

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ENG. DE ALIMENTOS

**ESTUDO FENOMENOLÓGICO DO REATOR
BATELADA ALIMENTADA UTILIZANDO DOIS
PROCESSOS FERMENTATIVOS DISTINTOS**

TATIANE ARAUJO GONZALES

Engenheira de Alimentos

PROF. DR. RANULFO MONTE ALEGRE

Orientador

Dissertação apresentada à Comissão de Pós-Graduação da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Campinas/SP
Março – 2004

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

G589e Gonzales, Tatiane Araujo
Estudo fenomenológico do reator batelada alimentada
utilizando dois processos fermentativos distintos / Tatiane Araujo
Gonzales. – Campinas, SP: [s.n.], 2004.

Orientador: Ranulfo Monte Alegre
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Balanço de material. 2.Fermentação. 3.*Batelada
alimentada. 4.*Cinética de fermentação. I.Alegre, Ranulfo
Monte. II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de
Engenharia de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ranulfo Monte Alegre
Orientador

Prof. Dr. Romildo Martins Sampaio
Membro

Dr. Victor Haber Pérez
Membro

Profa. Dra. Telma Teixeira Franco
Membro Suplente

Campinas, março de 2004

*Aos meus pais, Flavio e Ligia
por tudo....
Dedico*

*Ao Hélio pelo carinho e
companheirismo....
Ofereço*

AGRADECIMENTOS

Á Deus, por tudo.

Ao Professor Dr. Ranulfo Monte Alegre, pela orientação, dedicação, paciência e amizade, meu muito obrigada.

Aos meu pais, Flavio e Ligia, merecedores da minha admiração e respeito, meu referencial de força, coragem, determinação e caráter. Nunca medindo esforços para que eu conseguisse alcançar meus objetivos, minha fonte de incentivo, sempre apoiando meus estudos durante toda minha vida e principalmente durante o mestrado, o qual fomos privados de ficarmos juntos, não me deixando desestimular nunca, ensinando-me a caminhar com minhas próprias pernas. Muito obrigada mesmo! Meu êxito é fruto de seus esforços.

Ao Hélio, meu amor, pelo carinho, pelo estímulo, pelo apoio pessoal, colaboração e compreensão durante todo este trabalho. Muito Obrigada!!

Ao meu irmão Cassius, pelo apoio e amizade. A minha irmã Bruna pelas boas conversas de telefone, que faziam com que minha saudade diminuísse, parecendo estar mais perto deles. Obrigada mesmo!!

Ao meu irmão Flavio, a Darli e minhas sobrinhas Kalinka e Mariana que eu adoro muito. Obrigada!!

Ao Sr, Odorico e a D.Claudia pelo apoio e estímulo. Obrigada!!!

Ao meus colegas de graduação que me acompanharam até aqui, Otávio, Machadinho, Veri, Lucielen, Márcia, Eli e Nirse. Obrigada!!

Às gurias Lucielen, Márcia e Veri pela boa convivência e companheirismo nas horas difíceis durante o ano que moramos juntas, sem vocês seria muito mais difícil. Os nossos almoços de domingo sempre farão a diferença. Obrigada!!

À Veri por ter se tornado uma grande amiga, sempre dando um incentivo nas horas mais complicadas. Espero que nossa amizade continue grande e valiosa. Obrigada!!!

Claro, ao Machadinho e Otávio, amigos que vieram junto comigo e que sem eles com certeza Campinas não teria a menor graça. Obrigada por tudo mesmo!!!

A Bia e a Camila, duas pessoas maravilhosas que conheci aqui. Obrigada pela força, carinho e boa convivência. Ao Lineu, pela alegria e amizade.

A Adri, pela acolhida logo que cheguei aqui!!! Muito Obrigada!!

Ao Rafael, técnico do laboratório, pelo apoio, sempre disposto a aprender e a ajudar, nosso braço direito. Muito Obrigada!!

Ao pessoal do laboratório, Rodenei, Cristiane, Maurício, Jean, Lucielen, Bia, e Ana Claudia, pelas dicas e momentos de descontração. Obrigada!!

Aos colegas da pós, Jaque, César, Olga, Paulo (Chiquinho), Marcio, Gustavo, Juliana e Martin muito legal ter conhecido todos vocês.

Aos professores da banca Dr. Victor Haber Pérez e a Dra. Telma Teixeira Franco, pela colaboração e sugestões. Ao Dr. Romildo Martins Sampaio, pelas oportunas correções e sugestões. Muito Obrigada!!

A Universidade Estadual de Campinas, através da Faculdade de Engenharia de Alimentos e do Departamento de Engenharia de Alimentos, pela oportunidade oferecida para realização desta pesquisa.

A Rhodia Foods, na pessoa do Professor Dr. Marcelo Cristianini, pelo fornecimento do microrganismo utilizado nas fermentações lácticas. Obrigada!!

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos durante o mestrado e graduação.

A todos que acreditaram e colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas	X
Lista de Figuras	XII
Nomenclatura	XVII
Resumo	XVIII
Summary	XIX
1 – INTRODUÇÃO	1
2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 – PROCESSO DE BATELADA ALIMENTADA	3
2.2 – CINÉTICA DO PROCESSO FERMENTATIVOS.....	6
2.3 – MODELOS CINÉTICOS.....	7
2.3.1 - MODELOS CINÉTICOS DE CRESCIMENTO CELULAR.....	10
2.3.2 - MODELOS CINÉTICOS DE FORMAÇÃO DE PRODUTO	11
2.4 – MODELAGEM MATEMÁTICA	13
2.4.1 – MASSA CELULAR.....	13
2.4.2 – SUBSTRATO	14
2.4.3 - PRODUTO	16
2.5 - APLICAÇÕES.....	17
3 – MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 – MATERIAL	20
3.1.1 – MICRORGANISMO	20
3.1.2 – MANUTENÇÃO DO MICRORGANISMO	20
3.1.3 – INÓCULO.....	21
3.1.4 – FERMENTADOR	22
3.2 – MÉTODOS	22
3.2.1 FERMENTAÇÕES TIPO BATELADA EM FERMENTADOR DE BANCADA.....	22

3.2.2 – FERMENTAÇÕES TIPO BATELADA ALIMENTADA EM FERMENTADOR DE BANCADA	23
3.3 – MÉTODOS ANALÍTICOS	23
3.3.1 - DETERMINAÇÃO DA MASSA CELULAR SECA	23
3.3.2 - DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES TOTAIS (ART)	23
3.3.3 - DETERMINAÇÃO DO PH.....	24
3.3.4 - DETERMINAÇÃO DE ETANOL	24
3.3.5 - DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO	24
3.4 - DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS	25
3.4.1 – MODELAGEM MATEMÁTICA DO PROCESSO DE BATELADA	26
3.4.2 - MODELAGEM MATEMÁTICA DO PROCESSO DE BATELADA ALIMENTADA	27
4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	31
4.1 – DADOS EXPERIMENTAIS	31
4.2 - FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA.....	31
4.2.1 - FERMENTAÇÃO EM BATELADA.....	31
4.2.2 - BATELADA ALIMENTADA.....	39
4.3 - FERMENTAÇÃO LÁTICA.....	46
4.3.1 - FERMENTAÇÃO EM BATELADA.....	46
4.3.2 - FERMENTAÇÃO EM BATELADA ALIMENTADA	48
4.4– DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS.....	54
4.5 – AJUSTE DOS PARÂMETROS E MODELAGEM CINÉTICA	56
4.5.1 - FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA.....	56
4.5.1.1 - <i>Batelada</i>	56
4.5.1.2 - <i>Batelada Alimentada</i>	60
4.5.2 - FERMENTAÇÃO LÁTICA	68
4.5.2.1 - <i>Batelada</i>	68
4.5.2.2 - <i>Batelada Alimentada</i>	71
5 – CONCLUSÕES	84
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85
7 – ANEXOS	90

7.1 – FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.....	90
7.2 - FERMENTAÇÃO LÁTICA.....	99
7.3 - CURVA PADRÃO.....	104
7.3.1 – SACAROSE.....	104
7.3.2 - GLICOSE.....	104
7.3.3 - ÁCIDO LÁTICO.....	105
7.4 – MODELAGEM CINÉTICA	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Modelos de equações cinéticas.....	9
Tabela 2: Composição do meio de cultura sólido para levedura.....	20
Tabela 3: Composição do meio de cultura sólido para bactérias.....	21
Tabela 4: Constantes cinéticas de fermentação alcoólica em batelada obtidas a partir da linearização de Lineweaver-Burk	54
Tabela 5: Parâmetros cinéticos da modelagem cinética do processo de fermentação alcoólica em batelada	56
Tabela 6: Parâmetros cinéticos da modelagem cinética do processo de fermentação alcoólica em batelada com termo de inibição pelo produto	56
Tabela 7: Parâmetros cinéticos da modelagem cinética do processo de fermentação alcoólica em batelada alimentada.....	60
Tabela 8: Parâmetros cinéticos da modelagem cinética do processo de fermentação alcoólica em batelada alimentada com termo de inibição pelo produto.....	60
Tabela 9: Parâmetros cinéticos da modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada, com e sem o termo de inibição.....	68
Tabela 10: Parâmetros cinéticos da modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada alimentada.	72
Tabela 11: Parâmetros cinéticos da modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada alimentada, com o termo de inibição pelo produto.	72
Tabela 12: Dados experimentais do processo de batelada com $[S]=20\text{g.L}^{-1}$ – BA20.....	90
Tabela 13: Dados experimentais do processo de batelada com $[S]=30\text{g.L}^{-1}$ – BA30.....	90
Tabela 14: Dados experimentais do processo de batelada com $[S]=40\text{g.L}^{-1}$ – BA40	91
Tabela 15: Dados experimentais do processo de batelada com $[S]=50\text{g.L}^{-1}$ – BA50.....	91
Tabela 16: Dados experimentais do processo de batelada com $[S]=100\text{g.L}^{-1}$ – BA100 ...	92
Tabela 17: Dados experimentais do processo de batelada com $[S]=150\text{g.L}^{-1}$ – BA150 ...	93
Tabela 18: Dados experimentais do processo de batelada com $[S]=200\text{g.L}^{-1}$ – BA200	94
Tabela 19: Dados experimentais do processo batelada alimentada – BAA1	95
Tabela 20: Dados experimentais do processo batelada alimentada – BAA2	96
Tabela 21: Dados experimentais do processo batelada alimentada – BAA3	97
Tabela 22: Dados experimentais do processo batelada alimentada – BAA4	98
Tabela 23: Dados experimentais do processo de batelada – BL1	99

Tabela 24: Dados experimentais do processo batelada alimentada – BAL1	100
Tabela 25: Dados experimentais do processo batelada alimentada – BAL2	101
Tabela 26: Dados experimentais do processo batelada alimentada – BAL3	102
Tabela 27: Dados experimentais do processo batelada alimentada – BAL4	103

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: a) gráfico da produção associada ao crescimento, b) gráfico da produção parcialmente associada ao crescimento e c) gráfico da produção não-associada ao crescimento.	11
Figura 2: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alcoólica para concentração de substrato de 20 g.L ⁻¹ (BA20). (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato.....	32
Figura 3: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alcoólica para concentração de substrato de 30 g.L ⁻¹ (BA30). (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato.....	32
Figura 4: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alcoólica para concentração de substrato de 40 g.L ⁻¹ (BA40). (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato.....	33
Figura 5: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alcoólica para concentração de substrato de 50 g.L ⁻¹ (BA50). (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto.	34
Figura 6: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alcoólica para concentração de substrato de 100 g.L ⁻¹ (BA100). (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto.	35
Figura 7: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alcoólica para concentração de substrato de 150 g.L ⁻¹ (BA150). (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto.	36
Figura 8: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alcoólica para concentração de substrato de 200 g.L ⁻¹ (BA200). (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto.	37
Figura 9: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA1) com vazão de alimentação igual a 0,6 L.h ⁻¹ . (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.	40

Figura 10: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA2) com vazão de alimentação igual a $0,625 \text{ L.h}^{-1}$. (a)- Comportamento do crescimento celular e (b)- Comportamento do consumo de substrato. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.	41
Figura 11: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA3) com vazão de alimentação igual a $0,4375 \text{ L.h}^{-1}$. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.....	42
Figura 12: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA4) com vazão de alimentação igual a $0,875 \text{ L.h}^{-1}$. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.....	43
Figura 13: Acompanhamento do processo fermentativo batelada lática (BL1). (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto.	47
Figura 14: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alimentada lática (BAL1) com vazão de alimentação igual a $0,875 \text{ L.h}^{-1}$. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.	49
Figura 15: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alimentada lática (BAL2) com vazão de alimentação igual a $0,875 \text{ L.h}^{-1}$. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.	50
Figura 16: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alimentada lática (BAL3) com vazão de alimentação igual a $0,875 \text{ L.h}^{-1}$. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.	51
Figura 17: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alimentada lática (BAL4) com vazão de alimentação igual a $0,875 \text{ L.h}^{-1}$. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.	52
Figura 18: Modelagem cinética da fermentação alcoólica em batelada do experimento com concentração de substrato de 100 g.L^{-1} (BA100) utilizando um modelo cinético de	

Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto..... 57

Figura 19: Modelagem cinética da fermentação alcoólica em batelada do experimento com concentração de substrato de 100 g.L^{-1} (BA100) utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b) - Comportamento do consumo de substrato e (c) -Comportamento da formação de produto 58

Figura 20: Modelagem cinética do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA2) vazão de alimentação igual a $0,625 \text{ L.h}^{-1}$, utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular e (b)- Comportamento do consumo de substrato. As linhas verticais indicam início e término da alimentação..... 61

Figura 21: Modelagem cinética do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA2) vazão de alimentação igual a $0,625 \text{ L.h}^{-1}$, utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular e (b)- Comportamento do consumo de substrato. As linhas verticais indicam início e término da alimentação. 61

Figura 22: Modelagem cinética do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA3) com vazão de alimentação igual a $0,4375 \text{ L.h}^{-1}$, utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação..... 62

Figura 23: Modelagem cinética do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA3) com vazão de alimentação igual a $0,4375 \text{ L.h}^{-1}$, utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação. 63

Figura 24: Modelagem cinética do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA4) com vazão de alimentação igual a $0,875 \text{ L.h}^{-1}$, utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação..... 64

Figura 25: Modelagem cinética do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA4) com vazão de alimentação igual a $0,875 \text{ L.h}^{-1}$, utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)-

Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.	65
Figura 26: Modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada, experimento (BL1), utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto.	69
Figura 27: Modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada, experimento (BL1), utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto.	70
Figura 28: Modelagem cinética do processo fermentação láctica em batelada alimentada, experimento (BAL1), utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.	73
Figura 29: Modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada alimentada, experimento (BAL1), utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.	74
Figura 30: Modelagem cinética do processo fermentação láctica em batelada alimentada, experimento (BAL2), utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.	75
Figura 31: Modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada alimentada, experimento (BAL2), utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento Celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.	76
Figura 32: Modelagem cinética do processo fermentação láctica em batelada alimentada, experimento (BAL3), utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.	77
Figura 33: Modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada alimentada, experimento (BAL3), utilizando um modelo cinético com termo de inibição	

pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.	78
Figura 34: Modelagem cinética do processo fermentação láctica em batelada alimentada, experimento (BAL4), utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.....	79
Figura 35: Modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada alimentada, experimento (BAL4), utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.	80
Figura 36: Curva padrão de sacarose.....	104
Figura 37: Curva padrão de glicose	104
Figura 38: Curva padrão de ácido láctico.....	105
Figura 39: Modelagem cinética do crescimento celular, (a)- BAA1, (b)- BAA2, (c)- BAA3 e (d)- BAA4.....	106
Figura 40: Modelagem cinética do crescimento celular utilizando um modelo cinético com termo de inibição. (a)- BAA3 e (b)- BAA4.....	107
Figura 41: Modelagem cinética do crescimento celular. (a)- BAL1, (b)- BAL2, (c)- BAL3 e (d)- BAL4.	108
Figura 42: Modelagem cinética do crescimento celular utilizando um modelo cinético com termo de inibição. (a)- BAL2, (b)- BAL3 e (c)- BAL4.....	109

NOMENCLATURA

D	Taxa de diluição (F/V)
F	Vazão de alimentação do reator
K _s	Constante de Monod
K _p	Constante de inibição pelo produto
P	Concentração de produto no fermentador
r _x	Velocidade de crescimento celular
r _p	Velocidade de formação de produto
r _s	Velocidade de consumo de substrato
S	Concentração de substrato no reator
S ₀	Concentração de substrato na alimentação
t	Tempo
V	Volume útil do sistema de fermentação
V ₀	Volume inicial antes da alimentação
X	Concentração de biomassa no reator
Y _{P/S}	Coeficiente de transformação do substrato em produto
Y _{X/S}	Coeficiente de transformação do substrato em biomassa

GREGAS

α	Produção associada ao crescimento celular
β	Produção não associada ao crescimento celular
μ	Velocidade específica de crescimento
μ_{\max}	Velocidade específica máxima de crescimento celular
μ_P	Velocidade específica de formação de produto
μ_S	Velocidade específica de consumo de substrato

RESUMO

O processo de batelada alimentada é útil para o estudo da cinética de processos fermentativos, pois permite a manutenção de baixos níveis de substrato por longo período de tempo, que é favorável à estimativa de parâmetros cinéticos; permite manter concentração celular constante e controlar a velocidade de crescimento em condições transientes. São as equações cinéticas que indicam como as variáveis de estado do processo em estudo interferem nas velocidades de crescimento e morte celular, de geração de produtos metabólicos e de consumo de substrato. Estudos de biorreatores de batelada alimentada têm sido freqüentemente relatados na literatura, entretanto para a modelagem destes processos necessita-se conhecer parâmetros cinéticos e informações sobre estes são escassas. A implantação do PROÁLCOOL no Brasil fez aumentar o número de destilarias. Atualmente, o processo de batelada alimentada responde por cerca de 60% do volume de etanol produzido. Outro processo fermentativo de alto valor comercial é a produção de ácido láctico, uma vez que este tem grande aplicação no uso em alimentos, na área farmacêutica, de plásticos e indústria química. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi estudar duas fermentações distintas com relação à cinética de produção e entender a fenomenologia do processo de batelada alimentada. Escolheram-se dois tipos de fermentações com cinética de produção diferentes, uma alcoólica e outra láctica, o primeiro com produção associada ao crescimento e o outro de produção parcialmente associada ao crescimento. Realizaram-se ensaios de fermentações em batelada para obtenção dos parâmetros cinéticos e em batelada alimentada para aplicação dos parâmetros obtidos em modelos e estes em balanço de massa do processo batelada alimentada. Em seguida, foram conduzidas simulações do processo batelada alimentada com o auxílio do software AnaBio 1.0 e ajustados os parâmetros cinéticos através de análise visual, utilizando-se dois modelos encontrados na literatura: o modelo cinético de Monod e outro também baseado em Monod com inclusão de um termo de inibição pelo produto. Estes modelos representaram visualmente os dados experimentais de forma satisfatória para a fermentação alcoólica, no entanto, somente um ajuste regular dos dados experimentais em relação aos preditos foram obtidos para fermentação láctica.

SUMMARY

The fed-batch process is useful for studying of fermentation process kinetic, because it allows keeping low level of substrate for a long period, which is favorable to estimate kinetic parameters; it enables keeping a constant biomass concentration and controlling growing rate in transient conditions. The kinetic equations indicate how the process variables interfere in the cell growing rate and death, the metabolic product formation and substrate consumption. The bioreactors studies of fed-batch have been often found on specialized literature, however, its necessary to know the kinetic parameters that are not available. A very important program in Brazil, called PROALCOOL, leveraged a raise in the number of alcohol industries and 60% of ethanol assembled in this country, in the present time, use fed-batch process. Another interesting process is the production of lactic acid, which is important to food, pharmaceutical, plastic and chemical industry. Therefore the main objective of this project was to study two different fermentation processes to apply the material balance of the fed-batch reactor with determined parameters and known mathematical models. Two production kinetic fermentations were chosen, one alcoholic and another lactic. The first one is associated with the cell growth and the other is partially associated with cell growth. Some batch fermentations essays were carried out to obtain kinetics parameters and fed-batch processes were performed to study the kinetic process. Simulations of fed-batch process, running the software Anabio 1.0, were executed and the kinetic parameters fitted through visual analysis, using two known models, Monod kinetic model and Monod including inhibitory effect of product. Theses models were better visually represented by the alcoholic fermentation experimental data than lactic fermentation data. In the condition of the fed-batch assays the Monod or Monod with inhibitory effect of product inserted in the material balance do not describe these process.

1 – INTRODUÇÃO

A principal finalidade da pesquisa de fermentações é o custo-efetivo da produção de bioprodutos, razão pela qual é importante desenvolver um método de cultivo que permita a obtenção de produtos desejados com alta concentração e com alta produtividade e rendimento. Cultivo em batelada alimentada tem sido amplamente empregado para a produção de vários bioprodutos, incluindo metabólitos primários e secundários, proteínas e outros biopolímeros. Neste processo, um ou mais nutrientes são alimentados, enquanto células e produtos permanecem no fermentador até o final da operação. O rendimento em batelada alimentada é geralmente superior à batelada e é especialmente proveitoso, quando a mudança da concentração de nutrientes afeta a produtividade e o rendimento do produto desejado (YAMANE *et al.*, 1984).

Bioprocessos são popularmente operados em batelada alimentada para regular a concentração de substrato ou produto no reator. O planejamento da estratégia de controle ótimo para processo de fermentação em batelada alimentada é um campo em crescimento na biotecnologia, em especial quando há demanda para aumentar a pureza de produto, produtividade e rendimento (ROY *et al.*, 2001).

Estudos de reatores em batelada, contínuos e batelada alimentada têm sido freqüentemente relatados na literatura. Entretanto, a modelagem destes processos não tem recebido muita atenção e a literatura a respeito de modelos e parâmetros cinéticos é escassa (CUNHA *et al.*, 1998).

Há vários produtos de fermentação, industrialmente importantes, para os quais a técnica de batelada alimentada é adotada, destacando-se a produção de biomassa microbiana, de etanol, ácidos orgânicos, antibióticos, vitaminas enzimas e outros compostos (WHITAKER e STANBURY, 1984 e ROY *et al.*, 2001). Segundo ROY *et al.* (2001), o ácido láctico é um produto químico muito importante, o qual encontra maior uso em alimentos, remédios, fármacos, cosmético e agroindústria.

Segundo ALVES (1996), um grande avanço na produção industrial de álcool foi alcançado na década de 30, quando surgiu na França o processo Melle-Boinot, o qual no Brasil passou a ser chamado de batelada alimentada. ZARPELLON e ANDRIETTA (1992) citam que todas as unidades instaladas quando da criação do Programa Nacional do Álcool (PROÁLCOOL) (1975), foram equipadas com este processo. Atualmente, este processo responde por cerca de 60% do volume de etanol produzido no Brasil, o que torna sua otimização necessária.

O objetivo deste trabalho foi estudar duas fermentações distintas com relação à cinética de produção e entender a fenomenologia do processo de batelada alimentada. Escolheram-se dois tipos de fermentações com cinética de produção diferentes, uma alcoólica e outra láctica, a primeira com produção associada ao crescimento e a outra de produção parcialmente associada ao crescimento.

2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – PROCESSO DE BATELADA ALIMENTADA

A batelada alimentada é um tipo especial de processo onde o substrato é alimentado constantemente, durante o processo fermentativo, de forma a manter esta concentração constante, ou aproximadamente constante, resultando num sistema com volume variável. A batelada alimentada é um processo de muito sucesso, pois elimina a inibição pelo substrato, resultando em altas produtividades, geralmente muito maior que o obtido na batelada simples. Os balanços são muito similares à batelada simples, exceto pelo fato de que existe uma alimentação e, portanto o volume do reator é variável.

Operação em batelada alimentada, alimentação intermitente ou contínua é usada para suplementar o conteúdo do reator e fornecer controle sobre concentração de substrato. Durante o início com uma solução relativamente diluída de substrato e adicionando mais nutrientes à medida que a conversão continua, altas velocidades de crescimento são evitadas. Isto é importante, por exemplo, em cultivos onde a demanda de oxigênio durante o rápido crescimento é tão alta para a capacidade de transferência de massa do reator. Alternativamente, altas concentrações de substrato podem ser inibitória ou interruptor indesejável no caminho metabólico (DORAN, 2000).

Algumas fermentações são chamadas cultivos em batelada alimentada nas quais utilizam uma técnica de operação continuamente periódica, sendo que esta condição transiente assume várias formas. Em “repetidos” cultivos de batelada alimentada, o meio completo é alimentado continuamente para um cultivo em batelada; a biomassa resultante é reduzida pela retirada em intervalos e após o processo é então repetido. Em cultivo batelada alimentada, a taxa de diluição está continuamente mudando e representa o transiente do sistema. Alguns processos utilizam somente a alimentação da fonte de carbono, por este ser o substrato limitante. Este tipo de batelada alimentada tem sido chamado de cultivo “semi-batelada”. Esta técnica é mais controlada do que outros tipos de cultivo em batelada alimentada, desde que sensores ligados diretamente no meio sejam usados para medir os parâmetros específicos do crescimento do cultivo e regular a

adição da fonte de carbono (limitante) para o meio (REHM e REED, 1985; BLANCH E CLARK, 1986).

Processos em batelada alimentada (ou semibatelada) são, contudo, não-estacionários, e as variáveis do processo são, portanto não constantes. Desta forma, é mais difícil desenvolver um modelo para comportamento normal e detectar os desvios da operação padrão (GREGERSEN e JORGENSEN, 1999).

Cultivos em batelada, em batelada alimentada e em modo contínuo são os mais utilizados em processos para produção de uma grande variedade de metabólitos.

O êxito na utilização de processos em batelada alimentada se deu principalmente pelo melhor controle do cultivo e pela eficiente utilização dos componentes do meio (WHITAKER, 1984). Nos casos em que mudanças nas concentrações de nutriente(s) afetam o produto ou a produtividade, a batelada alimentada mostrou-se superior à convencional (YAMANE e SHIMIZU, 1984).

Várias razões para se empregar processos em batelada alimentada são citadas na literatura (YAMANE e SHIMIZU, 1984; SCHMIDELL *et al.*, 2001): (1) minimização dos efeitos do controle do metabolismo celular, como repressão catabólica, onde glicose ou outras fontes de carbono rapidamente metabolizáveis reprimem a expressão de genes que codificam enzimas relacionadas ao metabolismo de outras fontes de carbono; (2) prevenção da inibição por substratos ou precursores, onde qualquer fonte de nutriente pode se tornar inibitória, dependendo da concentração do meio, do microrganismo e das condições de fermentação; (3) minimização da formação de produtos de metabolismo tóxico, fator particularmente crítico em cultivos de alta densidade celular.

O principal objetivo da operação no modo batelada alimentada é controlar a concentração do nutriente no meio de cultura líquido (SILVA *et al.*, 2003).

O processo de batelada alimentada de fermentação é utilizado quando se procura diminuir o efeito inibitório causado pelo excesso de substrato. YAMANE e SHIMIZU

(1984), definiram o processo como sendo um cultivo onde existe adição de um ou mais nutrientes. A forma de adição pode ser com vazão constante ou variável, contínua ou intermitente (KELLER e DUNN, 1978).

O processo fermentativo em batelada alimentada apresenta inúmeras vantagens sobre o processo em batelada convencional especialmente no processo da produção de etanol, onde há a necessidade de se induzir e controlar a síntese do etanol, minimizando os efeitos de repressão catabólica e controlando a adição dos nutrientes visando melhores rendimentos e produtividades do processo (SALGADO *et al.*, 2003).

CUNHA *et al.* (1998), estudaram a modelagem e simulação da produção de bioinseticida via fermentação. Como não havia trabalhos nesta área, primeiramente realizaram cultivos em batelada para obter os parâmetros cinéticos. Foram escolhidos dois modelos cinéticos para o estudo: cultivos sem inibição e com inibição do crescimento celular pelo substrato foram utilizados os modelos de Monod e o de Hump, respectivamente. As simulações foram conduzidas em modo batelada alimentada, uma vez que, neste tipo de processo obtém-se maior flexibilidade no controle da concentração de substrato do meio de cultura. Foram realizados cultivos comparando diferentes técnicas de alimentação (constante, exponencial e otimizada). Considerando a simulação de batelada alimentada deste estudo, os autores verificaram que as técnicas de alimentação e os modelos estudados descrevem bem o processo. Quando o processo é baseado no modelo de Monod, todas as técnicas de alimentação atingem uma concentração celular final no mesmo tempo. Neste caso, um controle sofisticado não é necessário. O fermentador deveria ser alimentado numa velocidade máxima de alimentação, que é um método mais simples e mais fácil. Se o processo é baseado no modelo de Hump, ambas técnicas de alimentação controle singular e exponencial atingem mais rapidamente a concentração celular final, onde o padrão mostra o melhor desempenho em todos casos. Portanto, para um processo de inibição de substrato, um controlador baseado neste modelo é recomendado.

