuste obtido nos gráficos C das figuras 6-9. Como os parâmetros cinéticos de Michaelis-Menten levam em consideração o crescimento celular e a afinidade com o substrato, melhorando muito o ajuste da curva de O_2 na fase líquida.

Figura 9 – Perfil da fração de oxigênio na fase líquida do trabalho de MÜLLER; MURRAY; MACHNE (2012), onde A é o perfil descrito pelo modelo de MÜLLER; MURRAY; MACHNE (2012) e com as condições do seu trabalho, o gráfico B é o perfil do modelo proposto neste trabalho



Fonte: Gerado pelo autor deste trabalho.

5-CONCLUSÕES

- O modelo proposto é adequado para descrever a fração de O_2 diluída no meio de cultivo ao longo de bioprocessos independente do microrganismo usado.
- O uso de uma cinética enzimática é essencial em modelagens de bioprocessos, devido o fator biológico do processo, consideração ignorada por MÜLLER; MURRAY; MACHNE (2012) no desenvolvimento do seu modelo para estimar o k_{La} em biorreatores
- Os valores estimados de $K_{L,b}$ e $K_{L,h}$ são de grande relevância para indicar uma aeração ideal ao meio e consequentemente fornecer de forma eficiente a vazão de O_2 que deve ser alimentada ao reator como nutriente aos microrganismo agente da fermentação.
- O $K_{L,b}$ é o parâmetro de maior relevância, pois indica que a maior transferência de O_2 ocorre entre as bolhas da aeração e o líquido, esse comportamento não ocorre em substratos com dispersões muito coloidais.

6-SUGESTÕES

- Efetuar um estudo da influência dos produtos finais e das células sobre o K_H .
- Definir uma agitação, geometria das palhetas, e aeração para controlar a estruturas dos peletes formados.
- Buscar cinéticas para cada tipo de microrganismo usado no bioprocesso.

7-REFERÊNCIAS LITERÁRIAS

- AJADIR FAZOLO, L. G. T. V.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Estimativa Dos Parâmetros Cinéticos E De De Leito Fixo Utilizado No Pós-Tratamento De Efluente Anaeróbio. *Coletânea de Trabalhos Técnicos*, v. II, p. 203–218, 2001.
- ARAÚJO, F. J. DE M. **Influência da concentração de sólidos na transferência de oxigênio em reatores de lodo ativado**. Monografia - Departamento de Engenharia Civil, Universidade federal do Rio Grande do Norte, 2009.
- BAREITHER, R. et al. Automated disposable small scale reactor for high throughput bioprocess development: A proof of concept study. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 110, n. 12, p. 3126–3138, 2013.
- BUFFO, M. M. **Transferência de oxigênio e cisalhamento em biorreator convencional com diferentes combinações de impelidores**. Dissertação - Centro de ciências exatas e tecnologia programa de pós-graduação em engenharia química, Universidade Federal de São Carlos, 2016.
- BUSTAMENTE, M. C. C. **Transferência de Oxigênio e Condições de Cisalhamento em Biorreator Convencional com Impelidores Orelha de Elefante Transferência de Oxigênio e Condições de Cisalhamento em Biorreator Convencional com**. Tese - Centro de ciências exatas e de tecnologia programa de pós-graduação em engenharia química, Universidade Federal de São Carlos, 2013.
- CERRI, M. O. et al. A new approach for $k_L a$ determination by gassing-out method in pneumatic bioreactors. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 91, n. 12, p. 3061–3069, 2016.
- CHAPRA, S. C.; CANALE, R. P. **Métodos numéricos para engenharia**. 5º ed. São Paulo: McGraw-Hill Companies, Inc, 2011.
- CORNISH-BOWDEN, A. One hundred years of Michaelis–Menten kinetics. *Perspectives in Science*, v. 4, p. 3–9, 2015.
- CRAVEN, S.; WHELAN, J.; GLENNON, B. Glucose concentration control of a fed-batch mammalian cell bioprocess using a nonlinear model predictive controller. *Journal of Process Control*, v. 24, n. 4, p. 344–357, 2014.
- CURRAN, B. P. G.; BUGEJA, V. Basic Investigations in *Saccharomyces cerevisiae*. *Methods in Molecular Biology*, v. 1163, n. 3, 2014.
- DA RÓS, P. C. M. et al. Evaluation of the catalytic properties of Burkholderia cepacia lipase immobilized on non-commercial matrices to be used in biodiesel synthesis from different feedstocks. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 14, p. 5508–5516, jul. 2010.
- DE SIQUEIRA, A. C. R. **Bioprocessos fermentativos , purificação , caracterização e estabilização de peptidase secretada pelo fungo Aspergillus terreus**. Dissertação - Faculdade de ciências farmacêuticas de ribeirão Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, universidade de São Paulo, 2013.
- DUMONT, E. et al. Volumetric mass transfer coefficients characterising VOC absorption in water/silicone oil mixtures. *Chemical Engineering Journal*, v. 221, p. 308–314, 2013.
- DUNN, I. J. et al. **Biological Reaction Engineering**. second ed. Wiley-VCH GmbH & Co. KGaA, 2009.
- ESPERANÇA, M. N. **Influência de aspectos geométricos na hidrodinâmica e transferência de oxigênio de biorreatores airlift de circulação interna**. Dissertação - Centro de ciências exatas e de tecnologia programa de pós-graduação em engenharia química Universidade Federal de São Carlos, 2014.
- FELDER, R. M.; ROUSSEAU, R. W. **Elementary Principles of Chemical Processes**. 3º ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2005.

- FOGLER, H. S. **Elementos de Engenharia das Reações Químicas**. 4^o ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.
- FROMENT, G. F.; DE WILDE, J.; BISCHOFF, K. B. **Chemical reactor analysis and design**. 3^o ed. New Jersey, John Wiley & Sons. 2010.
- GALANAKIS, C. M. et al. Effect of pressure and temperature on alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on γ -alumina pellets. *Bioresource Technology*, v. 114, p. 492–498, 2012.
- GARCIA-OCHOA, F.; GOMEZ, E. Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview. *Biotechnology Advances*, v. 27, n. 2, p. 153–176, 2009.
- GUERREIRO, F. **Influência da transferência de massa de oxigênio na acumulação de lípidos pela levedura *Rhodospiridium toruloides***. Dissertação - Universidade do Algarve, 2013.
- HARIBABU, K.; SIVASUBRAMANIAN, V. Determination of Mass Transfer Coefficient in an Inverse Fluidized Bed Reactor using Statistical and Dynamic Method for a Non-Newtonian Fluid. *Journal of Scientific & Industrial Research*, v. 72, p. 485–490, 2013.
- HERTZBERGER, R. Y. **Encounters with oxygen: Aerobic physiology and HO production of *Lactobacillus johnsonii***. Amsterdam: University of Amsterdam, 2018.
- HILL, C. G.; ROOT, T. W. **An introduction to chemical engineering kinetics & reactor design**. second ed. New Jersey, John Wiley & Sons, 2014.
- HIMMELBLAU, D. M.; RIGGS, J. B. **Engenharia química: princípios e cálculos**. 8^o ed. Rio de Janeiro: LTC, 2014.
- JUNIOR, G. C. **Reator airlift operado em sobrepessão: construção caracterização da transferência de oxigênio e aplicação em cultivos de *Escherichia coli* recombinante**. Dissertação - Centro de ciências exatas e de tecnologia programa de pós-graduação em engenharia química Gilson. Universidade Federal de São Carlos, 2014.
- JUNIOR, G. C. **Otimização do controle do oxigênio dissolvido em biorreator airlift pressurizado: aplicação em cultivos de *Escherichia coli* recombinante**. Tese - Centro de ciências exatas e de tecnologia programa de pós-graduação em engenharia química. Universidade Federal de São Carlos, 2018.
- JÚNIOR, R. DE S. **Experimentos Didáticos em Fenômenos de Transporte e Operações Unitárias para a Engenharia Ambiental**. 1^o ed. São Carlos: EdUFSCar, 2015.
- JUNNE, S. et al. Cultivation of cells and microorganisms in wave-mixed disposable bag bioreactors at different scales. *Chemie-Ingenieur-Technik*, v. 85, n. 1–2, p. 57–66, 2013.
- KSHIRSAGAR, P. R. et al. Scale up production of polyhydroxyalkanoate (PHA) at different aeration, agitation and controlled dissolved oxygen levels in fermenter using *Halomonas campisalis* MCM B-1027. *Journal of Biochemical Technology*, v. 4, n. 1, p. 512–517, 2013.
- LIAN, J.; MISHRA, S.; ZHAO, H. Recent advances in metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*: New tools and their applications. *Metabolic Engineering*, n. April, p. 0–1, 2018.
- LIN, Y. Developing a theoretical foundation for the laws of conservation. *Kybernetes*, v. 24, n. 5, p. 41–49, jul. 1995.
- MENDES, Á. J. B. **Modelagem matemática híbrida cibernética / neuronal do processo contínuo de produção de etanol por *Zymomonas mobilis***. Tese - Escola de química. Universidade federal do rio de janeiro, 2012.
- MENDES, Á. J. B.; VALDMAN, B.; SOUZA JÚNIOR, M. B. DE. Uma revisão de modelagem matemática em bioprocessos. *Ciência e Tecnologia*, p. 40–59, 2011.
- MOUTAFCHIEVA, D. et al. Experimental determination of the volumetric mass transfer coefficient. *Journal*