ROUKAS e KOTZEKIDOU (1998) estudaram o processo de batelada alimentada e batelada alimentada repetida para produção de ácido láctico de soro de queijo

desproteínizado, por culturas mistas em cultivos com células livres e coimobilizadas. Os autores verificaram vários aspectos importantes da produção de ácido láctico e concluíram que o cultivo em batelada alimentada forneceu melhores resultados do que o cultivo em batelada e batelada alimentada repetida. E que nas mesmas condições de fermentação, tanto as células livres como as coimobilizadas deram valores máximos semelhantes de produção de ácido láctico.

2.2 – CINÉTICA DO PROCESSO FERMENTATIVOS

O processo descontínuo alimentado é útil para o estudo da cinética de processos fermentativos, pois permite a manutenção de baixos níveis de substrato por longo período de tempo, que é favorável à estimação de parâmetros cinéticos, ESENER (1981); permite manter a concentração celular constante e controlar velocidade de crescimento em condições transientes. Ademais, há evidências que as máximas velocidades de alguns processos podem ser encontradas somente nestas circunstâncias (PIRT, 1975).

Com o desenvolvimento do conhecimento das fermentações, através da elucidação da seqüência de reações bioquímicas que as caracterizam, foi se firmando a tendência de se considerar o processo fermentativo como um tipo particular de processo químico (REGULY, 2000).

Assim, como a síntese de uma substância química, orgânica ou inorgânica, envolve o conhecimento a) das reações que a compõe; b) da velocidade destas reações; c) dos fatores que influem nas mesmas, ou seja, envolve o conhecimento da cinética das mesmas, Assim, também a formação de produtos obtidos por fermentação está condicionada ao conhecimento da cinética do processo fermentativo (REGULY, 2000).

Monod verificou que a velocidade específica de crescimento, μ_x , é função da concentração do substrato limitante, seguindo a mesma curva experimental de Michaelis-Menten relativa à velocidade de uma reação enzimática, valendo a mesma relação existente entre esta velocidade de reação e a concentração do substrato limitante:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \cdot [S]}{K_s + [S]} \quad (1)$$

Sem o conhecimento do mecanismo das reações e sua cinética, não é possível estudar e avaliar as variáveis que influenciam o rendimento de uma fermentação descontínua (REGULY, 2000).

Muitas tentativas têm sido realizadas no sentido de se procurar interpretar resultados experimentais com auxílio de modelos matemáticos visando-se, por um lado, colaborar na elucidação de mecanismos envolvidos no processo e, por outro lado, estabelecer um conjunto de equações que possibilitem o adequado controle do sistema e sua otimização. Um modelo cinético baseia-se sempre em hipóteses fundamentais, às vezes passíveis de comprovação, a partir das quais procura-se deduzir expressões que relacionem as variáveis escolhidas no estudo experimental. Com alguma frequência, nessas deduções, introduzem-se simplificações nem sempre convenientemente justificáveis, mas necessárias para atingir o objetivo desejado. A concordância entre um dado modelo e valores experimentais não significa necessariamente, que as hipóteses em que se baseia sejam verdadeiras e que as simplificações realizadas em seu desenvolvimento sejam lícitas. Modelos diferentes podem conduzir a concordância razoavelmente equivalente, quando comparados com um mesmo conjunto de valores experimentais (BORZANI *et al.*, 1986).

2.3 – MODELOS CINÉTICOS

Na Tabela 1 são apresentados vários modelos encontrados na literatura que demonstram os vários fenômenos ocorridos durante os processos fermentativos. Os modelos representados pelas Equações 1, 2 e 3 demonstram a cinética de processos com substrato limitante no meio, livre de inibições. Equações 4, 5 e 6 apresentam termos que representam a inibição por substrato e por fim as Equações 7 a 11 incluem efeitos decorrentes da inibição por produto formado (BIROL *et al.* 1998).

BIROL *et al.*, (1998) trabalhando com produção etanol a partir da fermentação de glicose em processo de batelada utilizando células imobilizadas de *Saccharomyces cerevisiae*, testou onze modelos diferentes encontrados na literatura para cultivos com células suspensas livres e a aplicabilidade destes modelos para cultivos com leveduras imobilizadas. Com isso, verificaram que os modelos de Monod e Hinshelwood foram os mais apropriados para descrever o comportamento do crescimento de biomassa em concentrações de glicose inicial variando de 2 a 4% e para avaliar a produção de etanol em concentrações de glicose inicial variando de 8 a 10%. Os autores também constataram que para validação do modelo de Hinshelwood foi utilizado reator inclinado com nutrientes em recirculação.

SCHEPERS *et al.*, (2002), desenvolveram um modelo cinético que descreveu a velocidade de crescimento do *Lb. helveticus* e a velocidade de produção do ácido láctico durante cultivos em batelada com pH controlado, como uma função de quatro variáveis: concentração do substrato nitrogênio, açúcar, ácido láctico e pH. O efeito do pH no crescimento foi modelado com uma equação Gaussiana, em vez do tradicional termo polinomial de segunda ordem. Um novo modelo de inibição foi proposto o qual descreve a inibição pelo produto ácido láctico e lactato em faixas de pH de 4-7, que foram modelados com um termo logístico para lactato e um termo exponencial para ácido láctico não-dissociado. O modelo para produção de ácido láctico foi descrito como associado ao crescimento e não associado ao crescimento, de acordo com o clássico modelo de Luedeking e Piret, sendo que para o parâmetro da produção associada ao crescimento não houve efeitos significativos e para o parâmetro de produção não-associada ao crescimento incluiu-se o efeito do pH, a limitação da velocidade de produção pela disponibilidade de açúcar ou por inibição de concentrações de lactato ou ácido láctico. A combinação destes fatores resultou nos modelos apresentados pelas Equações 2 e 3 para produção de ácido láctico e biomassa, respectivamente. Os autores verificaram que o modelo cinético obtido descreveu exatamente os dados experimentais com poucas exceções.

$$\frac{dX}{dt} = (\mu_{\max} + \beta \cdot pH \cdot WP) \frac{S}{S + K_S} \cdot \frac{S_n}{S_n + K_{S_n}} \left(\frac{e^{-K_{i,HLA} \cdot \frac{P}{1+10^{(pH-pK_a)}}}}{1 + e^{\frac{K_{p,La} \cdot \left(\frac{P}{1+10^{(pH-pK_a)}} - K_{i,La} \right)}}} \right) \cdot e^{\left(\frac{(pH_{opt} - pH)^n}{\sigma^2} \right) \cdot X} \quad (2)$$

$$\frac{dP}{dt} = a \frac{dx}{dt} + (b + \beta \cdot pH_c) \frac{S}{S + K_S} \frac{e^{-K_{i,HLa} \cdot \frac{P}{1+10^{(pH-pK_a)}}}}{1 + e^{K_{p,Ld} - \left(\frac{P}{1+10^{(pH-pK_a)}} - K_{i,Ld} \right)}} \cdot X \quad (3)$$

Tabela 1: Modelos de equações cinéticas

No.	$\frac{dx}{dt}$	$\frac{dP}{dt}$	$\frac{dS}{dt}$	Model
1	$\mu_{\max} \left(\frac{S}{K_{sx} + S} \right) x$	$q_{\max} \left(\frac{S}{K_{sp} + S} \right) x$	$-\left(\frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dx}{dt} \right) - \left(\frac{1}{Y_{p/s}} \frac{dP}{dt} \right)$	Monod
2	$\mu_{\max} \left(\frac{S^a}{K_{sx} + S^a} \right) x$	$q_{\max} \left(\frac{S_a}{K_{sp} + S^a} \right) x$	$-\left(\frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dx}{dt} \right) - \left(\frac{1}{Y_{p/s}} \frac{dP}{dt} \right)$	Moser
3	$\mu_{\max} \left(1 - \exp \left(-\frac{S}{K_{sx}} \right) \right) x$	$q_{\max} \left(1 - \exp \left(-\frac{S}{K_{sp}} \right) \right) x$	$-\left(\frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dx}{dt} \right) - \left(\frac{1}{Y_{p/s}} \frac{dP}{dt} \right)$	Teissier
4	$\mu_{\max} \left(\frac{S}{1 + \frac{K_{sx}}{S} + \frac{S}{K_{L,S}}} \right) x$	$q_{\max} \left(\frac{S}{1 + \frac{K_{sp}}{S} + \frac{S}{K_{L,P}}} \right) x$	$-\left(\frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dx}{dt} \right) - \left(\frac{1}{Y_{p/s}} \frac{dP}{dt} \right)$	Andrews and Noack
5	$\mu_{\max} \left(\frac{S}{K_{sx} + S} \right) \exp \left(-\frac{S}{K_{L,S}} \right) x$	$q_{\max} \left(\frac{S}{K_{sp} + S} \right) \exp \left(-\frac{S}{K_{L,P}} \right) x$	$-\left(\frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dx}{dt} \right) - \left(\frac{1}{Y_{p/s}} \frac{dP}{dt} \right)$	Aiba
6	$\mu_{\max} \left(\frac{S}{K_{sx} + S} \right) \left(1 - \frac{S}{S_{s,\max}} \right)^{p_x} x$	$q_{\max} \left(\frac{S}{K_{sp} + S} \right) \left(1 - \frac{S}{S_{p,\max}} \right)^{p_x} x$	$-\left(\frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dx}{dt} \right) - \left(\frac{1}{Y_{p/s}} \frac{dP}{dt} \right)$	Luong
7	$\mu_{\max} \left(\frac{S}{K_{sx} + S} \right) \left(1 - \frac{P}{P_{s,\max}} \right)^{p_x} x$	$q_{\max} \left(\frac{S}{K_{sp} + S} \right) \left(1 - \frac{P}{P_{p,\max}} \right)^{p_x} x$	$-\left(\frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dx}{dt} \right) - \left(\frac{1}{Y_{p/s}} \frac{dP}{dt} \right)$	Levenspiel
8	$\mu_{\max} \left(\frac{S}{K_{sx} + S} \right) \exp (-K_{ps} P) x$	$q_{\max} \left(\frac{S}{K_{sp} + S} \right) \exp (-K_{pp} P) x$	$-\left(\frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dx}{dt} \right) - \left(\frac{1}{Y_{p/s}} \frac{dP}{dt} \right)$	Aiba
9	$\mu_{\max} \left(\frac{S}{K_{sx} + S} \right) \left(\frac{K_{L,P_s}}{K_{L,P_s} + P} \right) x$	$q_{\max} \left(\frac{S}{K_{sp} + S} \right) \left(\frac{K_{L,P_P}}{K_{L,P_P} + P} \right) x$	$-\left(\frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dx}{dt} \right) - \left(\frac{1}{Y_{p/s}} \frac{dP}{dt} \right)$	Jerusalimsky
10	$\mu_{\max} \left(1 - \frac{P}{P_{s,\max}} \right) x$	$q_{\max} \left(1 - \frac{P}{P_{p,\max}} \right) x$	$-\left(\frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dx}{dt} \right) - \left(\frac{1}{Y_{p/s}} \frac{dP}{dt} \right)$	Ghose and Tyagi
11	$\mu_{\max} \left(\frac{S}{K_{sx} + S} \right) (1 - K_{ps} P) x$	$q_{\max} \left(\frac{S}{K_{sp} + S} \right) (1 - K_{pp} P) x$	$-\left(\frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dx}{dt} \right) - \left(\frac{1}{Y_{p/s}} \frac{dP}{dt} \right)$	Hinshelwood

Fonte: BIROL *et al.*, 1998.

VENAKTESH *et al.* (1999), estudaram produção de ácido láctico a partir do amido por sacarificação e fermentação simultâneas, utilizando *Lactobacillus delbrueckii* como microrganismo. Foi desenvolvido um modelo preditivo para sacarificação-fermentação simultâneas, combinando cinética de sacarificação e fermentação, conforme Equação 4, onde a cinética de crescimento do microrganismo foi à expressão de Monod acrescida de dois termos de inibição, um pelo substrato e outro pelo produto. As condições ótimas de cultivo foram pH=5,5 e T=45°C.

$$\mu = \mu_{\max} e^{K_i \cdot P} \cdot \frac{S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_i}} \quad (4)$$

2.3.1 - MODELOS CINÉTICOS DE CRESCIMENTO CELULAR

Os modelos cinéticos de crescimento são equações matemáticas propostas para representar a velocidade específica de crescimento (μ) que buscam descrever o crescimento celular. Estes modelos são funções da concentração de substrato limitante (S), considerando que variações de S influenciam μ .

Pode-se encontrar na literatura vários tipos de modelos de crescimento celular não estruturados e não segregados, isto é, que consideram uma população homogênea de células que apresentam uma composição média. Esses modelos podem ser divididos em dois grupos: os livres de inibição e os que consideram a inibição pelo substrato ou pelo produto. A Tabela 1 apresenta vários modelos cinéticos de crescimento celular encontrados na literatura.

Os modelos com inibição foram formulados considerando que as concentrações de produto ou de substrato podem afetar o crescimento celular reduzindo o valor de μ .

Embora o mecanismo de crescimento de microrganismo seja um conjunto de reações complexas, é possível representar este conhecimento por modelos relativamente

simples. A equação mais simples que representa este fenômeno é a equação (1) proposta por MONOD (ATALA, 2000).

2.3.2 - MODELOS CINÉTICOS DE FORMAÇÃO DE PRODUTO

As diferentes formas de ocorrência de produtos durante as fermentações são ilustradas na Figura 1 que segue.

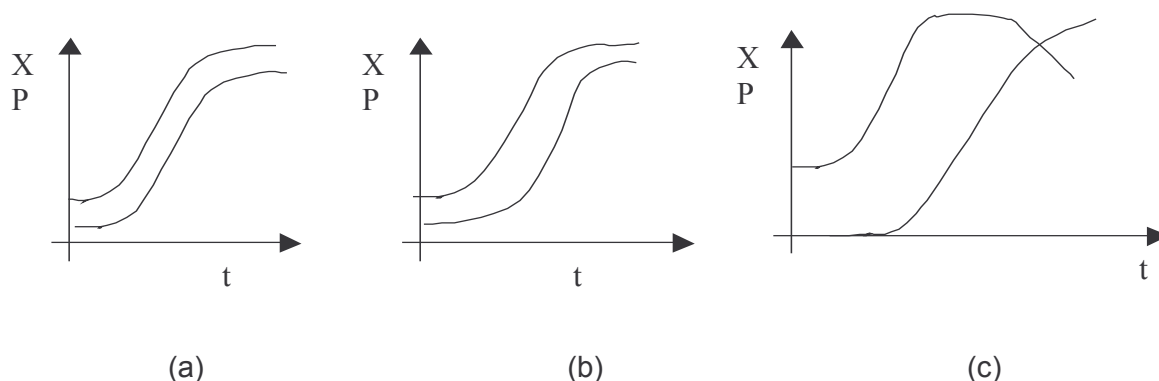


Figura 1: a) gráfico da produção associada ao crescimento, b) gráfico da produção parcialmente associada ao crescimento e c) gráfico da produção não-associada ao crescimento.

1) Produtos Associados ao Crescimento

Quando a formação de um determinado produto é simultânea ao crescimento celular, esta pode ser descrita por :

$$\mu_p = \frac{1}{X} \cdot r_p = \alpha \cdot \mu \quad (5)$$

ou

$$\mu_p = \frac{Y_{P/S}}{Y_{X/S}} \cdot \mu = Y_{P/X} \cdot \mu \quad (6)$$

Dentre os processos que sintetizam produtos associados ao crescimento pode-se citar a produção de enzimas, produção de etanol, aminoácidos e vitaminas, entre outros. Esses produtos estão, normalmente, associados ao catabolismo celular.

2) Produtos Não-Associados ao Crescimento

São aqueles que a produção ocorre durante uma fase estacionária de crescimento celular, ou seja, quando $dX/dt = 0$. Nesses casos, a velocidade específica de formação de produto (μ_p) é constante.

$$\mu_p = \beta \rightarrow \frac{1}{X} \cdot r_p = \beta \quad (7)$$

$$r_p = \beta \cdot X \quad (8)$$

A velocidade de formação de produto (r_p) é proporcional à concentração celular (X). Como exemplos de processos em que são produzidos tais produtos pode-se citar a produção de metabólitos secundários como diversos antibióticos.

3) Produtos Parcialmente Associados ao Crescimento

Num modelo híbrido, a formação de produto ocorre quando o crescimento celular é menor e acontece na fase estacionária. A Equação de Luedeking-Piret, Equação 9 e 10 obtida durante a produção de ácido láctico em cultivo em batelada a pH constante, expressa adequadamente esse tipo de cinética:

$$r_p = \alpha \cdot r_x + \beta \cdot X \quad (9)$$

$$\mu_p = \alpha \cdot \mu + \beta \quad (10)$$

Como exemplos de produtos parcialmente associados ao crescimento, pode-se citar o ácido láctico, a goma xantana e alguns metabólitos secundários.

2.4 – MODELAGEM MATEMÁTICA

A utilização de equações que representam um processo pode permitir a estimação de parâmetros, bem como sua otimização (SCHMIDELL, 2001).

Para representar a conversão de substrato em células e produtos, em biorreatores de volume variável em processo de batelada alimentada, as seguintes equações de balanço de massa são apresentadas:

2.4.1 – MASSA CELULAR

Tem-se que a velocidade de variação de massa de células no reator corresponde à massa celular formada decorrente do crescimento microbiano. Algebricamente:

$$\left(\frac{dM_x}{dt} \right) = \left(\frac{dM_x}{dt} \right)_c \quad (11)$$

$$\frac{dM_x}{dt} = \mu \cdot V \cdot X \quad (12)$$

$$\frac{d(V \cdot X)}{dt} = \mu \cdot V \cdot X \quad (13)$$

$$\frac{dV}{dt} \cdot X + \frac{dX}{dt} \cdot V = \mu \cdot V \cdot X \quad (14)$$

Considerando que a variação de volume na dorna deve-se exclusivamente à alimentação:

$$F \cdot X + \frac{dX}{dt} \cdot V = \mu \cdot X \cdot V \quad (15)$$

$$\frac{F}{V} \cdot X + \frac{dX}{dt} = \mu \cdot X \quad (16)$$

onde: $D=F/V$

$$\therefore D \cdot X + \frac{dX}{dt} = \mu \cdot X \quad (17)$$

$$\frac{dX}{dt} = (\mu - D) \cdot X \quad (18)$$

Num processo onde o volume varie de V_i a V_f e se alimente o reator com vazão constante F temos que $V=V_i+Ft$. Assim, D decresce com o tempo de acordo com a equação:

$$D = \frac{F}{(V_i + F \cdot t)} \quad (19)$$

2.4.2 – SUBSTRATO

A velocidade de variação da massa de substrato no fermentador corresponde à diferença entre a massa de substrato adicionada por tempo e a utilizada para o crescimento celular. Pode ser representada pela expressão:

$$\frac{dM_{sr}}{dt} = F \cdot S_m - \frac{dM_{sc}}{dt} \quad (20)$$

$$\frac{d(V \cdot S)}{dt} = F \cdot S_m - \frac{dM_{sc}}{dt} \quad (21)$$

$$\frac{dV}{dt} \cdot S + \frac{dS}{dt} \cdot V = F \cdot S_m - \frac{dM_{sc}}{dt} \quad (22)$$

Considerando que a variação de volume no reator deve-se exclusivamente à alimentação:

$$\frac{S}{V} \cdot F + \frac{dS}{dt} = \frac{F}{V} \cdot S_m - \frac{1}{V} \frac{dM_{sc}}{dt} \quad (23)$$

$$D \cdot S + \frac{dS}{dt} = D \cdot S_m - r_s \quad (24)$$

onde: r_s = velocidade de consumo de substrato

$$\frac{dS}{dt} = D \cdot (S_m - S) - r_s \quad (25)$$

Sabendo que $Y_{x/s} = r_x/r_s$, chega-se a:

$$\frac{dS}{dt} = D \cdot (S_m - S) - \frac{1}{Y_{x/s}} \cdot r_x \quad (26)$$

$$\frac{dS}{dt} = D \cdot (S_m - S) - \frac{1}{Y_{x/s}} \cdot \mu \cdot X \quad (27)$$

A equação acima se apresenta na forma simplificada, estando de acordo com vários trabalhos na literatura. Entretanto há outros autores que sugerem equações com termos que evidenciem uma parcela do substrato para crescimento celular e outra para manutenção e até outros que consideram uma outra parcela para formação de produtos complexos.

2.4.3 - PRODUTO

A velocidade de variação de massa de produto no fermentador depende da massa que é formada devido ao metabolismo microbiano. Ou seja:

$$\left(\frac{dM_p}{dt} \right) = \left(\frac{dM_p}{dt} \right)_c \quad (28)$$

$$\frac{d(V \cdot P)}{dt} = \mu_p \cdot V \cdot X \quad (29)$$

$$\frac{dV}{dt} \cdot P + \frac{dP}{dt} \cdot V = \mu_p \cdot V \cdot X \quad (30)$$

Considerando que a variação de volume no reator deve-se exclusivamente à alimentação, tem-se:

$$F \cdot P + \frac{dP}{dt} \cdot V = \mu_p \cdot V \cdot X \quad (31)$$

$$D \cdot P + \frac{dP}{dt} = \mu_p \cdot X \quad (32)$$

$$\frac{dP}{dt} = \mu_p \cdot X - D \cdot P \quad (33)$$

$$\text{onde: } \mu_p \cdot X = r_p \quad (34)$$

O método operacional para a modelagem de uma fermentação em batelada alimentada é começar com uma pequena quantidade de biomassa e substrato no meio em fermentação. Quando a maior parte do substrato inicialmente adicionado tiver sido consumida pelo microrganismo, a alimentação de substrato é iniciada. Este procedimento

de operação é usado a fim de manter a concentração de substrato baixa durante a fermentação. A baixa concentração de substrato no fermentador é necessária para obter-se uma alta velocidade de formação de produto devido ao efeito repressor do catabólito (GREGERSEN e JORGENSEN, 1999).

COSTA *et al.* (1998) operando biorreatores em batelada alimentada concluíram que são de difícil modelagem, já que sua operação envolve o crescimento microbiano sob constantes mudanças de condições. Os autores também informaram que há necessidade de descrições matemáticas realísticas do processo de batelada alimentada e que isto é uma estratégia que pode ser utilizada para desenvolver operações otimizadas. Um procedimento de modelagem neural híbrida foi utilizado pelos mesmos, a qual permitiu a implementação de esquema de controle adaptado para a otimização da fermentação por batelada alimentada utilizando *Saccharomyces cerevisiae* para produção de etanol. Os estudos experimentais mostraram que o modelo híbrido de rede neural pode ser desenvolvido com um número relativamente pequeno de dados e também com um modelo de aproximação matemático.

2.5 - APLICAÇÕES

Bioprocessos são popularmente operados em batelada alimentada para regular a concentração de substrato ou produto no reator, segundo ROY *et al.* (2001). São também usados para prevenir ou reduzir a inibição de crescimento por substrato pelo controle do fornecimento de nutrientes (LEE, *et al.*, 1999).

ASSIS *et al.* (2003) confirmaram a superioridade do processo em batelada alimentada em relação ao processo em batelada tradicional, na produção de dextrana-sacarase, permitindo manter a concentração relativamente baixa de sacarose na fase inicial do crescimento celular e alta durante a fase de crescimento exponencial e formação da enzima, na qual a sacarose é forte indutor da síntese enzimática. Ademais, o uso do processo em batelada alimentada com controle independente de pH permite determinar o instante exato no qual se deve parar a adição de açúcar de tal modo que a concentração

final desta substância seja baixa, produzindo assim enzima com menor concentração de dextrana.

Há vários produtos de fermentação industrialmente importantes para os quais a técnica de batelada alimentada é adotada: na produção de biomassa microbiana, etanol, ácidos orgânicos, antibióticos, vitaminas enzimas e outros compostos (WHITAKER e STANBURY, 1984 e ROY *et al.*, 2001). Entre vários, o ácido láctico é um produto químico muito importante, o qual encontra maior uso em alimentos, remédios, fármacos, cosmético e agroindústria. As matérias-primas tipicamente usadas para produção de ácido láctico através de fermentação são melaços (glicose) e soro de queijo (lactose). Estas fontes são abundantemente encontradas e não são caras (ROUKAS, 1998; ROY *et al.*, 2001; BURGOS-RUBIO *et al.*, 2000).

Um exemplo de cultivo em batelada alimentada é o de algumas fermentações de antibióticos, onde a solução de glicose é adicionada intermitentemente ao meio em fermentação devido à repressão de produção de metabólicos secundários causada pela alta concentração inicial de glicose. O método batelada alimentada pode ser aplicado para outras fermentações de metabólicos secundários, tais como ácido láctico, células de plantas celulares e fermentações de células animais, onde a taxa de formação de produto é máxima a baixas concentrações de nutrientes (SHULER e KARGI, 1992).

Em muitas situações industriais, tais como produções de fermento biológico e antibióticos, reatores são operados no modo semicontínuo, com o substrato sendo alimentado sem saída de meio. Na batelada alimentada a concentração de substrato é mantida em níveis pré-determinada. Na produção de fermento biológico, por exemplo, um excesso de glicose resulta no início da fermentação na produção de etanol, o qual reduz o rendimento de células de levedura. Fornecendo lentamente glicose em uma velocidade tal que pode ser completamente consumida pela levedura, a concentração de glicose residual é mantida aproximadamente zero e um máximo de conversão de substrato em células é obtido (BLANCH e CLARK, 1996).

Reatores de batelada alimentada são extremamente flexíveis, relativamente baratos e muito eficientes em sistemas de tratamento de água; eles podem produzir as condições requeridas para reator de batelada seqüencial simplesmente modificando a aplicação e duração da aeração e homogeneização (LOUZEIRO *et al.*, 2002).

A utilização do reator de batelada alimentada por processo de lodo ativado em tratamento de água residuárias municipais e industriais vem aumentando nos últimos anos, devido a sua flexibilidade operacional, o que permite considerável economia nos custos de energia elétrica, implantação e operação, assim como a possibilidade de variar as condições de operação (MOREIRA, 2001). O autor conseguiu em estudos anteriores, remover aproximadamente 93% da carga orgânica poluidora (DQO) num ciclo completo de 7h usando um reator de batelada alimentada.

3 – MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – MATERIAL

3.1.1 – MICRORGANISMO

Utilizou-se neste trabalho a levedura *Saccharomyces cerevisiae* isolada do processo fermentativo da Usina Santa Adélia, cedida pelo laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP.

Para a realização das fermentações lácticas utilizou-se a bactéria *Lactobacillus delbrueckii*, cedida pela indústria Rhodia Foods.

3.1.2 – MANUTENÇÃO DO MICRORGANISMO

Foi utilizado meio de cultura semi-sólido para manutenção do inóculo de *Saccharomyces cerevisiae*. A composição do meio é apresentada na Tabela 2. Este meio de cultura foi acondicionado em tubos de ensaio e realizada esterilização em autoclave a 121°C por 15 minutos. Após receberam o microrganismo de forma asséptica, levados à estufa a 30°C por dois dias e armazenados sob refrigeração a 4°C.

Tabela 2: Composição do meio de cultura sólido para levedura

Componente	Concentração (g.L ⁻¹)
Extrato de Levedura	6,0
NH ₄ Cl	5,0
K ₂ HPO ₄	5,0
MgSO ₄ .7H ₂ O	1,0
Sacarose	20,0
Agar Bacteriológico	20,0

A cepa liofilizada de *Lactobacillus delbruckii* foi reativada em frascos Erlenmeyers de 250mL contendo 80mL de meio de cultura MRS mantidos na temperatura de 44⁰C por 24 horas. Após pipetou-se assepticamente 10mL deste meio e colocou-se em tubos de ensaios contendo 5mL de glicerol 5%, previamente esterilizados a 121⁰C por 15min. Estes tubos foram armazenados a -18⁰C. A composição do meio MRS é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3: Composição do meio de cultura sólido para bactérias

Componente	Concentração (g.L ⁻¹)
Extrato de Levedura	5,0
Extrato de Carne	10,0
Peptona	10,0
Glicose	20,0
Tween-80	1,0
K ₂ HPO ₄	2,0
Na – acetato	3,0
(NH ₄) ₂ – citrato	2,0
MgSO ₄ .H ₂ O	0,2
MnSO ₄ .H ₂ O	0,05
Ágar Bacteriológico	20

3.1.3 – INÓCULO

O meio de cultura que foi utilizado na pré-fermentação alcoólica foi o mesmo meio sintético utilizado para manutenção, porém sem o ágar. As pré-fermentações foram realizadas em frascos de Erlenmeyers de 500mL com aproximadamente 150mL de meio, o qual recebeu assepticamente o microrganismo proveniente do meio de manutenção com o auxílio de uma alça de platina. Este meio de cultura foi levado às seguintes condições de cultivo para obtenção do inóculo: temperatura 30⁰C, agitação de 200rpm durante aproximadamente 16 horas em incubadora refrigerada orbital modelo MA 830, marca Marconi. O inóculo foi utilizado na proporção 1:10 (v/v) no meio de fermentação.

Para a fermentação láctica o meio de cultura utilizado foi o MRS sem ágar. As pré-fermentações foram realizadas em frascos de Erlenmeyers de 500mL com aproximadamente 150mL de meio, o qual recebeu assepticamente o microrganismo proveniente do meio de manutenção contendo o glicerol. Este meio de cultura foi levado a incubadora BOD modelo MA 415/S, marca Marconi a 45°C durante 12-18h.

3.1.4 – FERMENTADOR

O biorreator utilizado foi do tipo LSL – Biolafitte SA. Este reator consiste de um vidro Pirex de 6L de volume total, montado sobre uma base que permite controlar algumas variáveis, como temperatura, agitação e aeração. O resfriamento do fermentador foi realizado através do acoplamento de um banho ultratermostatizado modelo MA 184 com circulação de água.

Nas fermentações de batelada alimentada, foi utilizada uma bomba dosadora peristáltica modelo Milan BP-200 para alimentar o fermentador com o meio nutriente.

3.2 – MÉTODOS

3.2.1 FERMENTAÇÕES TIPO BATELADA EM FERMENTADOR DE BANCADA

Foram realizadas diversas fermentações em batelada com o propósito de obterem-se os parâmetros cinéticos das fermentações alcoólica e láctica. Foram feitas sete fermentações alcoólicas com diversas concentrações iniciais de substrato. Estas concentrações variaram de 20g. L⁻¹ até 200g.L⁻¹, sendo estes chamados de BA20, BA30, BA40, BA50, BA100, BA150 e BA200, correspondendo o número sempre a concentração de substrato. A concentração de substrato inicial na fermentação láctica foi de 20g.L⁻¹ e foi designado como BL20.

3.2.2 – FERMENTAÇÕES TIPO BATELADA ALIMENTADA EM FERMENTADOR DE BANCADA

Os ensaios de fermentação em batelada alimentada foram realizados em fermentador de bancada de capacidade de 6L. As fermentações eram iniciadas com um volume de 1,5 L, sendo que 10% do volume foi de inóculo da pré-fermentação. Após certo tempo dava-se início a alimentação de substrato através de uma bomba dosadora peristáltica, a qual mantinha a velocidade de alimentação constante até completar o volume de 5L. As vazões de alimentação nas fermentações alcoólicas foram de $0,6\text{L.h}^{-1}$, $0,625\text{L.h}^{-1}$, $0,4375\text{L.h}^{-1}$ e $0,875\text{L.h}^{-1}$, para as fermentações BAA1, BAA2, BAA3 e BAA4, respectivamente. Para as fermentações lácticas foi utilizada sempre a mesma vazão de $0,875\text{L.h}^{-1}$ para os quatro ensaios realizados, sendo estes nomeados de BAL1, BAL2, BAL3 e BAL4. Durante o processo fermentativo o pH do meio foi mantido entre 5,0-5,5 com NH_4OH 6N.

3.3 – MÉTODOS ANALÍTICOS

3.3.1 - DETERMINAÇÃO DA MASSA CELULAR SECA

Amostras de 10mL do meio contendo uma massa celular em fase aquosa foram centrifugadas a 3000rpm durante 15 minutos, em centrífuga EXCELSA BABY II, modelo 206-R, obtendo-se duas fases; a massa celular decantada e a fase aquosa livre de células. O sobrenadante era retirado do tubo e reservado para demais análises. A massa celular precipitada era lavada uma vez com água destilada e novamente precipitada por centrifugação, sendo após seca a 65°C até peso constante em estufa a vácuo SUPRILAB, modelo GST-920. Os resultados finais foram expressos em $\text{g}_{\text{MS}}\text{L}^{-1}$ de meio.

3.3.2 - DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES TOTAIS (ART)

Os açúcares redutores totais foram determinados pelo método colorimétrico adaptado de Somogyi-Nelson (SOMOGYI, 1952). Como o substrato utilizado era a sacarose e sendo este um açúcar não redutor, foi previamente realizada uma inversão

deste açúcar. No caso, foi utilizada uma hidrólise ácida com 1mL da amostra e 1mL de HCl 2N colocando-se em banho-maria a 100°C por 6min, seguida por uma neutralização com 1mL de NaOH 2N.

A determinação de ART das amostras foi realizada através da comparação com curva padrão de sacarose. As amostras eram lidas em espectrofotômetro UV-visível da marca HACH, modelo DR/4000 com comprimento de onda de 540nm.

3.3.3 - DETERMINAÇÃO DO pH

A determinação de pH de cada amostra foi feita através de leitura em potenciômetro digital, marca Digimed , modelo DM 20.

3.3.4 - DETERMINAÇÃO DE ETANOL

Uma amostra de 10mL de meio fermentado foi destilada por arraste de vapor em destilador de nitrogênio, modelo MA 036. O destilado foi recolhido em balão volumétrico de 50mL e o volume completado com água destilada, de forma a obter-se uma diluição de 1:5.

A quantificação do etanol foi feita pelo método descrito por SALIK & POVH (1983), que é precisa para soluções hidroalcoólicas até 20%. Esse método baseia-se na reação de oxidação de etanol a ácido acético após reação com dicromato de potássio em meio ácido. Essa reação é feita com o destilado obtido do meio fermentado. A determinação do etanol foi realizada através de comparação com uma curva padrão de etanol. As leituras foram feitas em espectrofotômetro UV-visível da marca HACH, modelo DR/4000 em comprimento de onda de 600nm.

3.3.5 - DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO

O ácido lático foi determinado pela metodologia proposta por LAWRENCE (1975), que se baseia na conversão do lactato para acetaldeído pelo ácido sulfúrico concentrado

em presença de sulfato de cobre. O ácido láctico é calculado pelo conteúdo de acetaldeído, o qual é determinado colorimetricamente usando-se p-hidroxidifenil. A determinação do ácido láctico foi feita através de comparação com uma curva padrão de ácido láctico. As leituras foram feitas em espectrofotômetro UV-visível da marca HACH, modelo DR/4000 em comprimento de onda de 570nm.

3.4 - DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS

Inicialmente realizou-se um alisamento das curvas experimentais com o auxílio de uma função sigmoideal, que é descrita pela Equação 35. Em seguida calcularam-se os parâmetros cinéticos. Após, efetuou-se uma modelagem cinética do processo batelada e batelada alimentada utilizando-se modelos cinéticos da literatura, um sem inibição, como pode ser visto pela Equação 1 e outro onde havia a inclusão de um termo que indicava inibição pelo produto Equação 35, AIBA *et al.*(1968), tanto para fermentação alcoólica, como para fermentação láctica. Utilizou-se também a equação 47 obtida por MOREIRA (1995), conforme equacionamento apresentado no item 3.4.2 para calcular a velocidade específica de crescimento e modelagem do processo de batelada alimentada.

As equações diferenciais do modelo batelada e batelada alimentada foram integradas pelo método de Runge-Kutta de 4ª ordem sendo utilizado um software de simulação AnaBio 1.0, que utiliza uma linguagem de programação em FORTRAN. Os parâmetros cinéticos foram ajustados com o auxílio dos dados experimentais.

$$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{\frac{x-x_0}{dx}}} + A_2 \quad (35)$$

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S} \cdot e^{(-K_P P)} \quad (36)$$

3.4.1 – MODELAGEM MATEMÁTICA DO PROCESSO DE BATELADA

Para o equacionamento foi admitido que o biorreator:

- é de mistura perfeita;
- possui volume constante;
- possui densidade constante.

Balanco de massa para as células:

$$\frac{dX}{dt} = \mu \cdot X \quad (37)$$

Balanco de massa para o substrato:

$$\frac{dS}{dt} = - \left(\frac{1}{Y_{x/s}} \cdot \mu_s \cdot X \right) \quad (38)$$

Balanco de massa para o produto:

$$\frac{dP}{dt} = \mu_p \cdot X \quad (39)$$

3.4.2 - MODELAGEM MATEMÁTICA DO PROCESSO DE BATELADA ALIMENTADA

Para o equacionamento foi admitido que o biorreator:

- é de mistura perfeita;
- possui volume variável;
- possui densidade constante.

Balço de Massa para as Células:

$$F = \frac{dV}{dt} \quad (40)$$

Balço de Massa para o Substrato:

$$\frac{dS}{dt} = D \cdot (S_m - S) - \frac{1}{Y_{x/s}} \cdot \mu_s \cdot X \quad (41)$$

Balço de Massa para o Produto:

$$\frac{dP}{dt} = \mu_p \cdot X - D \cdot P \quad (42)$$

A seguir serão apresentadas as equações de balanço de massa para células e substrato proposta por MOREIRA (2000).

- **Balanço de Células**

O balanço de massa é dado por:

$$V(dX/dt)_g = X(dV/dt) + V(dX/dt)_{ac} \quad (43)$$

Dividindo a Equação (43) por VX , nós temos:

$$(1/X)(dX/dt)_g = (1/V)(dV/dt) + (1/X)(dX/dt)_{ac} \quad (44)$$

O termo da direita é considerado como velocidade específica de crescimento (μ), a derivada dV/dt é a vazão de alimentação (F) durante a etapa de batelada alimentada e o termo da esquerda representa o acúmulo de biomassa. O volume do reator é dado por:

$$V = V_o + Ft \quad (45)$$

Assim, se o termo de acúmulo é isolado, tem-se o isolamento da variável:

$$dX/X = [\mu - V/(V_o + Ft)]dt \quad (46)$$

Supondo que μ é constante e integrando, a equação resulta:

$$\ln[X(V_o + Ft)] = \mu t + C. \quad (47)$$

C é a constante de integração que assume os valor $\ln(X_o V_o)$, quando $t = 0$. Esta equação permite determinar a máxima velocidade específica de crescimento se o termo do lado direito é graficado versus o tempo.

- Balanço de Substrato

Analogamente o balanço de substrato fica:

$$FS_o = S(dV/dt) + V(dS/dt)_{ac} + V(dS/dt)_c \quad (48)$$

O consumo de substrato apresenta uma cinética de primeira ordem, então $(dS/dt)_c = KS$. Reescrevendo a Equação (48) tem-se:

$$F(S_o - S) = (V_o + Ft)(dS/dt + KS) \quad (49)$$

Dividindo a equação (49) por $(V_o + Ft)$ e $F(S_o - S)$, temos:

$$dS/dt + [K + F/(V_o + Ft)]S = FS_o/(V_o + Ft) \quad (50)$$

A Equação (50) é uma equação não-homogênea de primeira ordem da forma $s' + p(t)s = q(t)$, na qual a solução é:

$$S_o/S = K[(V_o/F) + t] + C' \quad (51)$$

Quando $t = 0$ e $S = S_o$, a constante de integração é $C' = (1 - KV_o/F)$. Esta equação permite determinar a constante K quando o membro da direita é plotado com $[(V_o/F) + t]$.

Outra observação importante é que durante a etapa de alimentação, a velocidade específica de crescimento pode ser determinada através da curva de biomassa versus tempo. A biomassa em cada instante pode ser determinada pela equação abaixo:

$$m_x = X(V_o + Ft) \quad (52)$$

Derivando com relação a t :

$$dm_x/dt = (V_o + Ft)dX/dt + FX \quad (53)$$

Dividindo a Equação (53), membro a membro pela equação (14), temos:

$$(1/m_x)(dm_x/dt) = F/(V_o + Ft) + (1/X)(dX/dt) \quad (54)$$

O termo da esquerda é considerado como a velocidade específica de crescimento, o primeiro termo da direita é a taxa de diluição (D) e o último termo é a velocidade específica de crescimento de biomassa. Sendo assim, a Equação (54) pode ser reescrita como:

$$\mu_m = D + \mu_x \quad (55)$$

Desenvolvimento análogo pode ser feito para o substrato durante a fase de alimentação:

$$m_s = S(V_o + Ft) \quad (56)$$

Derivando com relação a t:

$$dm_s/dt = (V_o + Ft)(dS/dt) + FS \quad (57)$$

Dividindo a Equação (57) pela (52), tem-se:

$$(1/m_x)(dm_s/dt) = (1/X)(dS/dt) + [FS/X(V_o + Ft)] \quad (58)$$

O termo da esquerda é a velocidade de consumo de substrato com relação a biomassa (r_m), o primeiro termo da direita é a velocidade específica de consumo de substrato com relação a concentração celular (r_x). Desta forma, a Equação (58) pode ser reescrita como:

$$r_m = (DS/X) + r_x \quad (59)$$

4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 – DADOS EXPERIMENTAIS

A seguir serão apresentados os dados obtidos experimentalmente dos processos de batelada e batelada alimentada para as fermentações alcoólicas e lácticas. As amostras foram retiradas periodicamente do meio fermentado com a finalidade de acompanhar o processo, através do consumo de substrato e formação de biomassa e produto.

Primeiramente serão apresentados os resultados das fermentações alcoólicas e posteriormente os resultados das fermentações lácticas.

4.2 - FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

4.2.1 - FERMENTAÇÃO EM BATELADA

Foram realizados vários experimentos onde se variou a concentração inicial de substrato com o intuito de se obter os parâmetros cinéticos do processo fermentativo. A partir destes dados foram realizados ajustes dos dados experimentais à função sigmoidal, conforme Equação 35, através do software Origin 5.0. A escolha dessa função deve-se à simplicidade e ao bom ajuste dos dados experimentais. As Figuras 2 a 8 apresentam os ajustes obtidos para cada concentração de substrato. As Tabelas 12 a 18, em anexo, apresentam os dados obtidos de concentração celular, substrato e produto da fermentação alcoólica em batelada. Após foi feita uma análise estatística correlacionando os dados experimentais versus dados calculados, sendo apresentados os coeficientes de correlação nas Figuras 2 a 8.

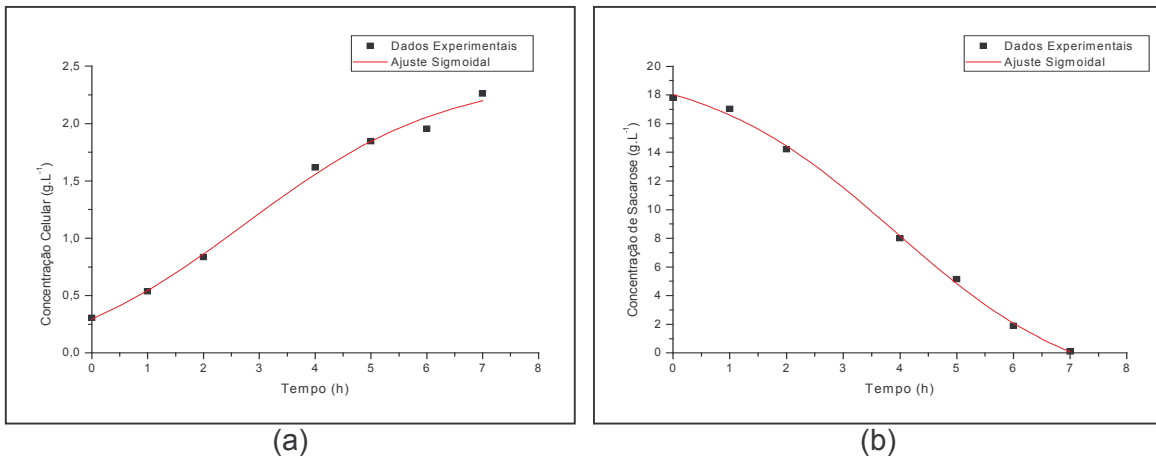


Figura 2: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alcoólica para concentração de substrato de 20 g.L⁻¹ (BA20). (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,9949$; (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,9985$.

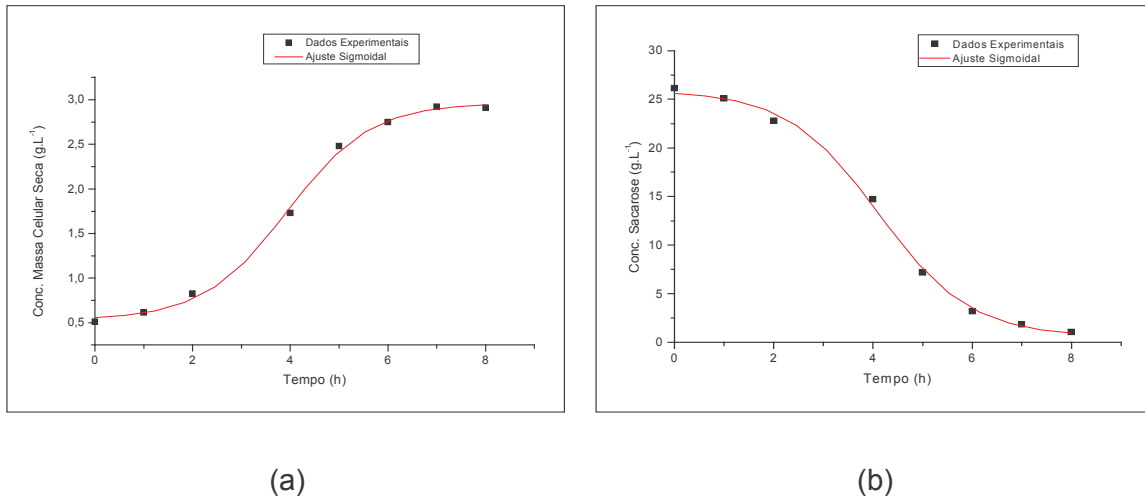


Figura 3: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alcoólica para concentração de substrato de 30 g.L⁻¹ (BA30). (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,9983$; (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,998$.

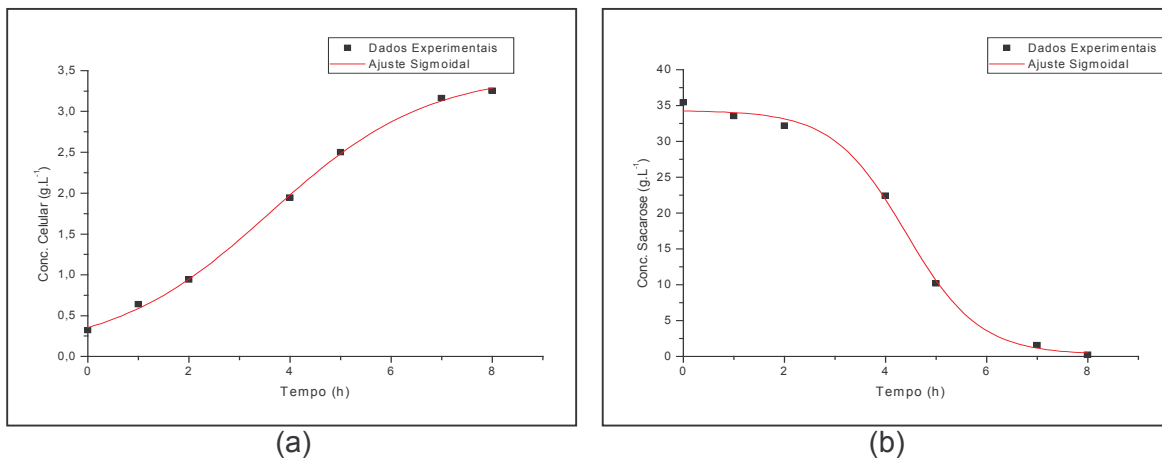


Figura 4: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alcoólica para concentração de substrato de 40 g.L⁻¹ (BA40). (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,9991$; (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,9976$.

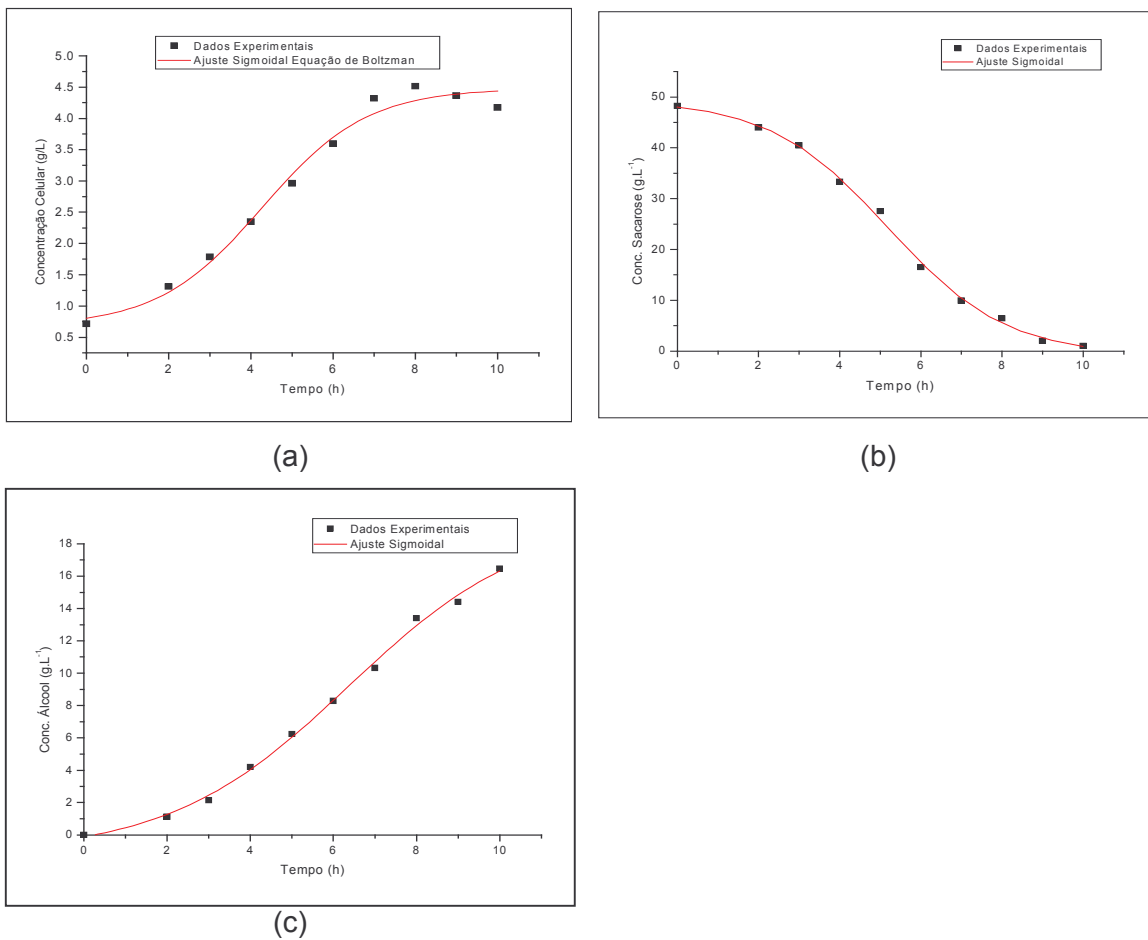


Figura 5: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alcoólica para concentração de substrato de 50 g.L⁻¹ (BA50). (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,9866$; (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,9981$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 = 0,9977$.

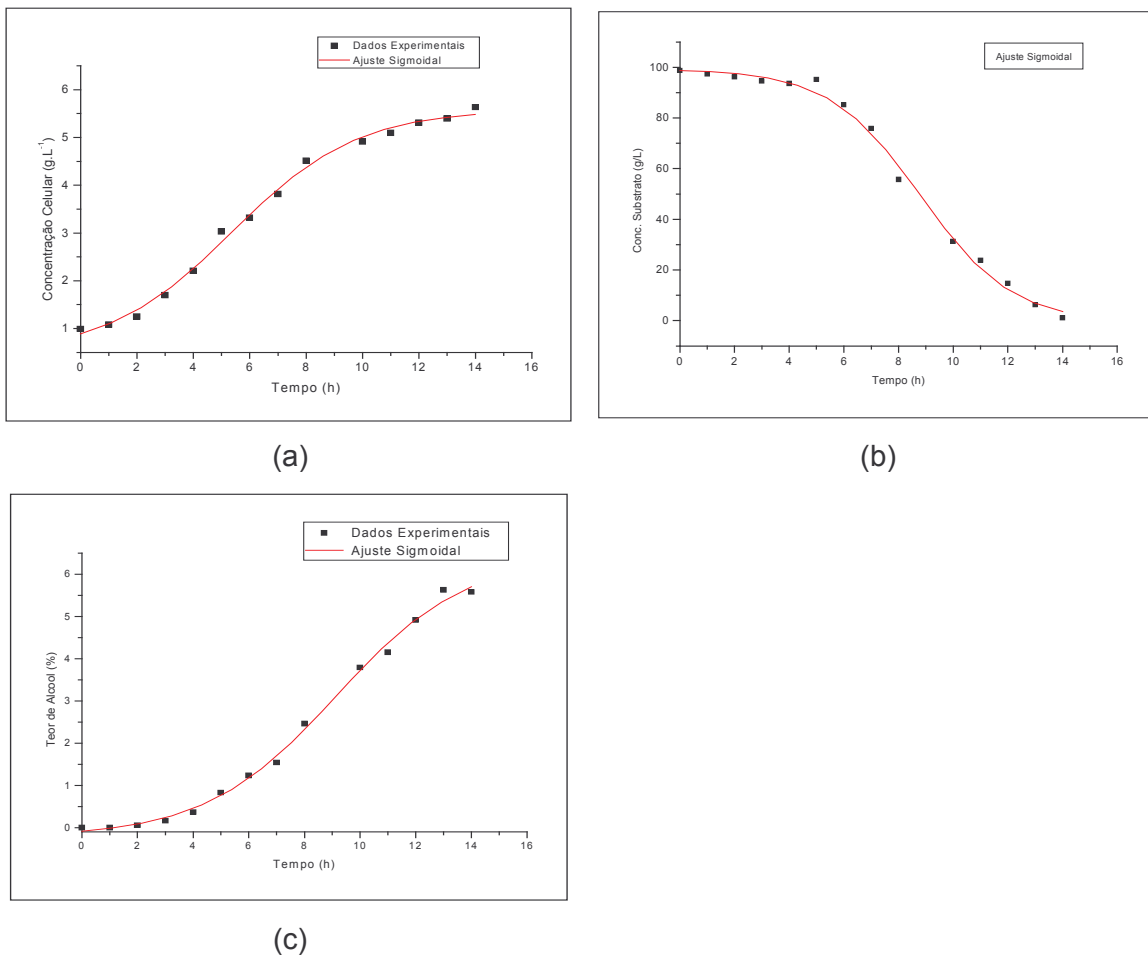
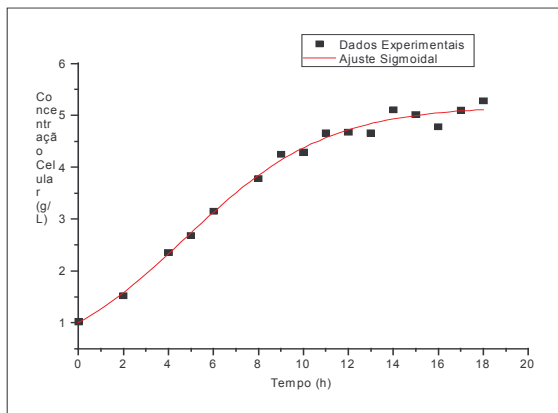
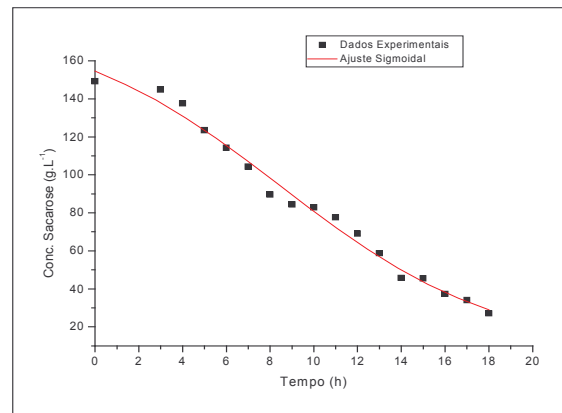


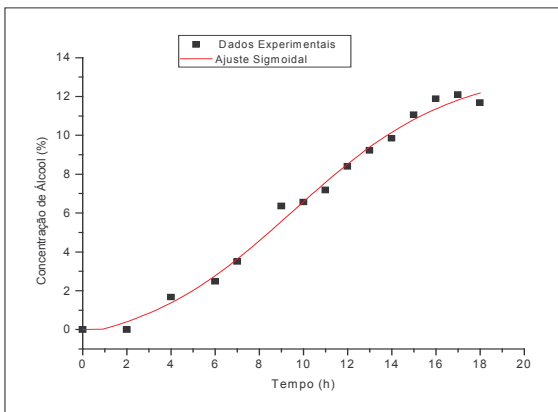
Figura 6: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alcoólica para concentração de substrato de 100 g.L^{-1} (BA100). (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,9958$; (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,9967$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 = 0,9967$.



(a)



(b)



(c)

Figura 7: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alcoólica para concentração de substrato de 150 g.L^{-1} (BA150). (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,9935$; (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,9877$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 = 0,9934$.