of Chemical Technology and Metallurgy, v. 48, n. 4, p. 351–356, 2013.

MÜLLER, S.; MURRAY, D. B.; MACHNE, R. A new dynamic model for highly efficient mass transfer in aerated bioreactors and consequences for kLa identification. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 109, n. 12, p. 2997–3006, 2012.

NIEDZWIEDZ, M.; LASZCZYK, P. Probe dynamics influence on determination of volumetric oxygen transfer coefficient. *2014 19th International Conference on Methods and Models in Automation and Robotics, MMAR 2014*, p. 395–400, 2014.

NOORMAN, H. An industrial perspective on bioreactor scale-down: What we can learn from combined large-scale bioprocess and model fluid studies. *Biotechnology Journal*, v. 6, n. 8, p. 934–943, 2011.

OLIVEIRA-LOPES, L. C.; DA CUNHA, M. B. Simulação de biorreatores contínuos com células imobilizadas para a produção de etanol. *Horizonte científico*, v. 2, p. 1–20, 2008.

OLIVEIRA, A. C. D. et al. Comparação entre três bioprocessos para a produção de enzimas proteolíticas utilizando resíduos agroindustriais. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, v. 6, n. 2, p. 822–831, 6 nov. 2012.

ORLANDELLI, R. C. et al. Enzimas de Interesse Industrial: Produção por Fungos e Aplicações. *SaBios: Rev. Saúde e Biol*, v. 7, n. 3, p. 97–109, 2012.

PHELAN, V. V et al. Microbial metabolic exchange—the chemotype-to-phenotype link. *Nature Chemical Biology*, v. 8, n. 1, p. 26–35, 1 jan. 2012.

PINTO, JOSÉ CARLOS; LAGE, P. L. C. **Métodos numéricos em problemas de engenharia química**. Rio de Janeiro: e-papers, 2001.

RAJENDRAN R, LINGALA R, VUPPU SK, BANDI BO, MANICKAM E, MACHERLA SR, DUBOIS S, HAVELANGE N, M. K. Assessment of packed bed bioreactor systems in the production of viral vaccines. *AMB Express*, v. 25, n. 4, p. 25, 2014.