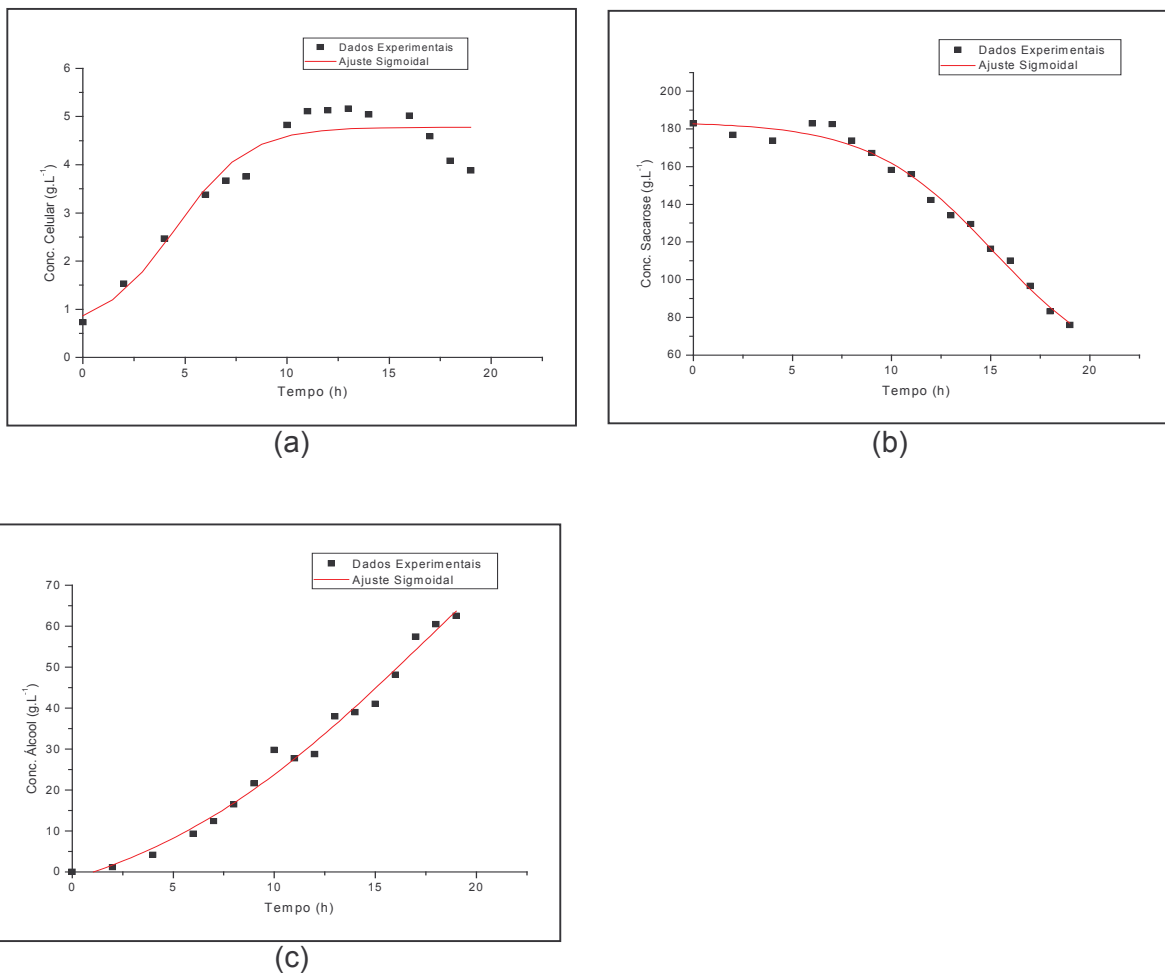


Figura 8: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alcoólica para concentração de substrato de 200 g.L⁻¹ (BA200). (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,9084$; (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,9969$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 = 0,9867$.

Analisando-se as Figuras 2 a 8, pode-se verificar que durante os processos fermentativos ocorreu um consumo de substrato para formação de produto e de biomassa. Em todos os experimentos é observado um comportamento típico de processo fermentativo para as curvas cinéticas de crescimento celular, consumo de substrato e formação de produto. Verifica-se que as maiores concentrações de álcool foram obtidas com as maiores concentrações de substrato e que o crescimento celular ocorreu até o final de todas fermentações, não ocorrendo morte celular, com exceção da batelada com concentração de substrato de 200 g.L^{-1} , que ocorreu desaceleração do crescimento celular a partir do tempo de 15 horas e para a batelada com concentração de 50 g.L^{-1} onde começou a partir do tempo de 8 horas.

Observa-se também que a função sigmoidal ajustou bem os dados experimentais para praticamente todos os ensaios, o que pode ser verificado através dos coeficientes de correlação para cada curva que variaram entre 0,99-0,98. O ajuste só não foi bom para a curva de crescimento celular do ensaio BA200.

4.2.2 - BATELADA ALIMENTADA

Foram realizados quatro experimentos onde se variou a vazão de alimentação de substrato. As Figuras 9 a 12, mostram o comportamento para o crescimento celular, consumo de substrato e formação de produto para os experimentos BAA1, BAA2, BAA3 e BAA4, respectivamente. As Tabelas 19 a 22, em anexo, apresentam os dados obtidos de concentração celular, substrato e produto da fermentação alcoólica para o processo de batelada alimentada.

No experimento BAA1, a alimentação do substrato foi iniciado no tempo de 6 horas e finalizado em 11 horas, sendo que a vazão foi de $0,6 \text{ L.h}^{-1}$. Para o ensaio BAA2 a alimentação de substrato iniciou-se em 12 horas e terminou em 16 horas de fermentação, a uma vazão de $0,625 \text{ L.h}^{-1}$. Para o processo BAA3, a alimentação aconteceu no tempo de 12 a 20 horas, com vazão de $0,4375 \text{ L.h}^{-1}$, e por fim, no experimento BAA4 ocorreu à alimentação no tempo de 9 a 14 horas com uma vazão de $0,875 \text{ L.h}^{-1}$.

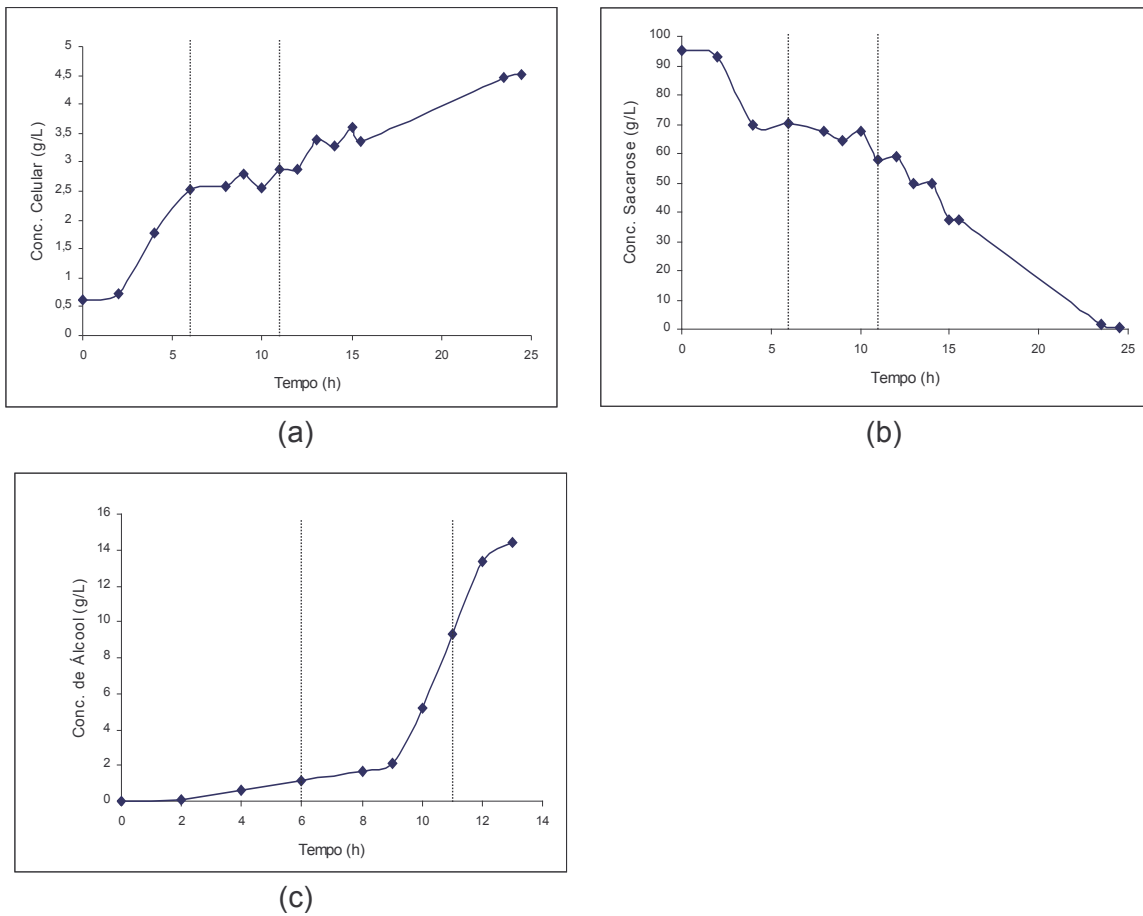


Figura 9: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA1) com vazão de alimentação igual a $0,6 \text{ L.h}^{-1}$. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

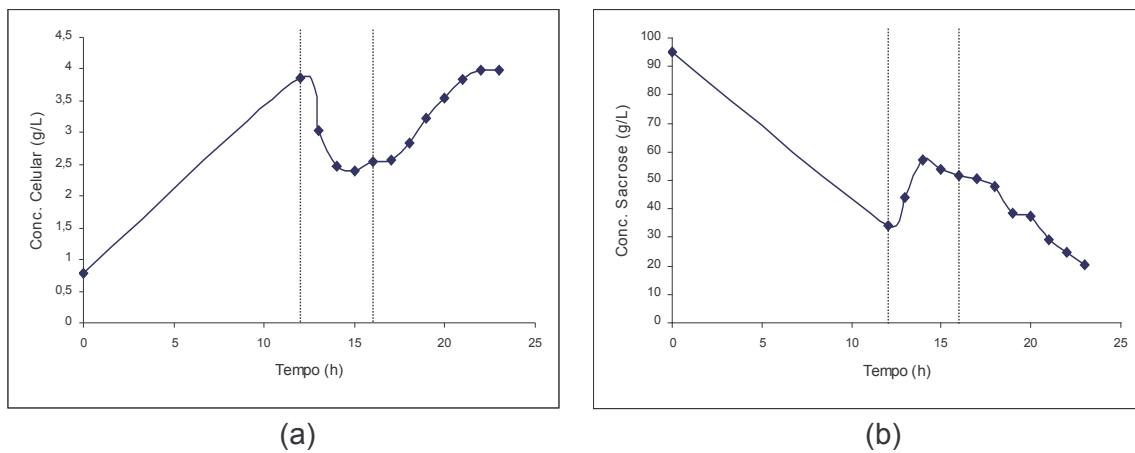


Figura 10: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA2) com vazão de alimentação igual a $0,625 \text{ L.h}^{-1}$. (a)- Comportamento do crescimento celular e (b)- Comportamento do consumo de substrato. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

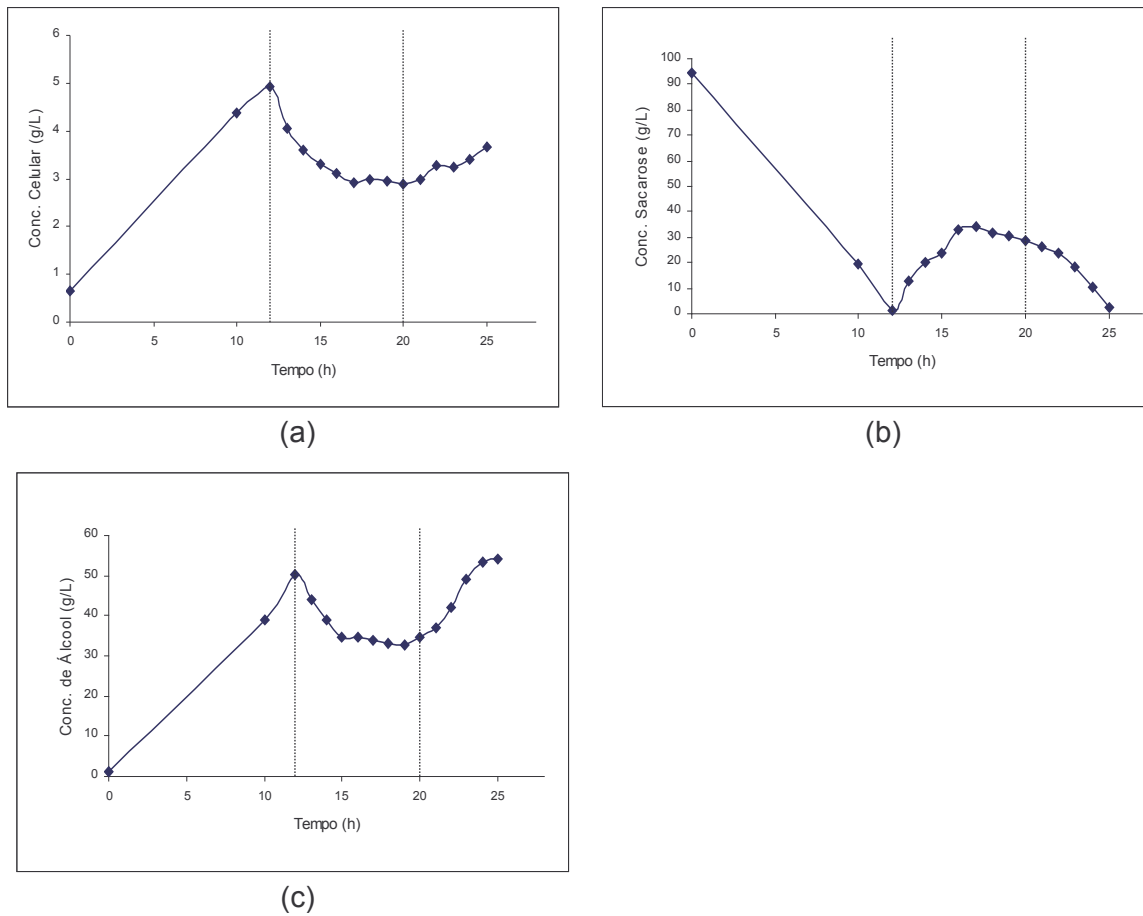


Figura 11: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA3) com vazão de alimentação igual a $0,4375 \text{ L.h}^{-1}$. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

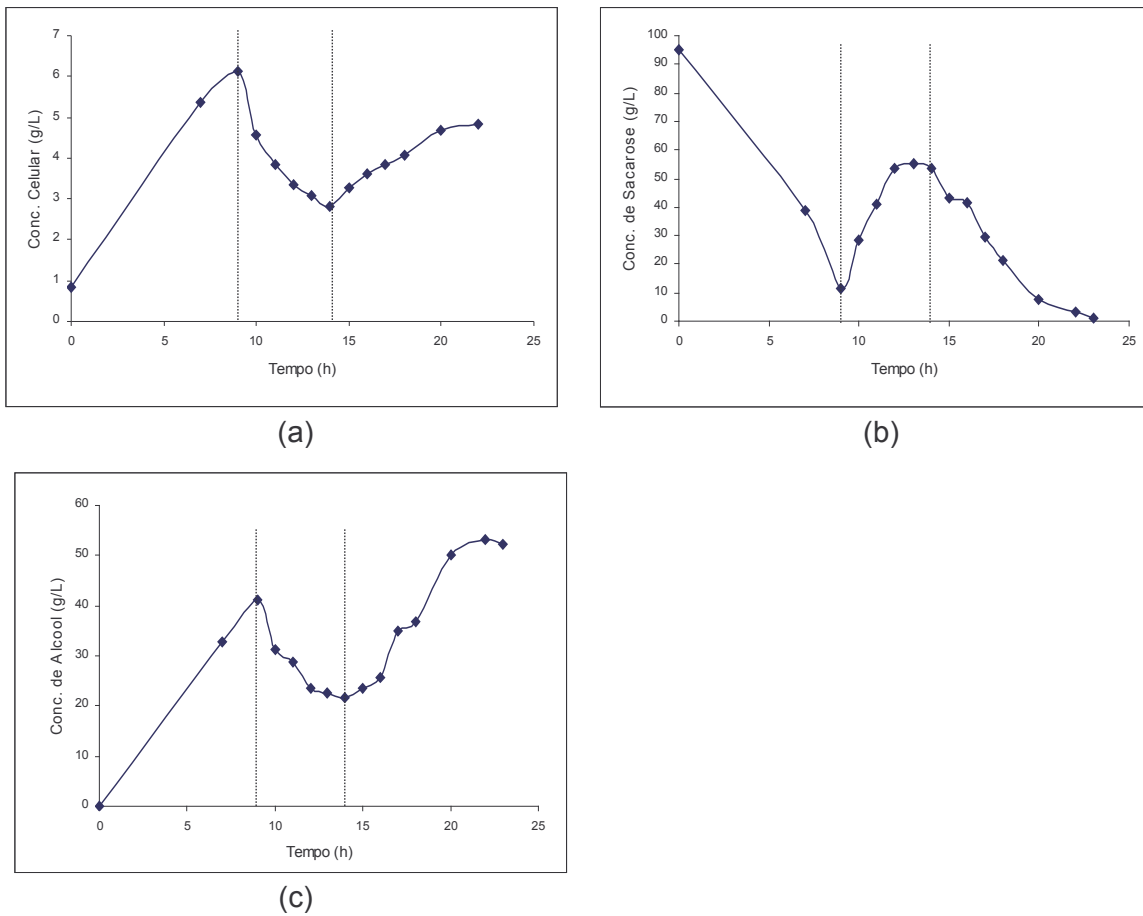


Figura 12: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA4) com vazão de alimentação igual a $0,875 \text{ L.h}^{-1}$. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

Analizando-se as Figuras 9 a 12, verifica-se que para os experimentos BAA2 a BAA4 o comportamento do processo foi semelhante para todos, observando-se que as concentrações celulares durante a fermentação em todos os ensaios decrescem rapidamente na fase de enchimento, seguindo-se um aumento da concentração, fato também constatado por VASCONCELOS (1988).

É ressaltado que nestes três ensaios o crescimento celular é menor que a taxa de diluição, ou seja, $\mu < D$, no intervalo que começa no início da alimentação de substrato e termina um pouco antes da mesma acabar. Após este intervalo, ocorre uma igualdade entre a taxa de diluição e o crescimento celular (ponto de mínimo da curva de concentração celular), seguido por uma fase onde se inicia um crescimento mais acentuado, ou seja, verifica-se que o efeito provocado pela diluição do meio fermentado através da vazão de alimentação é menor que o crescimento celular.

Para este fenômeno não ocorrer dever-se-ia realizar ensaios com alta concentração celular, onde a taxa de diluição seria menor ou igual ao crescimento durante a fase de alimentação.

Como a alimentação do substrato é conduzida a vazão constante, há um acúmulo de substrato durante a fase de enchimento, atingindo um valor máximo próximo ao final desta, quando então a concentração começa a diminuir, tendendo a um valor mínimo (Figuras 10b a 12b).

Com relação à produção de etanol, constatou-se um ligeiro decréscimo, provavelmente porque o efeito de diluição foi maior que a velocidade específica de produção de etanol. Após a fase de alimentação, as concentrações de etanol no meio sofrem aumento mais acentuado que na fase anterior. Apesar de os efeitos inibitórios serem mais acentuados após a fase de enchimento, não existiu mais o efeito de diluição, de tal forma que as concentrações de etanol aumentaram até à medida que as concentrações de açúcares atingiram um valor mínimo. Este comportamento também foi observado por VASCONCELOS (1988).

No ensaio BAA1 iniciou-se a alimentação muito cedo, no tempo de 6 horas, porém durante a fase de alimentação a biomassa teve uma velocidade de crescimento bastante alta, com isso a taxa de diluição foi pouco inferior à velocidade específica de crescimento, mantendo a concentração celular constante. Este experimento apresentou um comportamento diferente dos outros processos. Neste ensaio verificou-se que a formação de produto teve seu início em tempo maior que os demais ensaios e que sua concentração final também foi menor, quando comparado com os outros experimentos para um mesmo tempo de processo. A taxa de diluição foi menor que a velocidade específica de formação de produto.

Verificou-se também que as concentrações de álcool no final dos processos BAA3 e BAA4 foram iguais para os dois ensaios, situando-se em torno de 5,5% (v/v) de álcool.

4.3 - FERMENTAÇÃO LÁTICA

4.3.1 - FERMENTAÇÃO EM BATELADA

Foi realizado um experimento para obtenção dos parâmetros cinéticos do processo fermentativo. A partir destes, foram realizados ajustes dos dados experimentais a função sigmoidal, conforme Equação 35, através do software Origin 5.0. A Figura 13 apresenta o ajuste dos dados experimentais através da função sigmoidal. Foram feitas análises estatísticas correlacionando os valores experimentais e os valores calculados, sendo apresentado o coeficiente de correlação de cada curva. A Tabela 23, em anexo, apresenta os dados obtidos de concentração celular, substrato e produto da fermentação láctica em batelada. Após foi feita uma análise estatística correlacionando os dados experimentais versus dados calculados, sendo apresentados os coeficientes de correlação na Figura 13 .

Fazendo-se uma análise da Figura 13, é possível observar que o ajuste das curvas através da função sigmoidal foi satisfatório para as curvas de crescimento celular e de consumo de substrato, apresentando coeficientes de correlação entre 0,99-0,98. Para a curva que descreve a cinética de formação de produto, obteve-se um ajuste com um coeficiente correlação igual a 0,97, pouco menor que nas curvas anteriores, mas também satisfatório. Este ajuste apresentou uma boa correlação entre os dados experimentais e os calculados, porém a equação sigmoidal não descreveu a fase lag da curva. Isto provavelmente ocorreu devido ao fato de que este processo apresenta uma fase um pouco mais extensa. Este tipo de fermentação é típico para formação de produto não associada ao crescimento celular, e sim parcialmente associada. Sendo assim, há um deslocamento da curva, ou seja, a formação de produto inicia um pouco mais tarde que o aumento da biomassa.

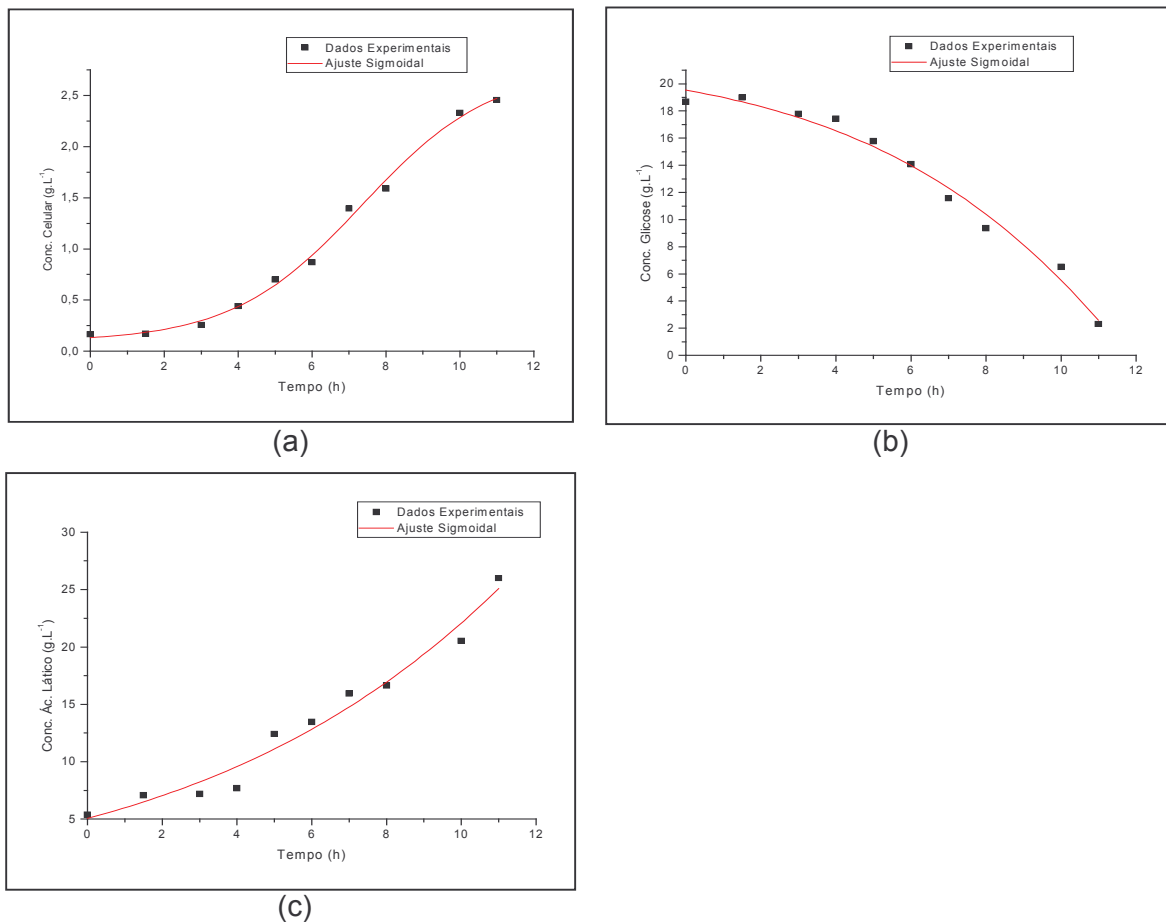


Figura 13: Acompanhamento do processo fermentativo batelada láctica (BL1). (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,9956$; (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,9843$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 = 0,9704$.

4.3.2 - FERMENTAÇÃO EM BATELADA ALIMENTADA

Realizaram-se quatro experimentos: nos dois primeiros a concentração de substrato foi de 30 g.L^{-1} e nos dois últimos de 20 g.L^{-1} . A vazão de alimentação do substrato no meio fermentado foi única e igual a $0,875 \text{ L.h}^{-1}$. As Figuras 14 a 17, mostram o comportamento para o crescimento celular, consumo de substrato e formação de produto para os experimentos BAL1, BAL2, BAL3 e BAL4, respectivamente. As Tabelas 24 a 27, em anexo, apresentam os dados obtidos de concentração celular, substrato e produto da fermentação láctica para o processo de batelada alimentada. Após foi feita uma análise estatística correlacionando os dados experimentais versus dados calculados, sendo apresentados os coeficientes de correlação nas Figuras 14 e 17.

No experimento BAL1, a alimentação de substrato iniciou no tempo de 8 horas e terminou no tempo de 12 horas. Para o ensaio BAL2 e BAL3 as alimentações de substrato, foram iniciadas no tempo de 7 horas e terminaram em 11 horas de fermentação. E por fim, no experimento BAA4 a alimentação deu-se no intervalo de tempo de 9 a 13 horas de fermentação.

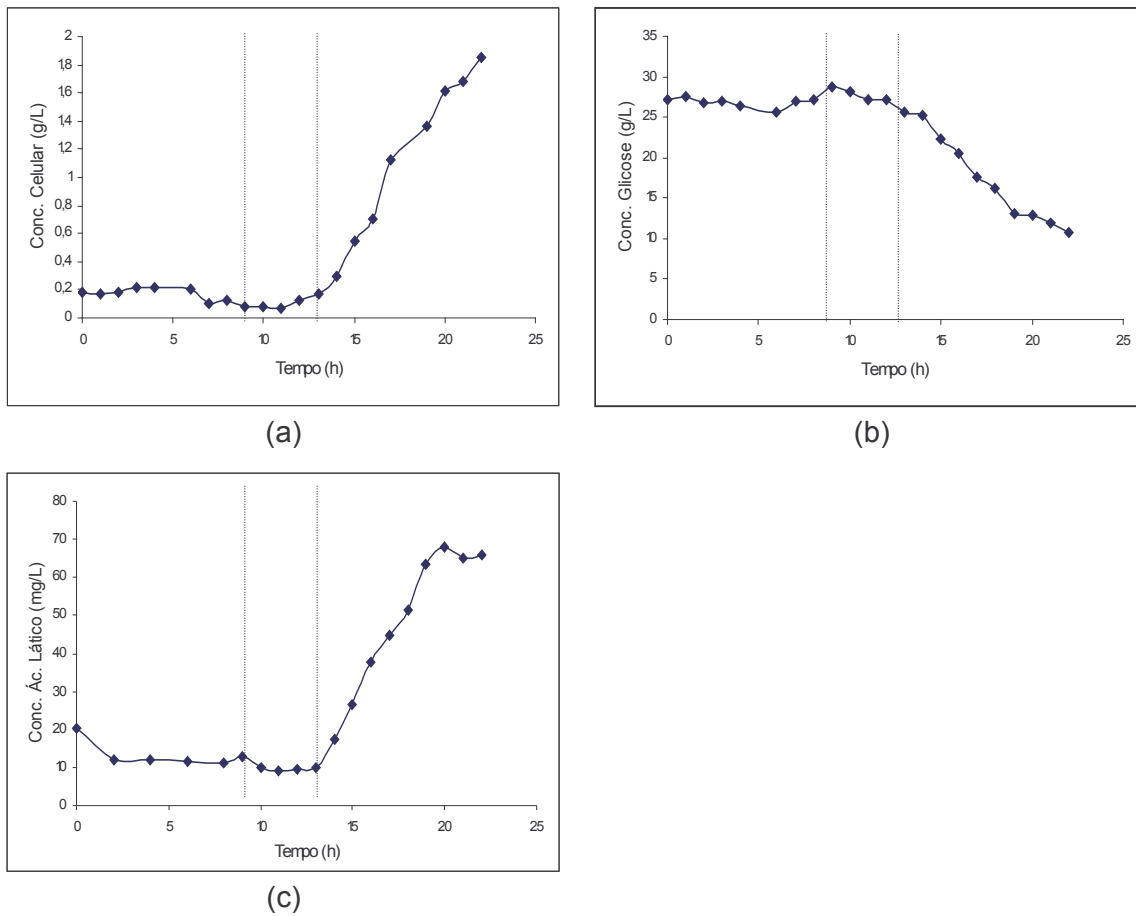


Figura 14: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alimentada láctica (BAL1) com vazão de alimentação igual a $0,875 \text{ L.h}^{-1}$. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

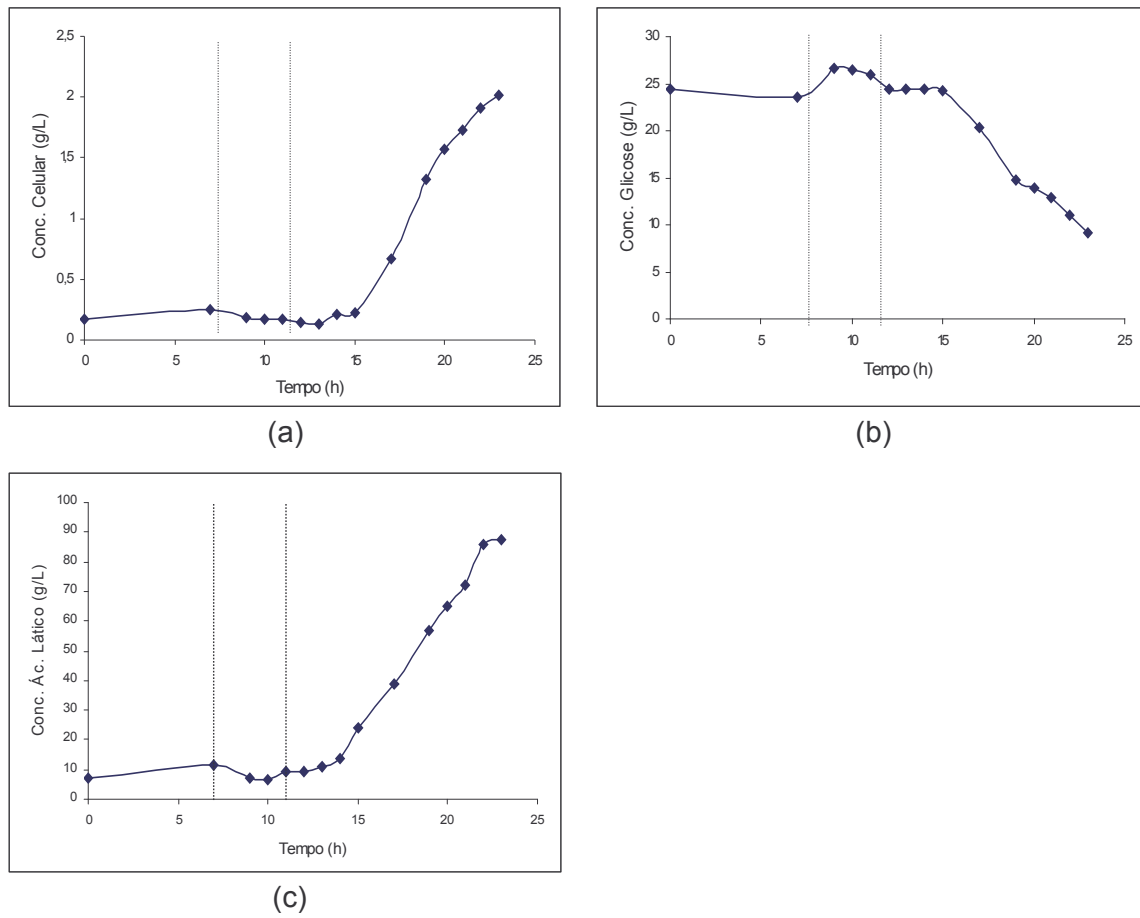


Figura 15: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alimentada lática (BAL2) com vazão de alimentação igual a $0,875 \text{ L.h}^{-1}$. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

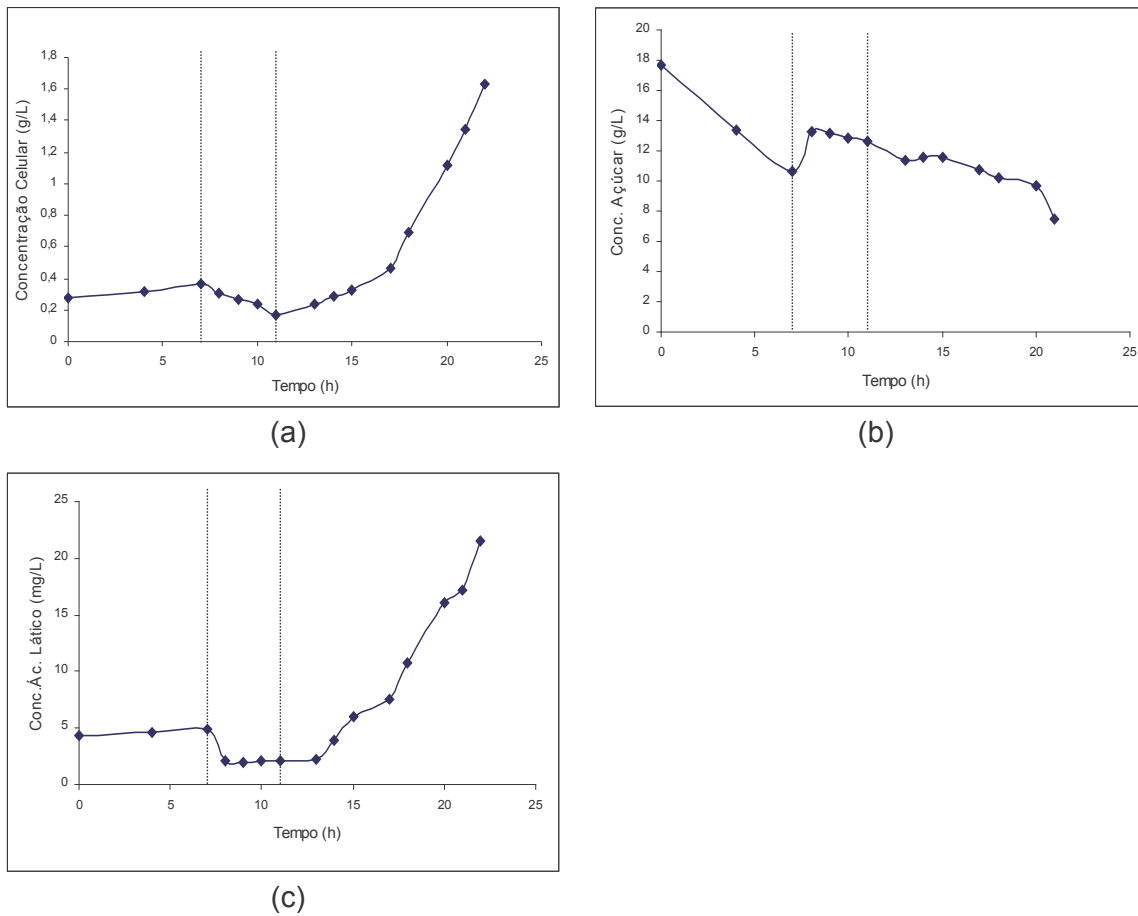


Figura 16: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alimentada lática (BAL3) com vazão de alimentação igual a $0,875 \text{ L.h}^{-1}$. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

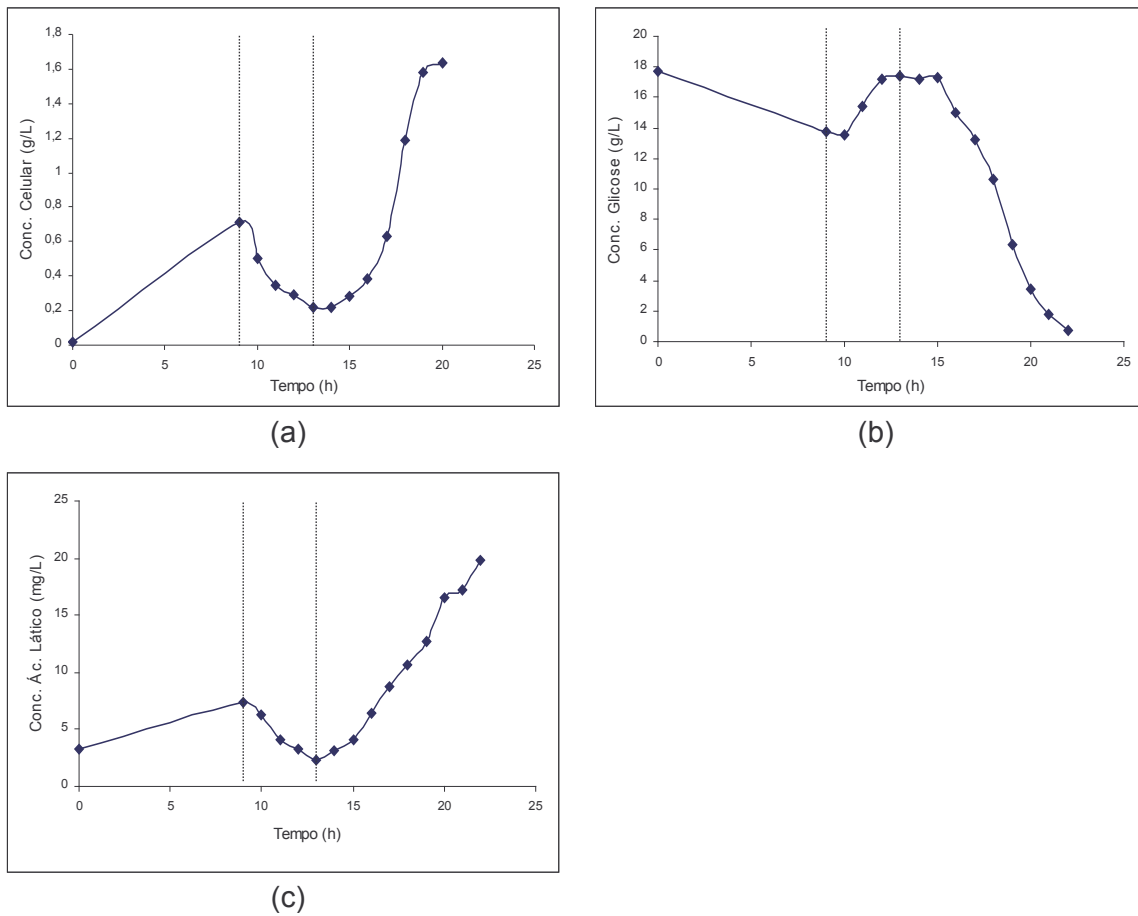


Figura 17: Acompanhamento do processo fermentativo batelada alimentada lática (BAL4) com vazão de alimentação igual a $0,875 \text{ L.h}^{-1}$. (a)- Comportamento do crescimento celular, (b)- Comportamento do consumo de substrato e (c)- Comportamento da formação de produto. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

Observando-se as Figuras 14 e 15 percebe-se que a alimentação de substrato começou quando a concentração no meio em fermentação era muito alta ainda. Nestes dois experimentos a fase lag foi muito extensa. Desta forma quando se deu início a alimentação a concentração celular era muito baixa, ou seja, o microrganismo ainda estava se adaptando as novas condições e não havia entrado ainda na fase exponencial de crescimento. Isto também ocorreu no ensaio BAL3, Figura 16. Pode-se observar também que a fermentação entrou na fase exponencial de crescimento a partir do tempo de 14-15 horas de fermentação.

Este comportamento não ocorreu no processo BAL4 (Figura 17) como pode ser observado na Figura 17. Isto se deve principalmente ao fato de que neste ensaio foram realizadas duas pré-fermentações, com o objetivo de diminuir a fase lag do microrganismo, ou seja, adicioná-lo na fermentação quando este já estivesse mais adaptado ao meio de cultura, que desta forma diminuiria o tempo de fermentação. Só que observando a Figura 17, verifica-se que o tempo de fermentação não diminuiu muito, mas ao observar a concentração celular inicial nota-se que esta era muito baixa quando se iniciou o processo fermentativo; porém, com crescimento bastante acelerado, visto que, quando começou a alimentação de substrato esta concentração já estava com um valor bem alto quando comparado com o tempo zero e bem próximo do valor dos outros experimentos no início da alimentação.

4.4- DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS

As constantes cinéticas μ_{\max} e K_s foram determinadas em diferentes concentrações iniciais de substrato e também em cada fermentação, utilizando-se a técnica da linearização de Lineweaver-Burk da equação de Monod. Os parâmetros cinéticos foram obtidos através de análise de regressão. Os valores das constantes cinéticas estão apresentados na Tabela abaixo.

Tabela 4: Constantes cinéticas de fermentação alcoólica em batelada obtidas a partir da linearização de Lineweaver-Burk

S_0 (g.L ⁻¹)	μ_{\max} (h ⁻¹)	K_s (g.L ⁻¹)
20	0,860	19,834
30	0,983	65,215
40	0,395	6,124
50	0,267	21,10
100	0,176	65,66
Valores iniciais	0,762	184,07

Quanto ao valor de K_s , observa-se que houve uma variação muito grande em cada experimento. Tendo em vista as imprecisões envolvidas na sua determinação (erros experimentais e erros inerentes à regressão linear) e também que K_s é função do microrganismo e do meio de cultura.

O valor que se utilizará é o referente ao processo BA50, que tem $\mu_{\max} = 0,267$ h⁻¹ e $K_s = 21,1$ g.L⁻¹. SOLÀ *et al.* (1988) utilizou o modelo cinético de Aiba e outro modelo onde havia inclusão de termos que indicavam inibição pelo substrato, produto e células, para descrever o processo fermentativo alcoólico em batelada. Os autores encontraram valores de parâmetros cinéticos diferentes dos supracitados, $K_s = 1,01$ g.L⁻¹ e $\mu_{\max} = 0,516$ h⁻¹. BIROL *et al.* (1998) estudando a modelagem cinética de uma fermentação alcoólica com células imobilizadas, testaram onze modelos diferentes encontrados na literatura. Os

valores dos parâmetros cinéticos que os autores encontraram para o modelo cinético de Monod e Aiba são respectivamente; $K_s = 362,65 \text{ g.L}^{-1}$; $\mu_{\max} = 0,758 \text{ h}^{-1}$ e $K_s = 0,016 \text{ g.L}^{-1}$; $\mu_{\max} = 0,209 \text{ h}^{-1}$.

O valor de K_s para a fermentação láctica foi calculado da mesma forma que para fermentação alcoólica, porém neste processo foi realizado somente um ensaio em batelada, onde resultou num valor igual a $K_s = 6 \text{ g.L}^{-1}$ e o valor de $\mu_{\max} = 0,4 \text{ h}^{-1}$. Estes valores estão de acordo com a literatura, segundo VENKATESH (1999) que encontrou $K_s = 6,65 \text{ g.L}^{-1}$ e $\mu_{\max} = 0,25 \text{ h}^{-1}$, mas foram diferentes dos encontrados por BURGOS-RUBIO *et al.* (2000) $K_s = 3,36 \text{ g.L}^{-1}$ e $\mu_{\max} = 1,14 \text{ h}^{-1}$.

Os valores de K_p (constante de inibição por produto), tanto para a fermentação alcoólica como para a láctica foram calculados a partir da linearização da Equação 36. Sendo obtidos os valores de $K_p = 0,01 \text{ g.L}^{-1}$ para a fermentação alcoólica e $K_p = 0,001 \text{ g.L}^{-1}$ para o processo láctico. O valor encontrado para a fermentação alcoólica está um pouco fora da faixa encontrado na literatura, onde foram de $K_p = -0,013 \text{ g.L}^{-1}$ e $K_p = 0,138 \text{ g.L}^{-1}$ para os autores BIROL *et al.* (1998) e SOLÀ *et al.* (1988), respectivamente. Já as constantes de inibição por produto encontrados para a fermentação láctica estão de acordo com o valor encontrado na literatura, conforme VENKATESH (1999).

4.5 – AJUSTE DOS PARÂMETROS E MODELAGEM CINÉTICA

4.5.1 - FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

4.5.1.1 – Batelada

As Tabelas 5 e 6 apresentam os valores dos parâmetros cinéticos utilizados na modelagem cinética do processo de batelada. As Figuras 18 e 19 apresentam a modelagem cinética do processo de batelada. A Figura 18 mostra a modelagem cinética quando utilizado um modelo cinético simples, sem termo de inibição. Já a Figura 19 apresenta a modelagem do processo utilizando-se um termo de inibição por produto. Foi utilizado o software de simulação AnaBio 1.0, sendo que este utilizou as equações de balanços descritas no item 3.4.1. Estas equações diferenciais foram integradas utilizando o método de Runge-Kutta de 4ª ordem e os parâmetros cinéticos foram ajustados aos dados experimentais através de análise visual. Após foi feita uma análise estatística correlacionando os dados experimentais versus dados calculados, sendo apresentados os coeficientes de correlação nas Figuras 18 e 19.

Tabela 5: Parâmetros cinéticos da modelagem cinética do processo de fermentação alcoólica em batelada

Parâmetros	Batelada BA100
μ_{\max} (h^{-1})	0,267
K_s (g.L^{-1})	19,83
$Y_{X/S}$	0,0802
$Y_{P/S}$	0,55

Tabela 6: Parâmetros cinéticos da modelagem cinética do processo de fermentação alcoólica em batelada com termo de inibição pelo produto

Parâmetros	Batelada BA100
μ_{\max} (h^{-1})	0,28
K_s (g.L^{-1})	19,83
$Y_{X/S}$	0,052
$Y_{P/S}$	0,511
K_p (g.L^{-1})	0,01

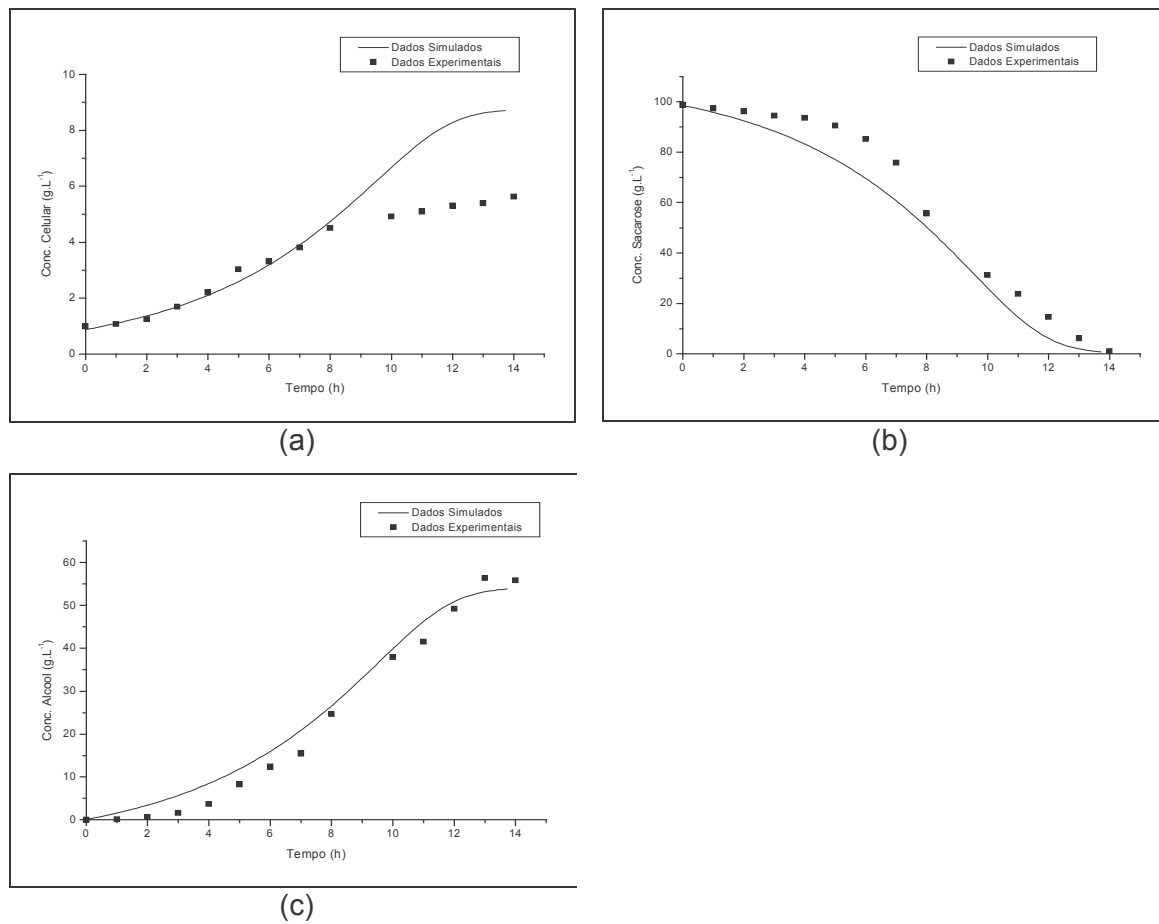


Figura 18: Modelagem cinética da fermentação alcoólica em batelada do experimento com concentração de substrato de 100 g.L^{-1} (BA100) utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,8839$, (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,9766$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 = 0,9759$.

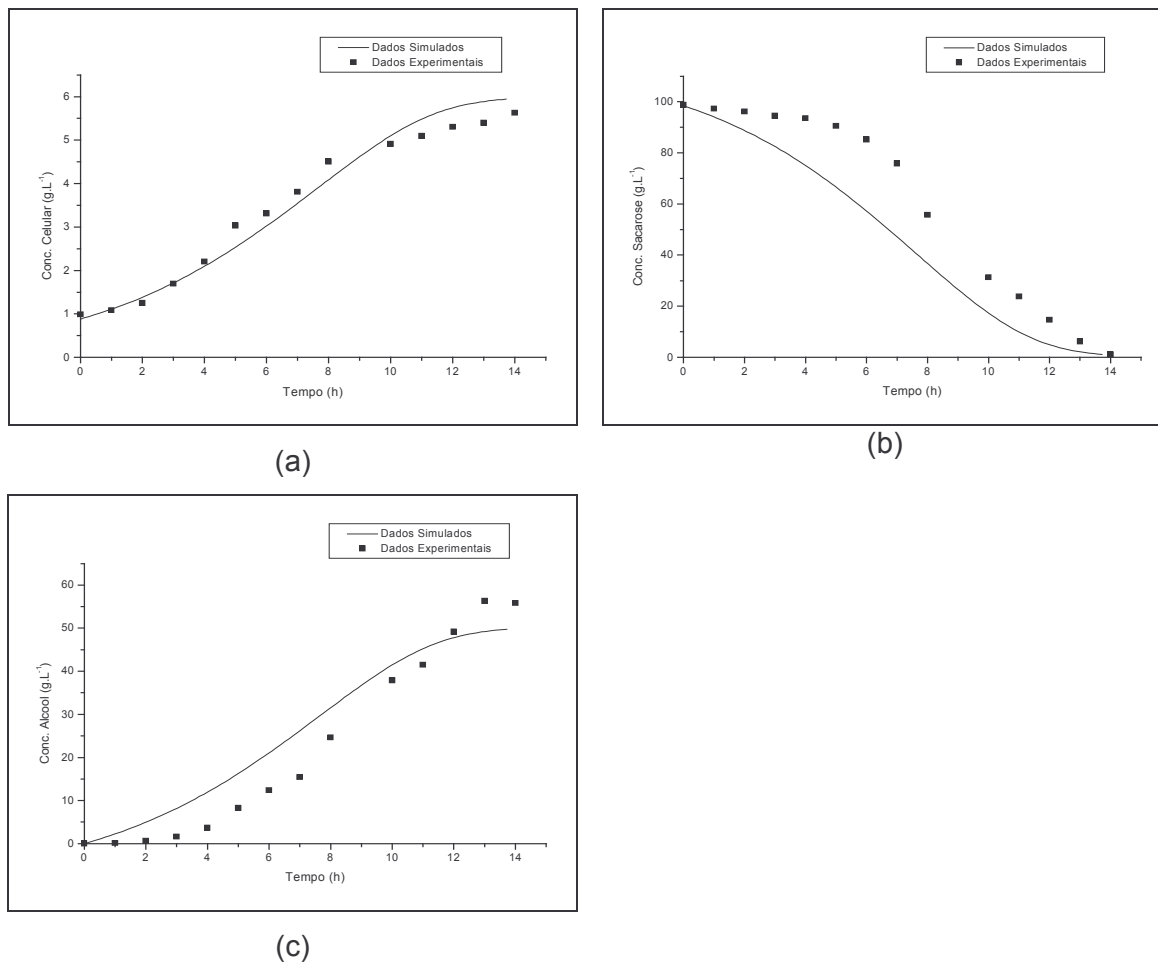


Figura 19: Modelagem cinética da fermentação alcoólica em batelada do experimento com concentração de substrato de 100 g.L⁻¹ (BA100) utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,9775$, (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,9197$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 = 0,8772$.

Analisando-se as Figuras 18a e 19a, pode-se observar que quando se utilizou um modelo cinético simples (modelo de Monod), não houve um bom ajuste dos dados experimentais de crescimento de biomassa, mas ao realizar-se a modelagem com uma função que previa inibição por produto, houve um bom ajuste. Isto fica mais evidente quando se observa os coeficientes de correlação destas duas curvas.

O mesmo ocorreu com os dados de consumo de substrato onde se observou uma melhor conformidade dos dados experimentais com os preditos pelo modelo de Monod, conseguindo-se um bom ajuste, onde se verifica ao visualizar os coeficientes de correlação (Figuras 18b e 19b).

Observando os dados de formação de produto, verifica-se que o modelo proposto com inibição pelo produto não apresentou uma boa concordância entre os valores experimentais e os preditos, ao passo que o modelo de Monod apresentou uma boa correlação (Figuras 18c e 19c).

4.5.1.2 - Batelada Alimentada

As Tabelas 7 e 8 apresentam os valores dos parâmetros cinéticos ajustados no processo de batelada alimentada, para os modelos cinéticos com e sem termo de inibição. Observa-se que os valores dos parâmetros cinéticos são próximos daqueles estimados no processo de batelada, porém, às vezes com alguma diferença, mas com a mesma ordem grandeza. As Figuras 20 a 25 apresentam a modelagem cinética do processo de batelada alimentada. Foi utilizado o software de simulação AnaBio 1.0, sendo que este utilizou as equações de balanços descritas no item 3.4.2. Estas equações diferenciais foram integradas utilizando o método de Runge-Kutta de 4ª ordem e os parâmetros cinéticos foram ajustados aos dados experimentais através de análise visual. Após foi feita uma análise estatística correlacionando os dados experimentais versus dados calculados, sendo apresentados os coeficientes de correlação nas Figuras 20 e 25.