RICCIARDI, A. et al. Rapid detection assay for oxygen consumption in the *Lactobacillus casei* group. *Annals of Microbiology*, v. 64, n. 4, p. 1861–1864, 2014.

RIZZI, M. et al. In vivo analysis of metabolic dynamics in *Saccharomyces cerevisiae*: II. Mathematical model. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 55, n. 4, p. 592–608, 1997.

SANTOS, A. M. DOS. **Fermentação Alcoólica Com Levedura Imobilizada Em Colmos De Bambu E Em Fibra De Coco**. Dissertação - Unidade acadêmica centro de tecnologia curso de pós-graduação em engenharia química fermentação. Universidade Federal de Alagoas, 2008.

SASAKI, Y. et al. NADH Oxidase of *Streptococcus thermophilus* 1131 is Required for the Effective Yogurt Fermentation with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 2038. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, v. 33, n. 1, p. 31–40, 2014.

SCARGIALI, F. et al. Simplified dynamic pressure method for kL a measurement in aerated bioreactors. *Biochemical Engineering Journal*, v. 49, n. 2, p. 165–172, 2010.

SCHMIDELL, W. et al. **Biotecnologia Industrial Engenharia Bioquímica**. 1º ed. São Paulo: Edgar Blucher, 2001. v. 2

SILVA, W. C. E. **Produção enzimática de biodiesel a partir de óleos láuricos em reatores de leito fixo duplo estágio incorporando coluna extratora do glicerol formado como subproduto**. Dissertação - Escola de engenharia de lorena. Universidade de São Paulo, 9 ago. 2013.

SOARES, R. D. P. **Desenvolvimento de um Simulador Genérico de Processos Dinâmicos**. Dissertação - Escola de engenharia departamento de engenharia química programa de pós-graduação em engenharia química. Universidade federal do rio grande do sul escola de engenharia, 2003.

- SOUZA, E. C. et al. Volumetric oxygen mass transfer coefficient and surface tension in simulated salt bioremediation media. *Chemical Engineering and Technology*, v. 37, n. 3, p. 519–526, 2014.
- SOUZA, M. G. DA S. **Biomonitoramento e produção de biocatalizadores ligninolíticos da microbiota do trato gastrointestinal de *Neoteredo reynei* com perspectivas de uso na produção de novas moléculas bioativas através de reações de biotransformação.** Tese - Instituto de ciências biológicas programa de pós-graduação em biotecnologia doutorado em biotecnologia. Universidade Federal do Pará, 2016.
- SPIRITO, C. M. et al. Chain elongation in anaerobic reactor microbiomes to recover resources from waste. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 27, p. 115–122, 2014.
- TAPIA, F. et al. Bioreactors for high cell density and continuous multi-stage cultivations: options for process intensification in cell culture-based viral vaccine production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 100, n. 5, p. 2121–2132, 2016.
- THANS, F. C. **Controle Operacional De Reator Em Bateladas Sequenciais (Rbs): Ajustes Na Concentração De Oxigênio Dissolvido Visando a Remoção De Nutrientes.** Dissertação - Centro tecnológico programa de pós-graduação em engenharia ambiental. Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.
- WANG, G. et al. Integration of microbial kinetics and fluid dynamics toward model-driven scale-up of industrial bioprocesses. *Engineering in Life Sciences*, v. 15, n. 1, p. 20–29, 2015.
- WANG, G.; POST, W. M. A note on the reverse Michaelis-Menten kinetics. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 57, p. 946–949, 2013.
- WANG, X. et al. A symplectic pseudospectral method for nonlinear optimal control problems with inequality constraints. *ISA Transactions*, v. 68, n. December, p. 335–352, 2017.
- YE, J. et al. Vertical oxygen distribution trend and oxygen source analysis for vertical-flow constructed wetlands treating domestic wastewater. *Ecological Engineering*, v. 41, p. 8–12, 2012.
- YI, X.; KOT, E.; BEZKOROVAINY, A. Properties of NADH oxidase from *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 78, n. 4, p. 527–534, 1998.