Tabela 7: Parâmetros cinéticos da modelagem cinética do processo de fermentação alcoólica em batelada alimentada

Parâmetros	Vazão (L.h ⁻¹)		
	0,625	0,4375	0,875
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,1760	0,23	0,267
Ks (g.L ⁻¹)	19,8300	19,83	19,830
Y _{X/S}	0,0442	0,04	0,052
Y _{P/S}	0,5110	0,50	0,500

Tabela 8: Parâmetros cinéticos da modelagem cinética do processo de fermentação alcoólica em batelada alimentada com termo de inibição pelo produto

Parâmetros	Vazão (L.h ⁻¹)		
	0,625	0,4375	0,875
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,2	0,28	0,35
Ks (g.L ⁻¹)	19,83	19,83	19,83
Y _{X/S}	0,0442	0,0442	0,055
Y _{P/S}	0,511	0,511	0,5
Kp (g.L ⁻¹)	0,01	0,01	0,01

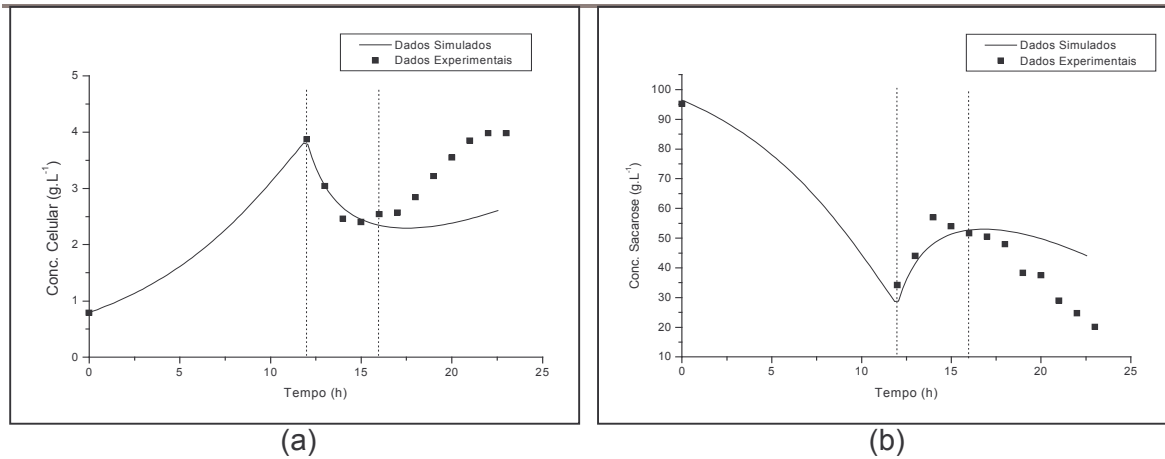


Figura 20: Modelagem cinética do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA2) vazão de alimentação igual a $0,625 \text{ L.h}^{-1}$, utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 < 0,5$ e (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 < 0,5$. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

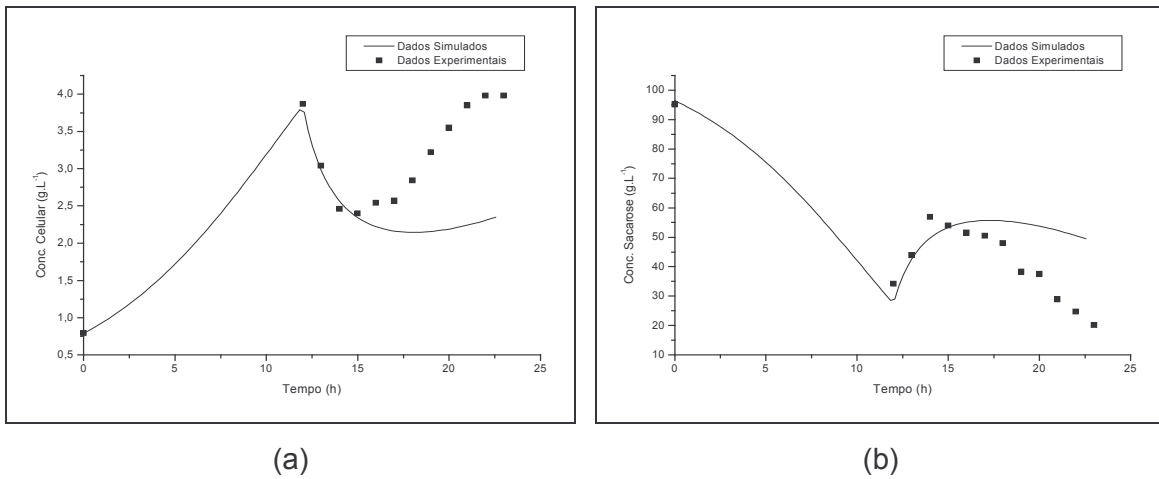


Figura 21: Modelagem cinética do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA2) vazão de alimentação igual a $0,625 \text{ L.h}^{-1}$, utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 < 0,5$ e (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 < 0,5$. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

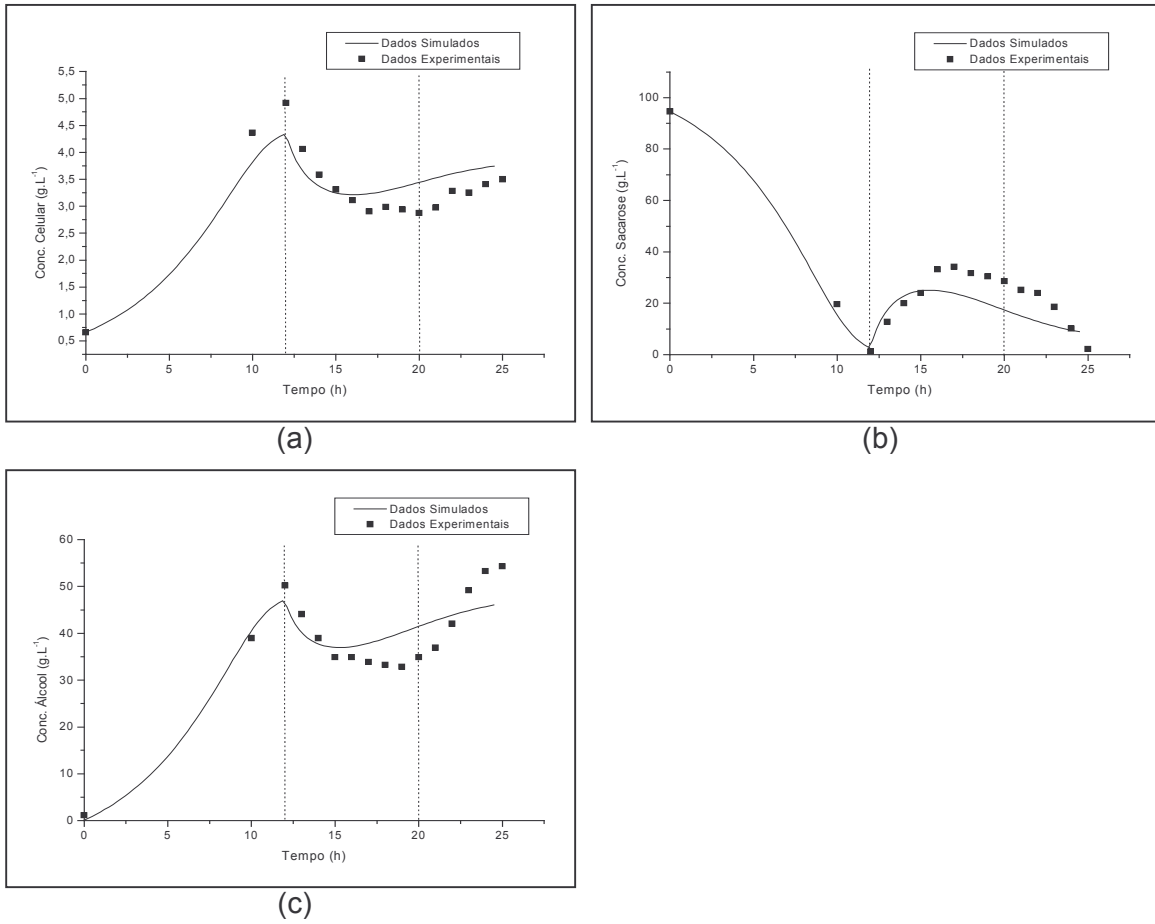


Figura 22: Modelagem cinética do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA3) com vazão de alimentação igual a $0,4375 \text{ L.h}^{-1}$, utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,8073$, (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,8932$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 = 0,7735$. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

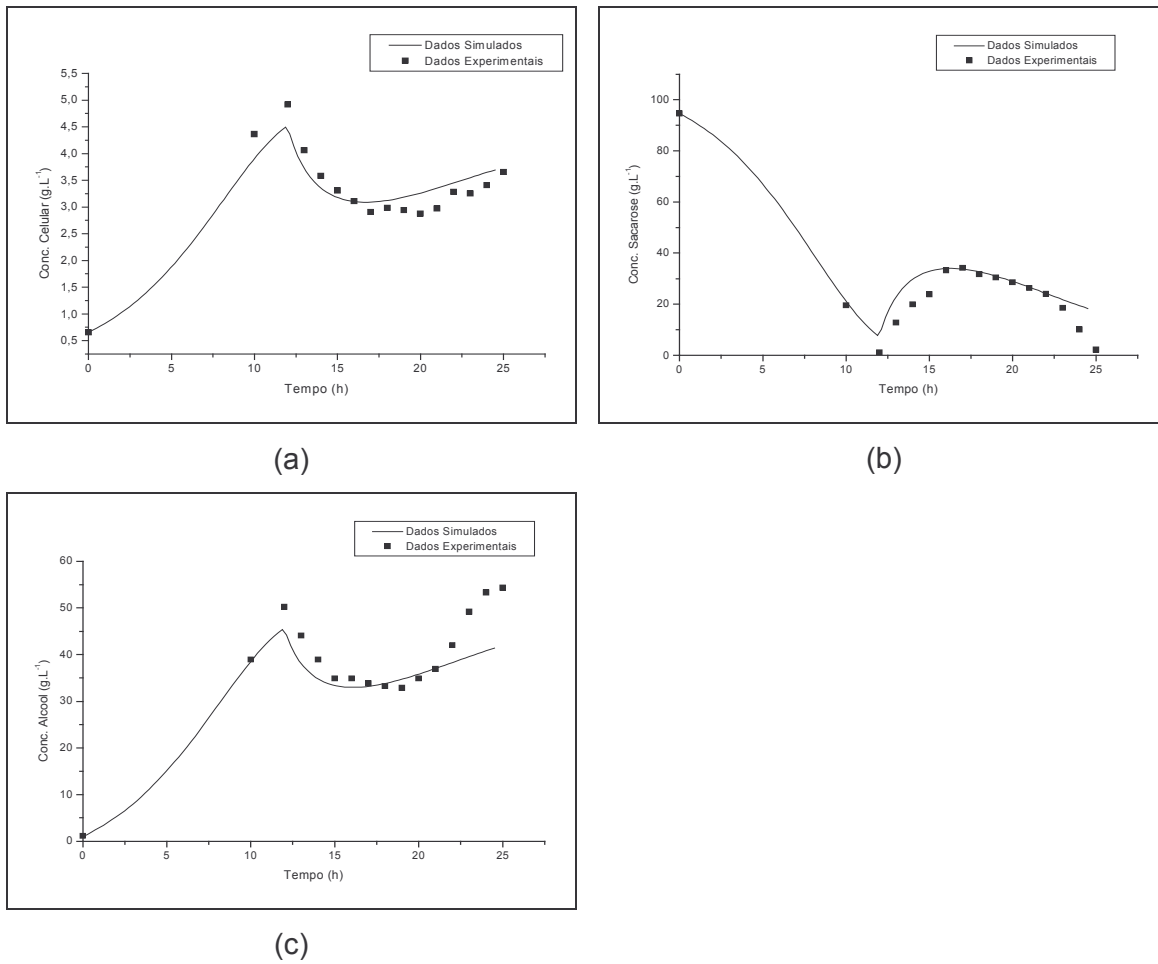


Figura 23: Modelagem cinética do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA3) com vazão de alimentação igual a $0,4375 \text{ L.h}^{-1}$, utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,8213$, (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,8841$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 = 0,8102$. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

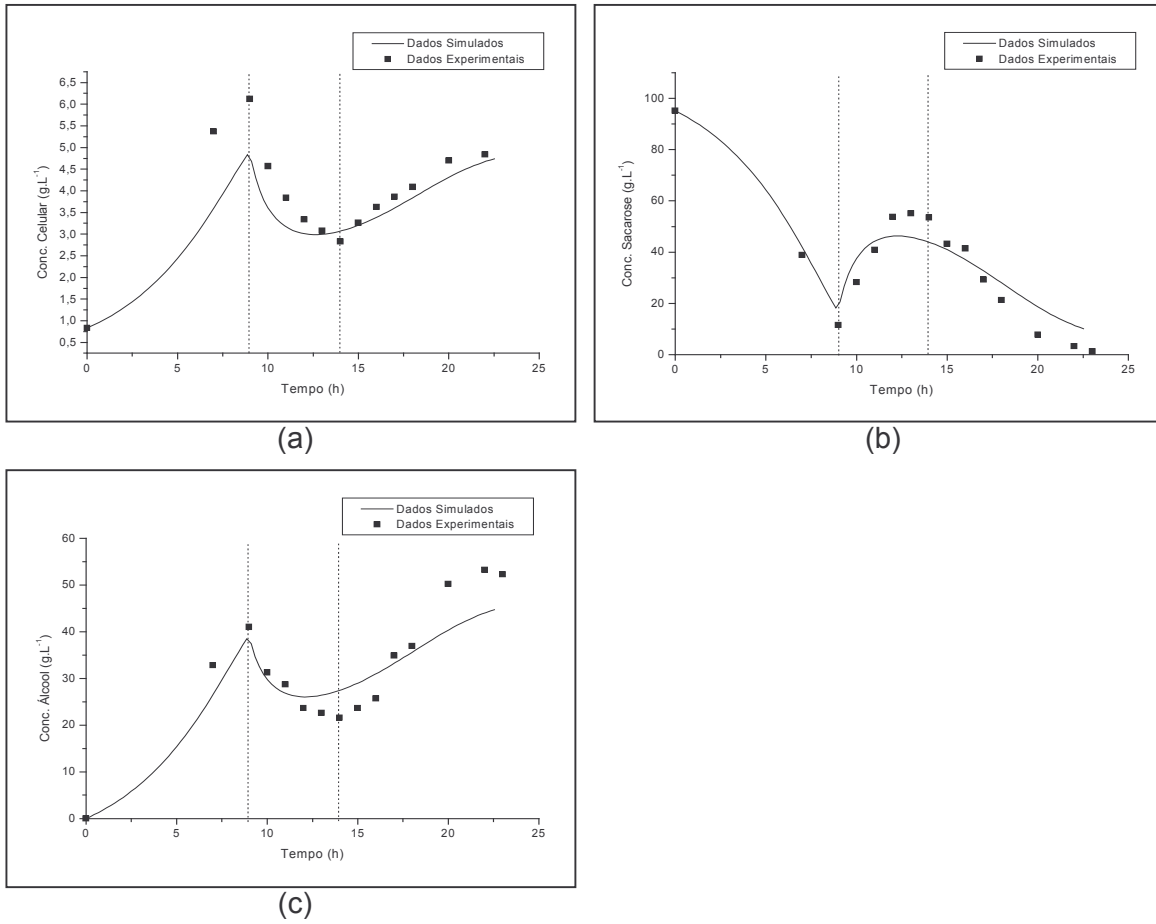


Figura 24: Modelagem cinética do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA4) com vazão de alimentação igual a $0,875 \text{ L.h}^{-1}$, utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,8329$, (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,8718$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 = 0,8087$. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

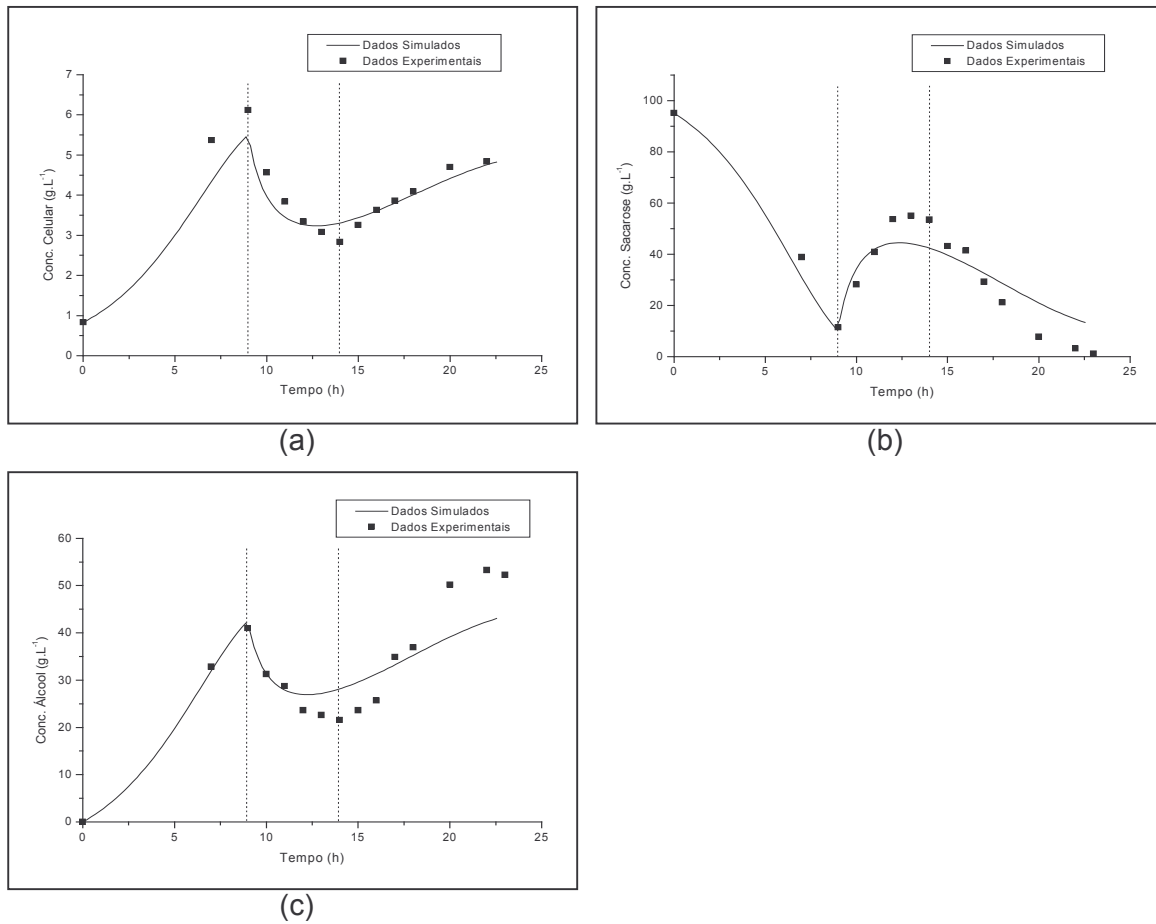


Figura 25: Modelagem cinética do processo fermentativo batelada alimentada alcoólica (BAA4) com vazão de alimentação igual a $0,875 \text{ L.h}^{-1}$, utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,8742$, (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,8366$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 = 0,7297$. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

Ao analisar as Tabelas 7 e 8 que apresentam os parâmetros cinéticos dos processo fermentativos, observa-se que estes parâmetros ajustados foram praticamente iguais para os três ensaios realizados, mostrando que o modelo representa bem o processo na faixa estudada, conforme ANDRIETTA *et al.* (2003).

Examinando-se as Figuras 20 e 21 observa-se que, tanto a modelagem cinética utilizando o modelo de Monod como o modelo cinético com o termo de inibição pelo produto não apresentaram uma boa concordância entre os valores experimentais e os valores calculados, o que pôde ser verificado através dos coeficientes de correlação para cada curva inferiores a 0,5.

Verificou-se que a modelagem possibilitou um bom ajuste dos dados experimentais somente até o tempo de 15 h para as curvas de crescimento celular, como pode ser visualizada pelas Figuras 20a e 21a. Analisando-se as duas curvas, a modelagem sem o termo de inibição (Figura 21a) visualmente apresentou o melhor ajuste. Comparando as curvas de consumo de substrato (Figuras 20b e 21b), constata-se que o ajuste dos dados experimentais foi praticamente igual para os dois modelos, e que este ajuste também foi melhor até o tempo de 15 h.

Comparando-se a modelagem cinética do ensaio BAA3, apresentada pelas Figuras 22 e 23, verifica-se que o ajuste dos dados experimentais, tanto utilizando o modelo cinético com o termo de inibição, apresentou concordância bem semelhantes entre os valores experimentais e os valores calculados, quanto o modelo cinético de Monod, comparando-se os coeficientes de correlação apresentados. Analisando-se as curvas de crescimento celular (Figuras 22a e 23a), o ajuste foi mais satisfatório na modelagem cinética onde se fez uso de um modelo, onde havia a inclusão de um termo de inibição. As curvas de consumo de substrato mostradas nas Figuras 22b e 23b demonstram que os dados experimentais foram melhores ajustados, quando foi utilizado o modelo cinético de Monod ao comparar os coeficientes de correlação linear.

Ao observar as curvas de formação de produto, nota-se que os dados experimentais também apresentaram melhor concordância com os dados calculados,

quando se modelou o processo com o modelo onde havia o termo de inibição, e que este ajuste foi satisfatório até o tempo de 21 h (Figura 23c). Após este tempo, os valores calculados distanciaram-se bastante dos dados experimentais. Quando se modelou o processo utilizando-se o modelo de Monod, o ajuste foi satisfatório somente até o tempo de mais ou menos 16 h (Figura 22c).

Examinando-se as Figuras 24 e 25 que mostram a modelagem cinética do ensaio BAA4, onde se utilizou o modelo de Monod e o modelo de Aiba, respectivamente, é possível observar que as curvas de crescimento celular (Figuras 24a e 25a), indicam que houve melhor ajuste quando se utilizou o modelo cinético com o termo de inibição do que com o modelo de Monod. O mesmo não ocorreu para as curvas de consumo de substrato e formação de produto, que se comparando os coeficientes de correlação, apresentaram valores superiores para a modelagem com Monod, porém mantendo o mesmo comportamento nas duas curvas (Figuras 24b e 25b, Figuras 24c e 25c).

Observando-se estas curvas e fazendo-se uma análise comparativa, verifica-se que a modelagem cinética apresentou um bom ajuste dos dados experimentais, somente até o tempo de 11 h, tanto para as curvas de substrato consumido como para as de produto formado, para os dois modelos cinéticos utilizados.

Fazendo-se uma análise geral para os três ensaios modelados, os ensaios que obtiveram os melhores ajustes dos dados experimentais foram os ensaios BAA3 e BAA4, e o modelo cinético com o termo de inibição pelo produto, apresentou um ajuste mais satisfatório dos dados experimentais para o experimento BAA3.

4.5.2 - FERMENTAÇÃO LÁTICA

4.5.2.1 - Batelada

A Tabela 9 apresenta os valores dos parâmetros cinéticos ajustados no processo de batelada. As Figuras 26 e 27 apresentam a modelagem cinética do processo de batelada, sendo que a Figura 26 mostra a modelagem cinética quando utilizado um modelo cinético simples, sem termo de inibição, e a Figura 27 apresenta a modelagem do processo utilizando-se um termo de inibição pelo produto. Foi utilizado o software de simulação AnaBio 1.0, sendo que este utilizou as equações de balanços descritas no item 3.4.1. Estas equações diferenciais foram integradas utilizando o método de Runge-Kutta de 4ª ordem e os parâmetros cinéticos foram ajustados aos dados experimentais através de análise visual. Após foi feita uma análise estatística correlacionando os dados experimentais versus dados calculados, sendo apresentados os coeficientes de correlação nas Figuras 26 e 27.

Tabela 9: Parâmetros cinéticos da modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada, com e sem o termo de inibição.

Parâmetros	Batelada BL1
$\mu_{\max} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	0,4
$K_s \text{ (g.L}^{-1}\text{)}$	6
$Y_{X/S}$	0,14
$Y_{P/S}$	0,99
$K_p \text{ (g.L}^{-1}\text{)}$	0,001

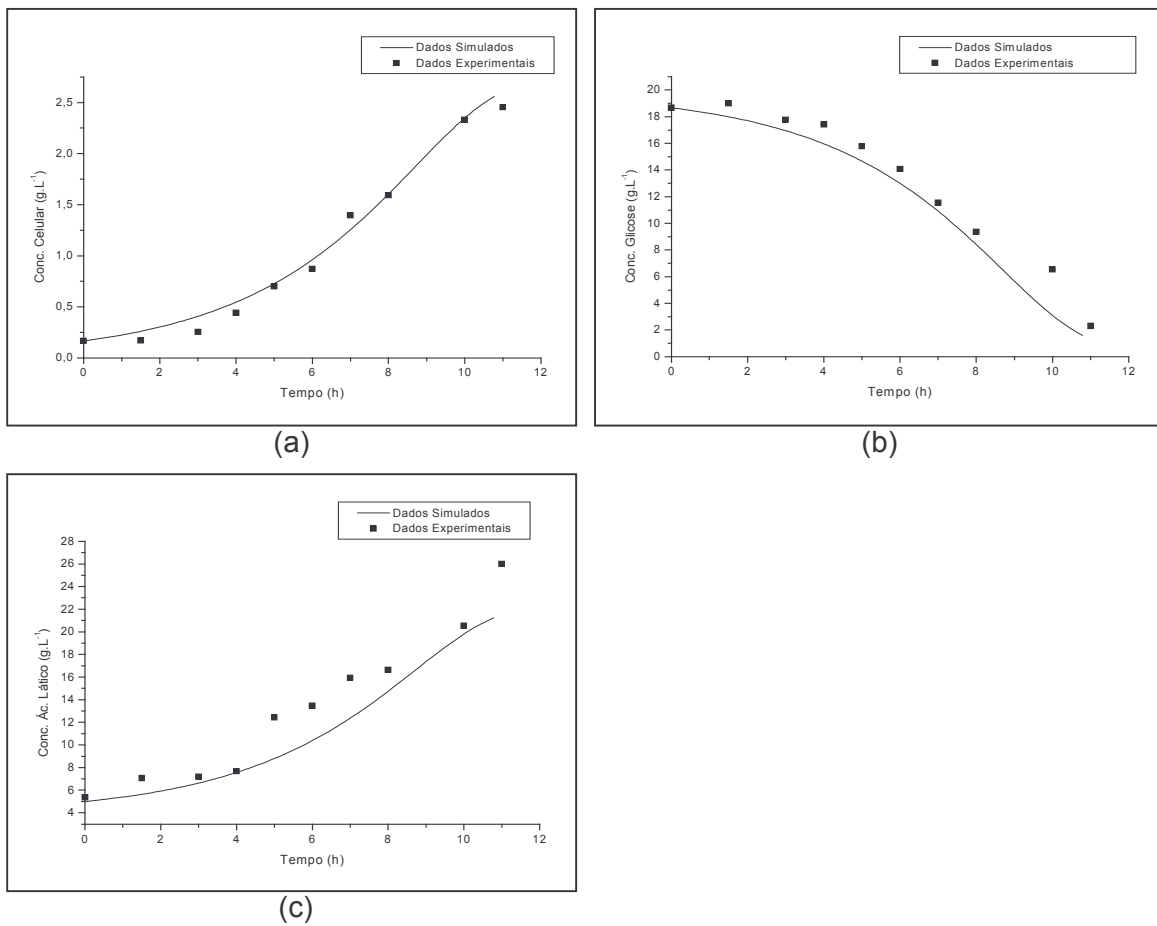


Figura 26: Modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada, experimento (BL1), utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,9874$, (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,9649$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 = 0,9513$.

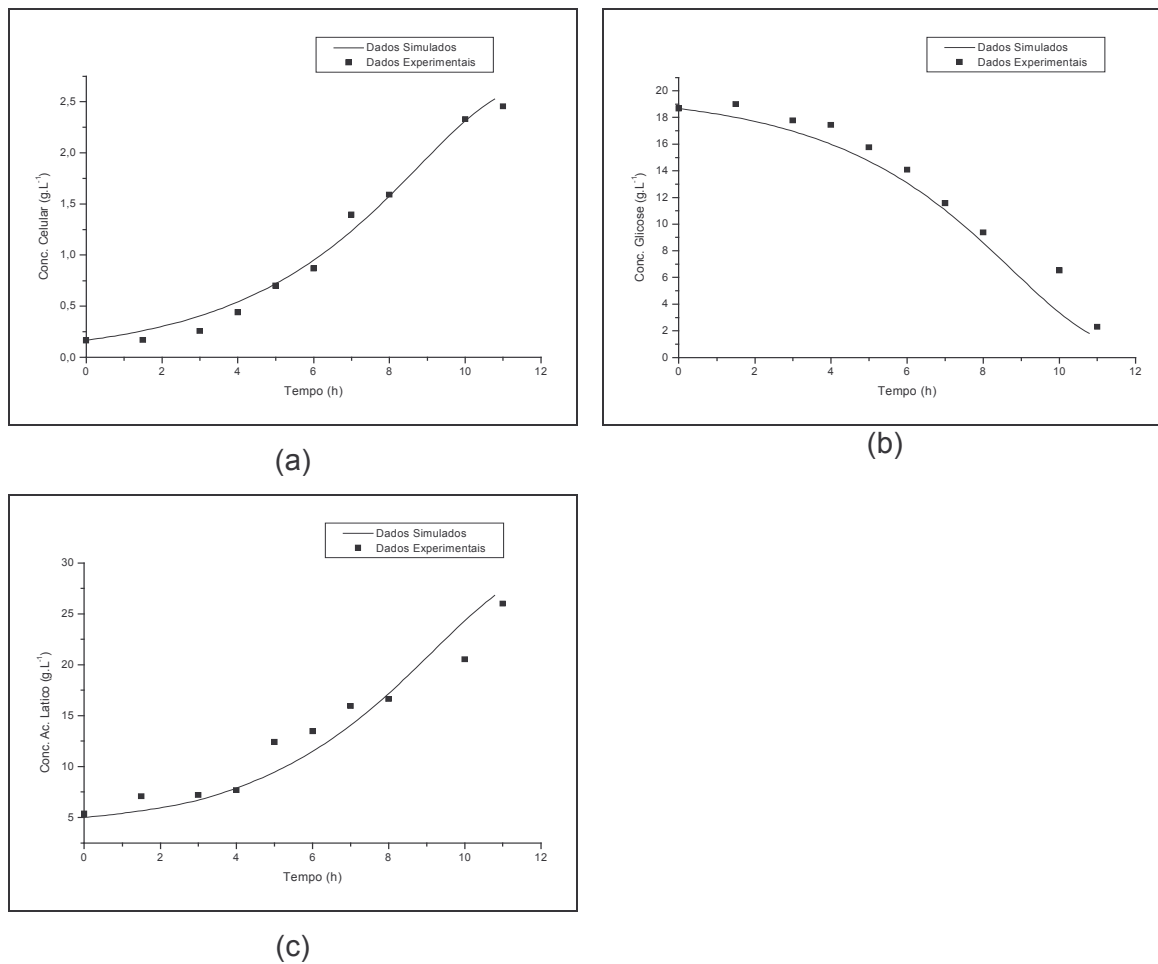


Figura 27: Modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada, experimento (BL1), utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,9868$, (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,9696$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 = 0,9353$.

As Figuras 26 e 27 demonstram que não houve diferença visual entre os dados preditos pelos modelos e os dados experimentais representados pelas curvas cinéticas, tanto com o modelo de Monod, como para o modelo de Aiba, com exceção da curva de formação de produto para a modelagem com Monod, que está representado pela Figura 26b. Porém ao ser feita uma análise estatística correlacionando os dados experimentais e os calculados observa-se que a curva de formação de produto, com a modelagem de Monod apresentou um coeficiente de correlação maior ($R^2 = 0,9513$) quando foi representada pelo modelo cinético que incluía o termo de inibição de crescimento celular pelo produto formado ($R^2 = 0,9353$). As curvas de crescimento celular e consumo de substrato apresentaram coeficientes de correlação praticamente iguais.

4.5.2.2 - Batelada Alimentada

As Tabelas 10 e 11 apresentam os valores dos parâmetros cinéticos ajustados no processo de batelada alimentada, para os modelos cinéticos sem e com termo de inibição pelo produto, respectivamente. Observa-se que os valores dos parâmetros cinéticos são os mesmos estimados no processo de batelada, porém, às vezes com alguma diferença, mas com a mesma ordem de grandeza. As Figuras 28 a 35 apresentam a modelagem cinética do processo de batelada alimentada.

Foi utilizado o software de simulação AnaBio 1.0, sendo que este utilizou as equações de balanços descritas no item 3.4.2. Estas equações diferenciais foram integradas utilizando o método de Runge-Kutta de 4ª ordem e os parâmetros cinéticos foram ajustados aos dados experimentais através de análise visual. Após foi feita uma análise estatística correlacionando os dados experimentais versus dados calculados, sendo apresentados os coeficientes de correlação nas Figuras 29 e 35.

Tabela 10: Parâmetros cinéticos da modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada alimentada.

Parâmetros	Experimentos			
	BAL1	BAL2	BAL3	BAL4
μ_{\max} (h^{-1})	0,3	0,3	0,2	0,4
K_s (g.L^{-1})	6	6	6	6
$Y_{X/S}$	0,18	0,16	0,14	0,14
$Y_{P/S}$	0,99	0,99	0,99	0,99

Tabela 11: Parâmetros cinéticos da modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada alimentada, com o termo de inibição pelo produto.

Parâmetros	Experimentos			
	BAL1	BAL2	BAL3	BAL4
μ_{\max} (h^{-1})	0,35	0,3	0,28	0,42
K_s (g.L^{-1})	6	6	6	6
$Y_{X/S}$	0,18	0,16	0,1	0,1
$Y_{P/S}$	0,99	0,99	0,99	0,9
K_p (g.L^{-1})	0,015	0,015	0,015	0,015

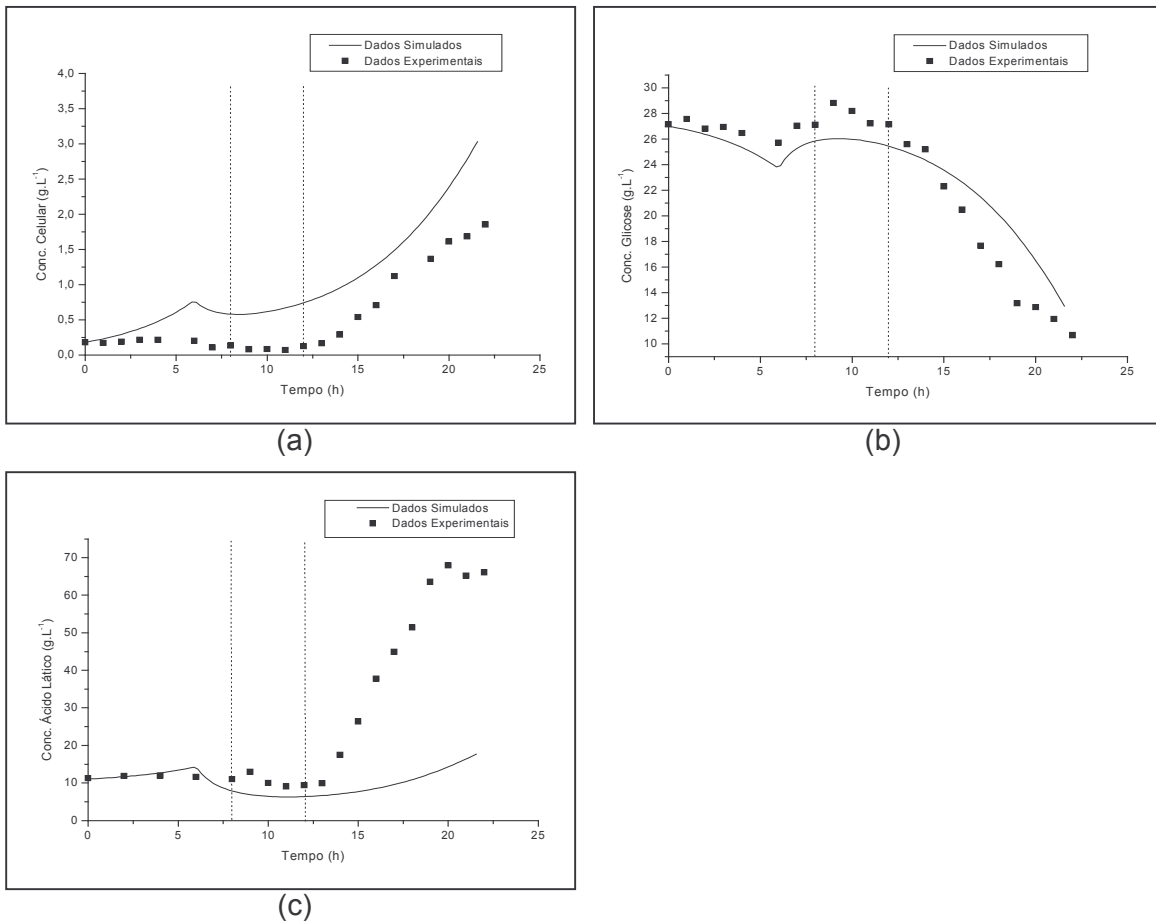


Figura 28: Modelagem cinética do processo fermentação láctica em batelada alimentada, experimento (BAL1), utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,8262$, (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,6690$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 < 0,5$. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

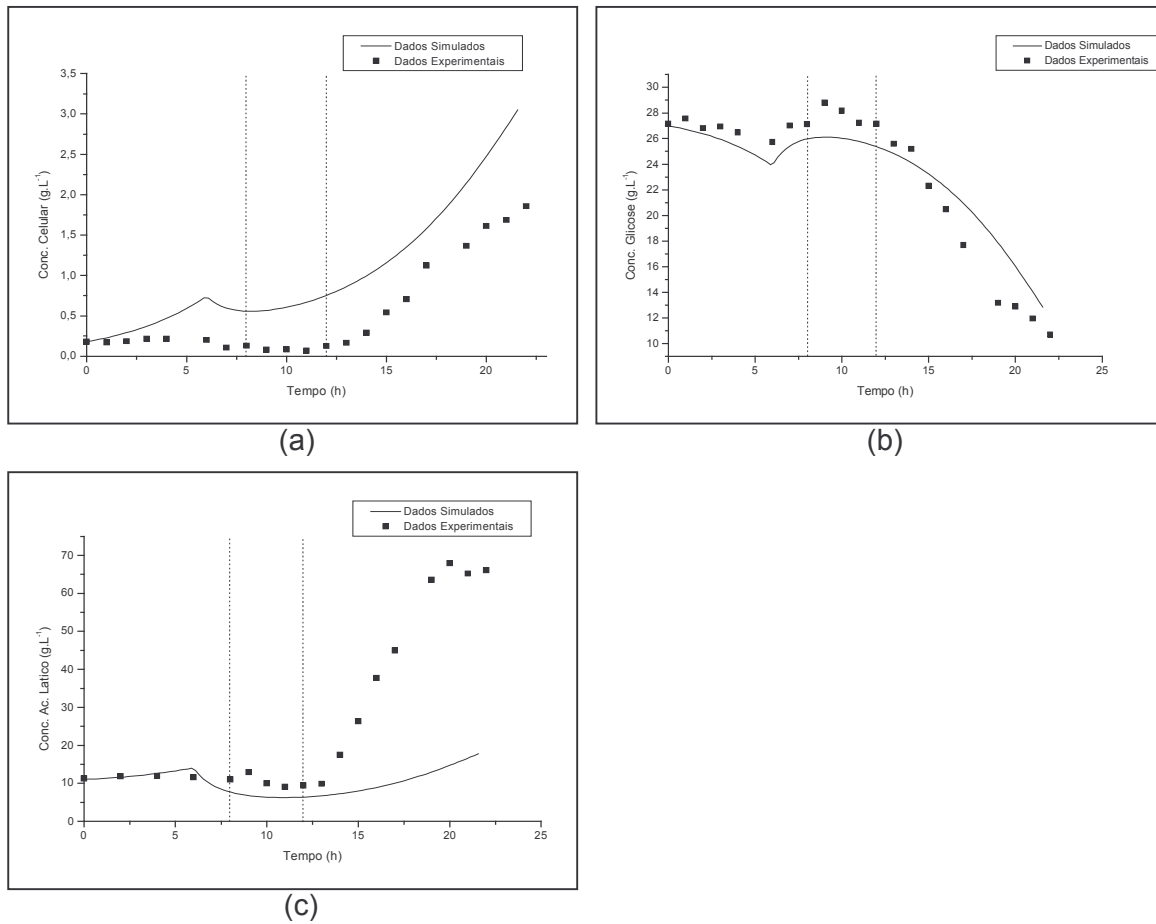


Figura 29: Modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada alimentada, experimento (BAL1), utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,8417$, (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,7545$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 < 0,5$. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

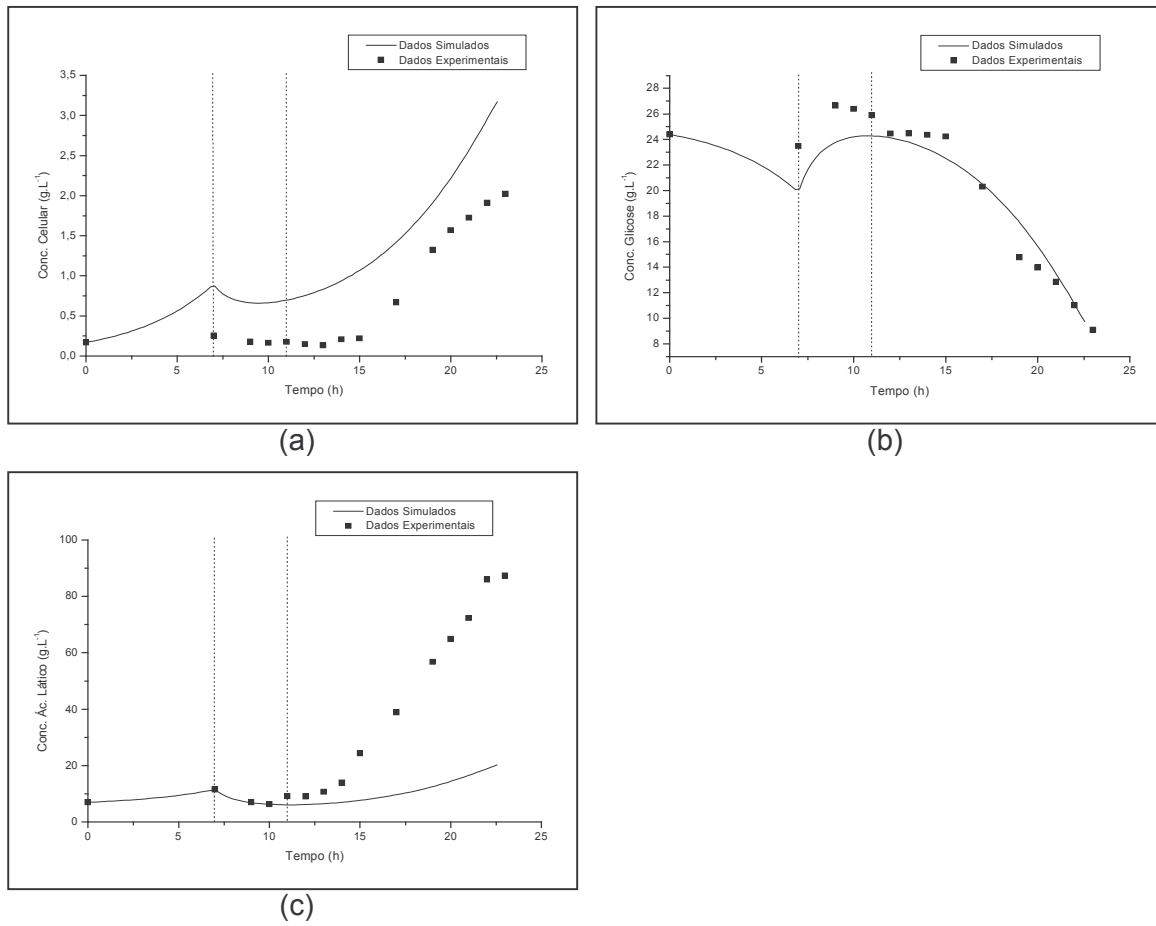


Figura 30: Modelagem cinética do processo fermentação láctica em batelada alimentada, experimento (BAL2), utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,7922$, (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 = 0,9118$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 < 0,5$. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

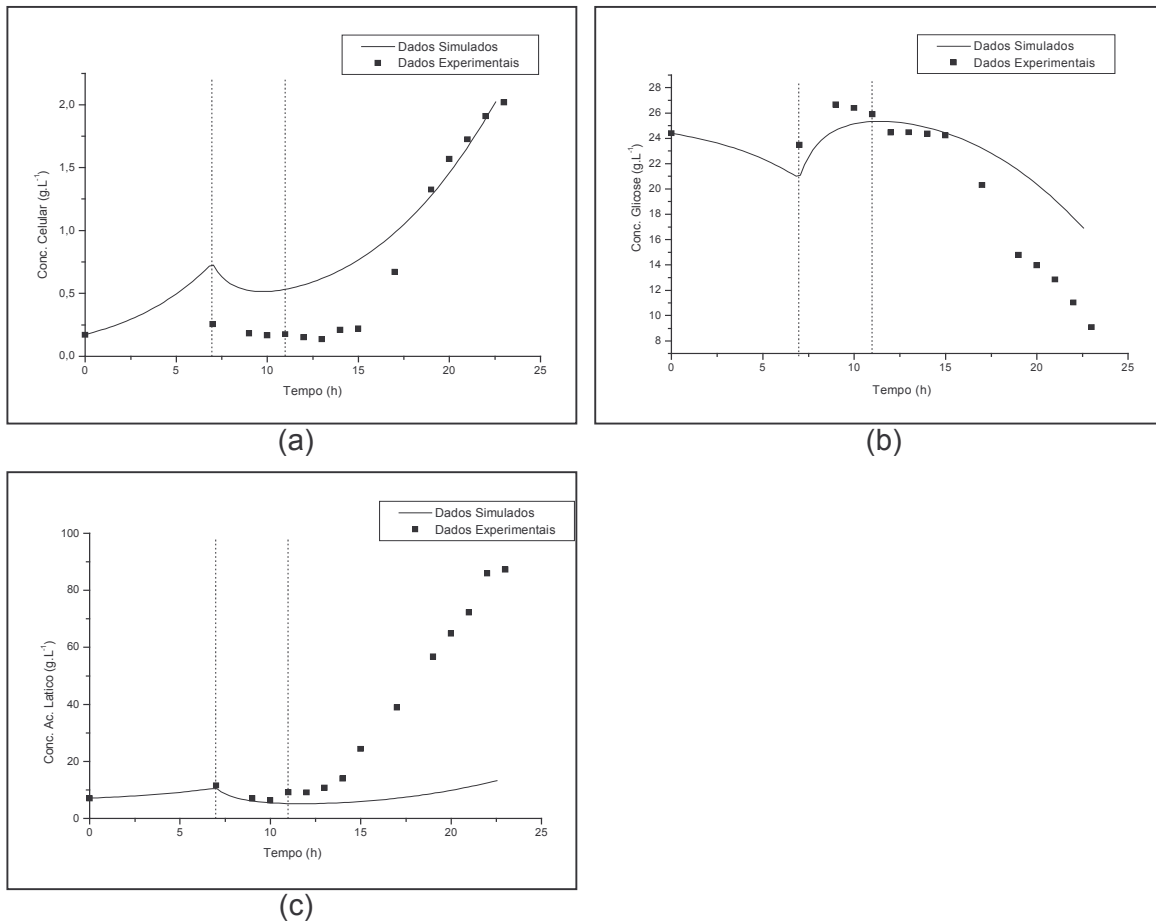


Figura 31: Modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada alimentada, experimento (BAL2), utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,6428$, (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 < 0,5$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 < 0,5$. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

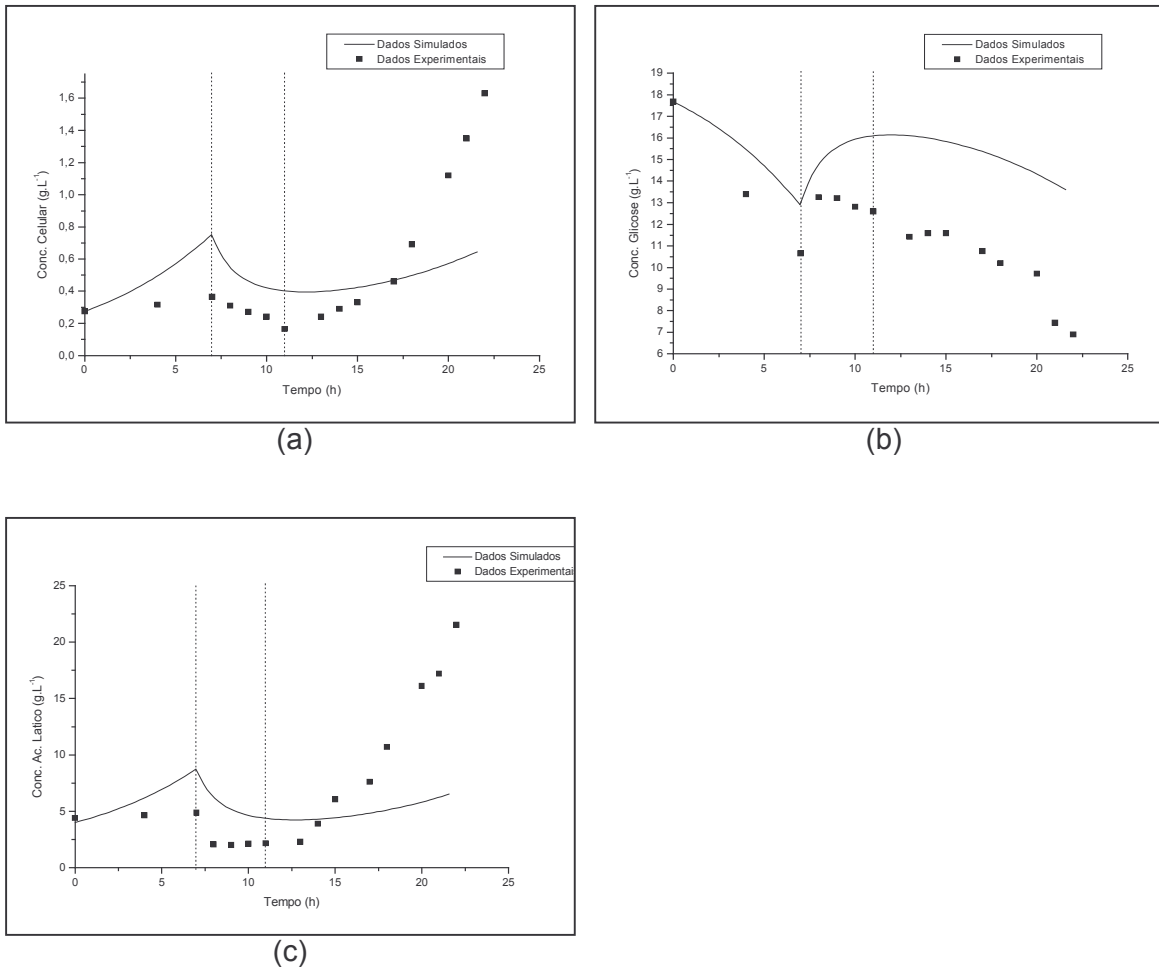


Figura 32: Modelagem cinética do processo fermentação láctica em batelada alimentada, experimento (BAL3), utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 < 0,5$; (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 < 0,5$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 < 0,5$. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

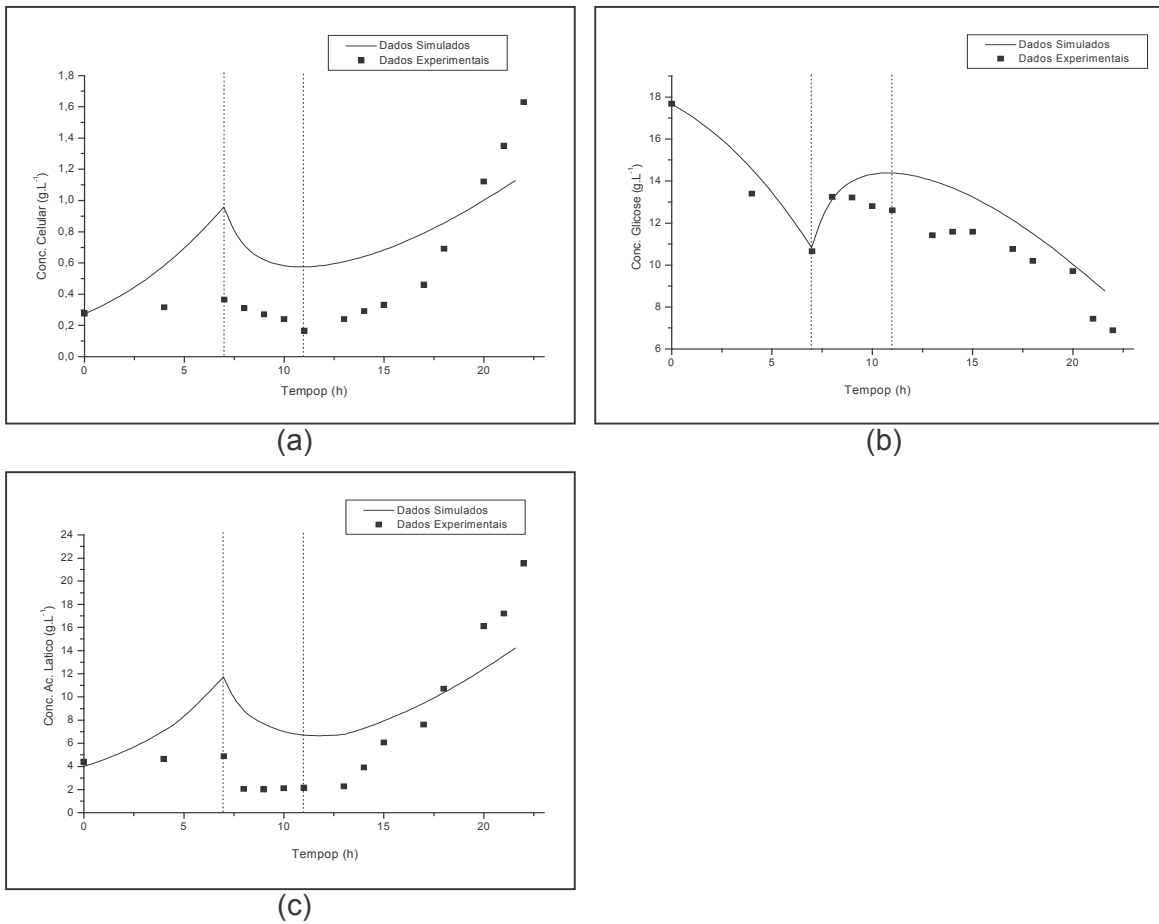


Figura 33: Modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada alimentada, experimento (BAL3), utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 < 0,5$; (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 < 0,5$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 < 0,5$. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

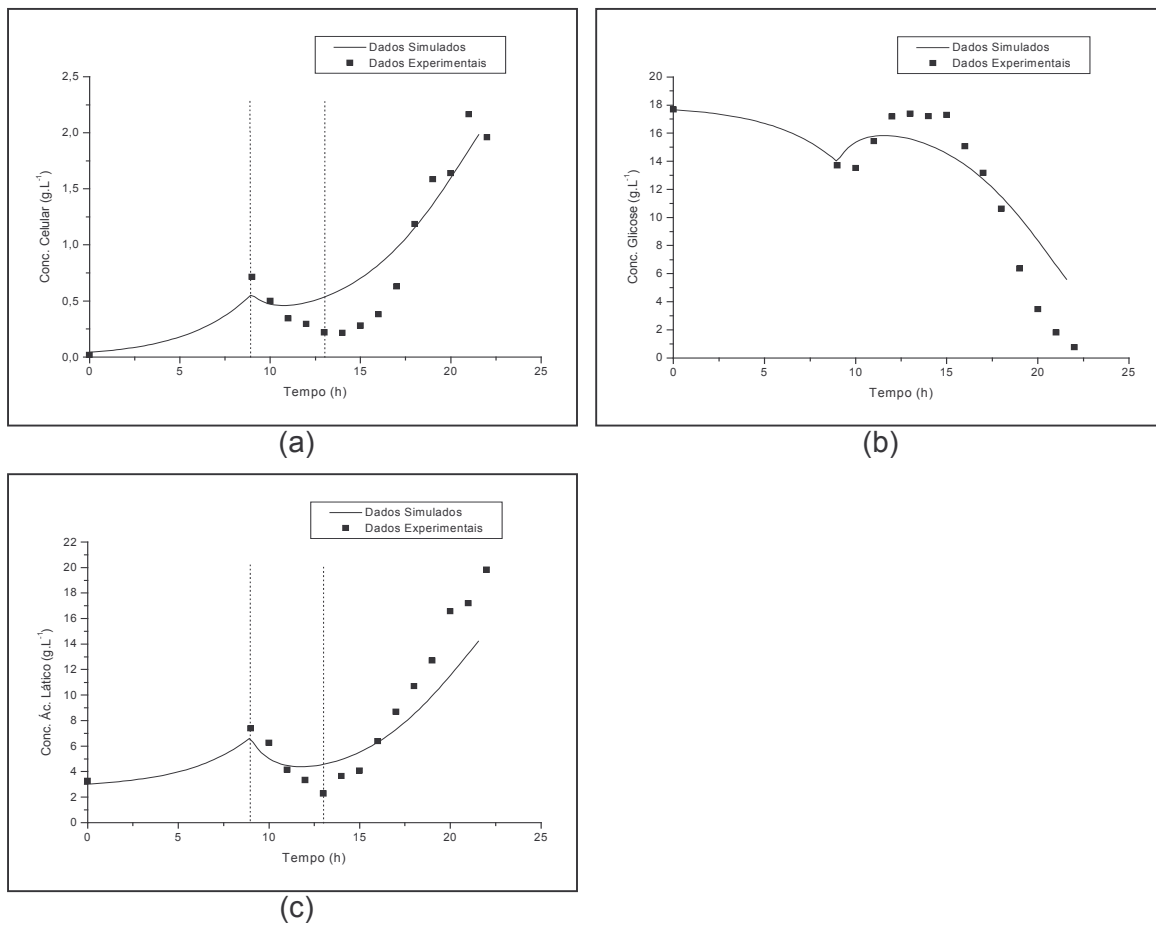


Figura 34: Modelagem cinética do processo fermentação láctica em batelada alimentada, experimento (BAL4), utilizando um modelo cinético de Monod. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,7854$, (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 < 0,5$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 = 0,8204$. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

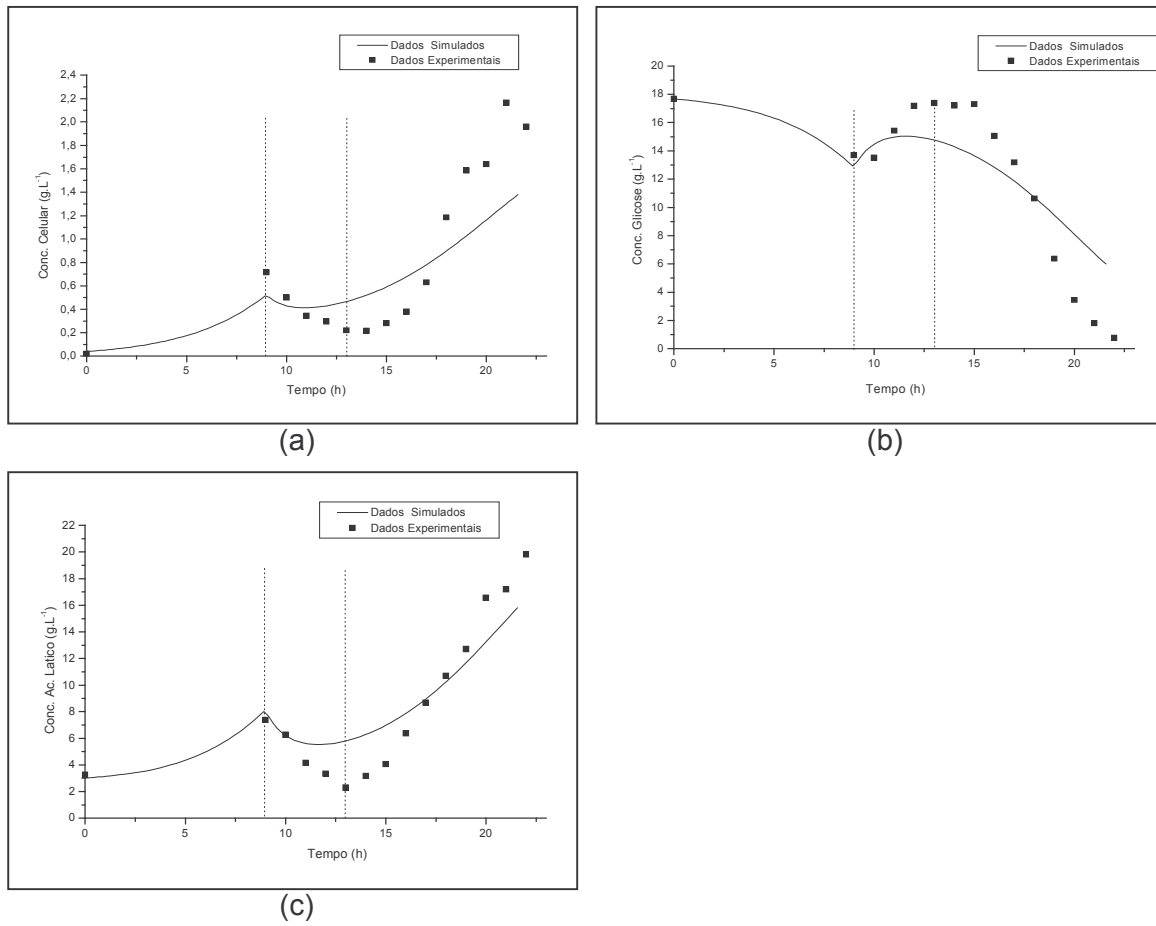


Figura 35: Modelagem cinética do processo de fermentação láctica em batelada alimentada, experimento (BAL4), utilizando um modelo cinético com termo de inibição pelo produto. (a)- Comportamento do crescimento celular, $R^2 = 0,5875$, (b)- Comportamento do consumo de substrato, $R^2 < 0,5$ e (c)- Comportamento da formação de produto, $R^2 = 0,6851$. As linhas verticais indicam início e término da alimentação.

Examinando as Figuras 28 e 29, notou-se que a modelagem cinética utilizando-se o modelo de crescimento com o termo de inibição, não possibilitou um ajuste diferente da modelagem quando se utilizou o modelo de Monod. Observa-se que as curvas de formação de produto apresentam um bom ajuste dos dados experimentais até o tempo de 13 h, sendo que após este tempo os dados calculados afastam-se muito dos dados experimentais.

Com as curvas de crescimento celular (Fig. 28a e 29a) verificou-se que o ajuste aos dados experimentais apresentou resultado satisfatório para as duas modelagens, utilizando-se o modelo de Monod, esta apresentou um coeficiente de correlação ($R^2 = 0,8262$) menor que a modelagem onde se utilizou um termo que indicava a inibição pelo produto ($R^2 = 0,8417$). Esta diferença é bastante sutil, sendo necessário realizar-se uma análise estatística entre as duas modelagens para verificar se esta diferença é significativa ou não. Analisando-se as curvas de consumo de substrato nas duas modelagens apresentadas pelas Figuras 28b e 29b, verifica-se que o ajuste ficou regular, apresentando coeficientes baixos. As curvas de formação de produto, representadas pelas Figuras 28c e 29c apresentaram um ajuste bem insatisfatório.

As Figuras 30 e 31 apresentam a modelagem cinética do ensaio BAL2 utilizando-se dois modelos cinéticos diferentes: um onde não ocorre nenhum tipo de inibição, representado pelo modelo de Monod e outro onde há a inclusão de um termo para descrever a inibição pelo produto. Analisando-se as curvas de crescimento celular, e seus coeficientes de correlação, verifica-se que não ocorreu um bom ajuste entre os dados calculados e os experimentais, havendo um ajuste satisfatório somente a partir do tempo de 19 h na modelagem cinética onde se fez uso do modelo com a inclusão do termo de inibição (Figura 31a).

As curvas que descrevem o consumo de substrato ao longo do tempo de fermentação são mostradas pelas Figuras 30b e 31b, onde se constata que os valores obtidos através da modelagem cinética utilizando o modelo de Monod ($R^2 = 0,9118$), foram melhores ajustados do que o modelo com o termo de inibição ($R^2 < 0,1$), como pode ser constatado através dos coeficientes de correlação. Já a modelagem das curvas de

formação de produto (Figuras 30c e 31c) apresentou um ajuste bem insatisfatório para os dois modelos cinéticos propostos.

As Figuras 32 e 33 apresentam a modelagem cinética do ensaio BAL3, através das quais pode-se conferir que todas as curvas tiveram um ajuste insatisfatório nos dois modelos utilizados.

Comparando-se as curvas mostradas nas Figuras 34 e 35, pode-se observar que o conjunto dos dados experimentais foi melhor representado quando se utilizou o modelo cinético de Monod, do que quando se utilizou o modelo onde havia um termo de inibição pelo produto, comparando os coeficientes de correlação. Esta diferença é bastante sutil, sendo necessário realizar-se uma análise estatística entre as duas modelagens para verificar se esta diferença é significativa ou não.

Analisando-se as fermentações lácticas em batelada alimentada de uma forma geral, pode-se verificar que os dados experimentais não tiveram um bom ajuste nem com o modelo cinético de Monod, nem com o modelo onde havia um termo que indicava inibição do crescimento celular pelo produto formado. Dentre os quatro experimentos realizados no processo de batelada alimentada, o que proporcionou os melhores resultados foi o BAL4. O ensaio BAL1 apresentou os melhores coeficientes de correlação para as curvas de crescimento celular (Figuras 28a e 29a), tanto para modelagem com Monod, como para a modelagem utilizando-se o termo de inibição pelo produto.

A modelagem matemática apresentada no item 3.4.2, desenvolvida por MOREIRA (1996) não ajustou os dados experimentais, tanto da fermentação alcoólica como da láctica. A curva simulada pelos dados calculados não apresentou o mesmo comportamento da curva representada pelos dados experimentais, desviando-se bastante de uma curva característica de um processo de batelada alimentada, o que pode ser visto nas Figuras 39 a 42 apresentadas em anexo. Foram utilizados os dois modelos cinéticos propostos, no modelo matemático, mas não se obteve sucesso com nenhum dos dois.

Segundo BARBA *et al.*(2001) como não houve uma boa concordância entre os valores experimentais e os calculados, devem-se fazer modificações no modelo matemático e outras equações devem ser consideradas a fim de obter-se uma melhor representação dos dados experimentais do processo.

Para BIROL *et al.*(1998), a modelagem matemática deve iniciar com o modelo mais simples, mas deve ser reiterado, modificado e estendido até ele conduzir a um modelo cinético do processo mais adequado.

5 – CONCLUSÕES

Os modelos cinéticos representados pelas equações de Monod e Aiba, utilizados na fermentação alcoólica de sacarose, apresentaram um melhor ajuste dos dados experimentais segundo os gráficos gerados pelo software AnaBio 1.0.

A fermentação alcoólica em batelada alimentada que indicou o ajuste mais satisfatório de seus dados experimentais foi a BAA3, utilizando a vazão de alimentação de substrato de $0,4375 \text{ L.h}^{-1}$.

Os dados experimentais da fermentação alcoólica foram melhores ajustados com a modelagem cinética, onde houve a inclusão de um termo que representou a inibição do crescimento celular pelo produto formado.

Não existiu correlação direta entre o aumento da vazão de alimentação de substrato e o melhor ajuste dos dados experimentais.

Com relação à fermentação láctica observou-se que os dois modelos propostos não representaram perfeitamente os dados experimentais, sendo que, o ensaio BAL4 foi o que mostrou o ajuste mais razoável.

A modelagem matemática desenvolvida por MOREIRA (1996) não representou bem os dados experimentais, ocorrendo um desvio do comportamento bem acentuado. Isto ocorreu tanto para a fermentação alcoólica como para a fermentação láctica.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIBA, S.; SHODA, M. e NAGATANI, M. Kinetics of product inhibition in alcohol fermentation, **Biotechnology and Bioengineering**, vol.10 n.6, p.845-864, 1968.

ALVES, J.G.L.F. **Estudo da Influência da Temperatura na Cinética de Crescimento Anaeróbio de *Saccharomyces cerevisiae***. 69p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1996.

ANDRIETTA, S. R.; FERREIRA, E. e ANDRIETTA, M.G.S. Avaliação da influência da velocidade de alimentação sobre o rendimento e produtividade dos processos de produção de etanol operando em batelada alimentada. anais do **XIV SINA Ferm**, 2003.

ASSIS, A. J.; BILCK, A. P.; CARDOSO, V. L. e RIBEIRO, E. J. Produção de dextrana-sacarase com *Leuconostoc mesenteroides* por fermentação em batelada alimentada – análise pelo método de superfície de respostas. anais do **XIV SINA Ferm**, 2003.

ATALA, D.I.P. **Fermentação com Alta Densidade Celular: Modelagem Cinética, Convalidação do Processo e Otimização do Processo**. 153p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2000.

BARBA, D.; BEOLCHINI, F.; DEL RE, G.; GIACOMO, G.D. e VEGLIO, F. Kinetic analysis of *Kluyveromyces lactis* fermentation on whey: batch and fed-batch operations. **Process Biochemistry**. v.36, p.531-536, 2001.

BIROL, G.; DORUKER, P.; KIRDAR, B.; ÖNSAN, İ. e ÜLGEN, K. Mathematical description, of ethanol fermentation by immobilised *Saccharomyces cerevisiae*. **Process Biochemistry**, v.33, n.7, p.763-771, 1998.

BLANCH, H.W. e CLARK, D.S. **Biochemical Engineering**, Marcel Dekker, Inc., New York, New York, 1996.

BORZANI, W.; LIMA, U.A. e AQUARONE, E. **Biotecnologia – Engenharia Bioquímica**, Volume 3, Ed. Edgard Blücher Ltda, São Paulo, SP, 2⁰edição, 1986.

BURGOS-RUBIO, C.N.; OKOS, M.R. e WANKAT, P.C. Kinetic study of the conversion of different substrates to lactic acid using *Lactobacillus bulgaricus*. **Biotechnology Prog.** v.16, p.305-314, 2000.

COSTA, A.C.; ALVES, T.L.M.; HENRIQUES, A.W.S.; MACIEL FILHO, R. e LIMA, E.L. An Adaptive optimal control scheme based on hybrid neural modelling. **Computers Chemical Eng**, v.22, Suppl., p. S859-S862, 1998.

CUNHA, C.C.F.; MAIOR, A.M.S. e SOUZA JÚNIOR, M.B. Simulation investigations towards the development of a bacterial biopesticide fed-batch reactor. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.15, n.1, 1998.

DORAN, P. M. **Bioprocess Engineering Principles**, Academic Press, San Diego, Califórnia, 1⁰ Ed., 2000. p.359-361

ESENER, A.A.; ROELS, J.A. e KSSSEN, N.W.F. Fed-batch culture: modelling and applications in the study of microbial energetics. **Biotechnology and Bioengineering**, v.23, p.1851-71, 1981.

GREGERSEN, L. e JORGENSEN, S.B. Supervision of fed-batch fermentations. **Chemical Engineering Journal**, v.75, p.69-76, 1999.

KELLER, R. e DUNN, I.J. Fed-batch microbial culture: models, errors and applications. **Journal Applied Chemical Biotechnology**. n.28, p.508-514, 1978.

LAWRENCE, A.J. Determination of lactic acid in cream. **The Australian Journal of Dairy Technology**. March, p.14-15, 1975.

LEE, J.; LEE, S.Y.; PARK, S. e MIDDELBERG, A.P.J. Control of fed-batch fermentations. **Biotechnology Advances**, v.17, p. 29-48, 1999.

LOUZEIRO, N.R.; MAVINICB, D.S.; OLDHAMC, W.K.; MEISEND, A. e GARDNERE, I.S. Methanol-induced biological nutrient removal kinetics in a full-scale sequencing batch reactor. **Water Research**. v.36, p.2721–2732, 2002.

MOREIRA, M.P. **Desempenho do Reator Batelada Sequencial nos Processo de Nitrificação e Desnitrificação**. 120f. Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos)– Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2001.

MOREIRA, M.P. **Estudo do Tratamento de Água Residuaria Avícola por Processo de Lodo Ativado usando Reator Batelada Sequencial**. 135p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1995.

PIRT, S.J. **Microbe and cell cultivation**. Londres. Willian Clowes & Sons, p. 217, 1975.

REGULY, J. C. **Biotecnologia dos Processos Fermentativos**, Pelotas: Editora Universitária/ UFPEL, v.3, 2000.

REHM, H.-J. e REED, G. **Biotechnology – Fundamentals of Biochemical Engineering**, Volume 2, 1985.

ROUKAS, T. e KOTZEKIDOU, P. Lactic acid production from deproteinized whey by mixed cultures of free and coimmobilized *Lactobacillus casei* and *Lactococcus lactis* cells using fedbatch culture. **Enzyme and Microbial Technology**. V.22, p.199-204, 1998.

ROY, S.; GUDI, R.D.; VENKATESH, K.V. e SHAH, S.S. Optimal control strategies for simultaneous saccharification and fermentation of starch. **Process Biochemistry**, v.36, p.713-722, 2001.

SALGADO, A. M.; FOLLY, R. O. M.; VALDMAN, B. e VALERO, F. Desenvolvimento e aplicação de sensores “on-line” para monitoração de etanol e biomassa durante fermentação alcoólica. anais do **XIV SINA Ferm**, 2003.

SALIK, F.L.M.e POVH, N.P. Método espectrofotométrico para a determinação de teores alcoólicos em misturas hidroalcoólicas. **Processamento, Engenharia Industrial e Derivados**. p. 262-266, 1993.

SCHERPERS, A.W.; THIBAUT, J. e LACROIX, C. *Lactobacillus helveticus* growth and lactic acid production during pH controlled batch cultures in whey permeate/yeast extract medium. Part II: Kinetic modeling and model validation. **Enzyme and Microbial Technology**. v.30, p.187-194, 2002.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; AQUARONE, E. e BORZANI, W. **Biotechnologia Industrial-v.2- Engenharia Bioquímica**, Editora Edgard Blucher LTDA, Brasil, 2001.

SHULER, M. L. e KARGI, F. **Bioprocess Engineering – Basic Concepts**, Prentice-Hall, New Jersey, 1992.

SILVA, R. G.; SOUZA, V. R.; NUCCI, E. R.; PINOTTI, L. M.; CRUZ, A.J. G.; GIORDANO, R. C. e GIORDANO, R. L. C. Produção de penicilina G acilase por *Bacillus megaterium* ATCC 14945 com aminoácidos livres em batelada alimentada. anais do **XIV SINA Ferm**, 2003.

SOLÀ, C.; GÒDIA, F. e CASAS, C. Batch alcoholic fermentation modelling by simultaneous integration of growth and fermentation equations. **Journal Chemical Technology Biotechnology**. v.41, p.155-165, 1988.

SOMOGYI, M. Notes on sugar determination. **The Journal of Biological Chemistry**, v.195, n.1, p.19-23, 1952.

VASCONCELOS, J.N. e VALDMAN, B. Otimização do processo de fermentação alcoólica através da batelada alimentada. **Brasil Açucareiro**, v.106, n.2, p.38-48, 1988.

VENKATESH, K.V.; ANURADHA, R. e SURESH, A.K. Simultaneous saccharification and fermentation of starch to lactic acid. **Process Biochemistry**. v.35, p.367-375, 1999.

WHITAKER, A. e STANBURY, P.F. **Principles of Fermentation Technology**, Pergamon, Oxford, 1984.

YAMANE, T. e SHIMIZU, S. Fed-batch techniques in microbial processes. **Adv Biochem Eng Biotechnol**, v.30, p.147-94, 1984.

ZARPELLON, F. e ANDRIETTA, S. R. Fermentação alcoólica para produção de álcool. **STAB, Açúcar, Álcool e Sub-produtos**, v. 10, n. 4, p. 23 – 28, 1992.

7 – ANEXOS

7.1 – FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

Tabela 12: Dados experimentais do processo de batelada com $[S]=20\text{g.L}^{-1}$ – BA20

Tempo (h)	X (g.L^{-1})	S (g.L^{-1})
0	0,305	17,797
1	0,535	17,039
2	0,835	14,208
4	1,615	7,993
5	1,845	5,152
6	1,955	1,884
7	2,260	0,102

Tabela 13: Dados experimentais do processo de batelada com $[S]=30\text{g.L}^{-1}$ – BA30

Tempo (h)	X (g.L^{-1})	S (g.L^{-1})
0	0,510	26,127
1	0,615	25,072
2	0,825	22,798
4	1,730	14,706
5	2,460	7,195
6	2,750	3,192
7	2,920	1,840
8	2,910	1,063

Tabela 14: Dados experimentais do processo de batelada com $[S]=40\text{g.L}^{-1}$ – BA40

Tempo (h)	X (g.L^{-1})	S (g.L^{-1})
0	0,320	35,442
1	0,640	33,494
2	0,940	32,181
4	1,945	22,394
5	2,500	10,159
7	3,165	1,583
8	3,255	0,224

Tabela 15: Dados experimentais do processo de batelada com $[S]=50\text{g.L}^{-1}$ – BA50

Tempo (h)	X (g.L^{-1})	S (g.L^{-1})	P (g.L^{-1})
0	0,715	48,259	0,000
2	1,310	44,005	0,102
3	1,785	40,460	0,613
4	2,345	33,291	1,125
5	2,960	27,526	2,147
6	3,595	16,526	3,170
7	4,320	9,909	10,327
8	4,515	6,428	13,395
9	4,360	2,025	14,417
10	4,175	1,026	16,462

Tabela 16: Dados experimentais do processo de batelada com $[S]=100\text{g.L}^{-1}$ – BA100

Tempo (h)	X (g.L^{-1})	S (g.L^{-1})	P (g.L^{-1})
0	0,990	98,752	0,000
1	1,080	97,315	0,102
2	1,250	96,155	0,613
3	1,695	94,497	1,636
4	2,205	93,592	3,681
5	3,030	90,518	8,282
6	3,315	85,183	12,372
7	3,810	75,778	15,440
8	4,510	55,703	24,642
10	4,915	31,288	37,935
11	5,095	23,782	41,513
12	5,305	14,666	49,182
13	5,395	6,182	56,339
14	5,630	1,060	55,828

Tabela 17: Dados experimentais do processo de batelada com $[S]=150\text{g.L}^{-1}$ – BA150

Tempo (h)	X (g.L^{-1})	S (g.L^{-1})	P (g.L^{-1})
0	1,025	149,148	0
2	1,525	-	2,147
3	-	144,803	4,192
4	2,355	137,464	7,260
5	2,685	123,498	10,327
6	3,150	114,188	13,395
7	-	104,261	16,462
8	3,785	89,597	19,530
9	4,250	84,333	31,800
10	4,340	82,829	32,822
11	4,665	77,588	35,890
12	4,680	69,080	42,025
13	4,710	58,682	46,115
14	5,060	45,724	49,182
15	5,020	45,530	55,317
16	4,780	37,317	59,407
17	5,100	34,008	60,429
18	5,280	27,037	58,384

Tabela 18: Dados experimentais do processo de batelada com $[S]=200\text{g.L}^{-1}$ – BA200

Tempo (h)	X (g.L^{-1})	S (g.L^{-1})	P (g.L^{-1})
0	0,730	182,886	0
2	1,530	176,821	0,102
4	2,465	173,788	0,613
6	3,380	182,886	11,349
7	3,670	182,473	1,1247
8	3,755	191,985	9,3047
9	3,735	167,208	21,575
10	4,825	105,456	29,755
11	5,110	155,989	27,709
12	5,130	142,152	28,732
13	5,165	134,071	37,935
14	5,045	144,559	26,687
15	4,090	116,425	41,002
16	5,020	110,008	48,159
17	4,590	83,108	57,362
18	4,080	96,643	60,429
19	3,880	75,889	62,474

Tabela 19: Dados experimentais do processo batelada alimentada – BAA1

Tempo (h)	X (g.L ⁻¹)	S (g.L ⁻¹)	P (g.L ⁻¹)
0	0,620	95,099	0
2	0,730	93,001	0,102
4	1,775	69,905	0,204
6	2,530	70,429	0,613
8	2,575	67,807	1,125
9	2,790	64,136	2,147
10	2,565	67,549	5,215
11	2,885	57,836	7,771
12	2,865	59,166	9,305
13	3,385	49,537	14,417
14	3,285	49,818	-
15	3,600	37,308	-
15,5	3,355	37,027	-
23,5	4,465	1,581	-
24,5	4,510	0,676	-

Tabela 20: Dados experimentais do processo batelada alimentada – BAA2

Tempo (h)	X (g.L ⁻¹)	S (g.L ⁻¹)	P (g.L ⁻¹)
0	0,79	95,21	-
12	3,87	34,19	-
13	3,04	43,95	-
14	2,46	56,90	-
15	2,4	53,96	-
16	2,54	51,55	-
17	2,57	50,45	-
18	2,84	47,93	-
19	3,22	38,27	-
20	3,55	37,49	-
21	3,85	28,94	-
22	3,98	24,70	-
23	3,98	20,18	-
36	4,3	0,92	-

Tabela 21: Dados experimentais do processo batelada alimentada – BAA3

Tempo (h)	X (g.L ⁻¹)	S (g.L ⁻¹)	P (g.L ⁻¹)
0	0,655	94,6118	1,125
10	4,365	19,5652	38,957
12	4,915	1,1413	50,204
13	4,06	12,8106	44,070
14	3,585	19,9379	38,957
15	3,31	23,8975	34,867
16	3,11	33,2225	34,867
17	2,905	34,2008	33,845
18	2,985	31,7072	33,231
19	2,94	30,4412	32,822
20	2,875	28,5422	34,867
21	2,975	25,1471	36,912
22	3,285	23,9386	42,025
23	3,25	18,5294	49,182
24	3,41	10,0895	53,272
25	3,5	2,13738	54,294
36	3,4	-	-

Tabela 22: Dados experimentais do processo batelada alimentada – BAA4

Tempo (h)	X (g.L ⁻¹)	S (g.L ⁻¹)	P (g.L ⁻¹)
0	0,83	95,16	0
7	5,365	38,884	32,822
9	6,125	11,484	41,002
10	4,57	28,213	31,288
11	3,845	40,873	28,732
12	3,335	60,767	23,62
13	3,085	55,161	22,597
14	2,83	53,533	22,086
15	3,255	43,224	22,086
16	3,625	41,416	25,665
17	3,855	29,299	34,867
18	4,085	21,22	36,912
20	4,695	5,3955	50,204
22	4,84	-	53,272
23	-	-	54,294

7.2 - FERMENTAÇÃO LÁTICA

Tabela 23: Dados experimentais do processo de batelada – BL1

Tempo (h)	X (g.L ⁻¹)	S (g.L ⁻¹)	P (g.L ⁻¹)
0	0,165	18,672	5,367
1,5	0,17	18,989	7,068
3	0,255	17,775	7,189
4	0,440	17,423	7,675
5	0,700	15,769	12,411
6	0,870	14,080	13,459
7	1,395	11,564	15,932
8	1,590	9,371	16,639
10	2,330	6,520	20,525
11	2,455	2,301	26,000

Tabela 24: Dados experimentais do processo batelada alimentada – BAL1

Tempo (h)	X (g.L ⁻¹)	S (g.L ⁻¹)	P (g.L ⁻¹)
0	0,180	27,157	11,269
1	0,170	27,570	-
2	0,185	26,813	11,836
3	0,215	26,950	-
4	0,215	26,469	11,917
6	0,200	25,712	11,593
7	0,105	27,019	-
8	0,130	27,122	11,030
9	0,080	28,808	12,928
10	0,085	28,189	10,018
11	0,070	27,226	9,006
12	0,125	27,157	9,386
13	0,165	25,596	9,892
14	0,290	25,189	17,482
15	0,540	22,306	26,336
16	0,705	20,478	37,755
17	1,120	17,676	44,931
18	-	16,213	51,371
19	1,365	13,167	63,514
20	1,610	12,883	67,930
21	1,685	11,949	65,170
22	1,855	10,690	66,090

Tabela 25: Dados experimentais do processo batelada alimentada – BAL2

Tempo (h)	X (g.L⁻¹)	S (g.L⁻¹)	P (g.L⁻¹)
0	0,170	24,393	7,005
7	0,255	23,480	11,513
9	0,180	26,649	7,040
10	0,165	26,380	6,304
11	0,175	25,897	9,114
12	0,150	24,447	9,052
13	0,135	24,469	10,708
14	0,210	24,351	13,882
15	0,220	24,233	24,312
17	0,67	20,305	38,859
19	1,325	14,779	56,695
20	1,570	13,974	64,791
21	1,725	12,846	72,254
22	1,910	11,020	85,915
23	2,020	9,087	87,307

Tabela 26: Dados experimentais do processo batelada alimentada – BAL3

Tempo (h)	X (g.L ⁻¹)	S (g.L ⁻¹)	P (g.L ⁻¹)
0	0,275	17,676	4,388
4	0,315	13,391	4,631
7	0,365	10,649	4,874
8	0,31	13,249	2,040
9	0,27	13,208	2,000
10	0,24	12,802	2,121
11	0,165	12,599	2,162
13	0,24	11,421	2,283
14	0,29	11,583	3,895
15	0,33	11,583	6,059
17	0,46	10,749	7,604
18	0,69	10,195	10,695
20	1,12	9,708	16,105
21	1,35	7,437	17,186
22	1,63	6,883	21,514

Tabela 27: Dados experimentais do processo batelada alimentada – BAL4

Tempo (h)	X (g.L ⁻¹)	S (g.L ⁻¹)	P (g.L ⁻¹)
0	0,020	17,677	3,254
9	0,715	13,704	7,383
10	0,500	13,514	6,250
11	0,345	15,430	4,145
12	0,295	17,180	3,335
13	0,220	17,393	2,283
14	0,215	17,204	3,659
15	0,280	17,299	4,064
16	0,380	15,052	6,368
17	0,630	13,183	8,686
18	1,185	10,622	10,695
19	1,585	6,365	12,704
20	1,640	3,454	16,568
21	2,165	1,802	17,186
22	1,960	0,765	19,814

7.3 - CURVA PADRÃO

7.3.1 – SACAROSE

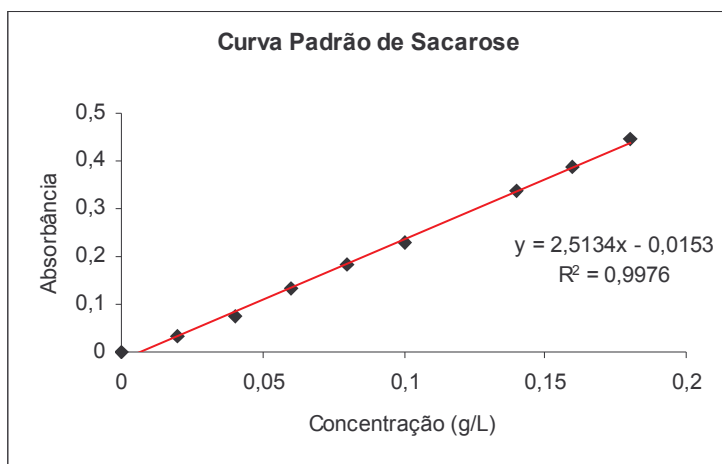


Figura 36: Curva padrão de sacarose

7.3.2 - GLICOSE

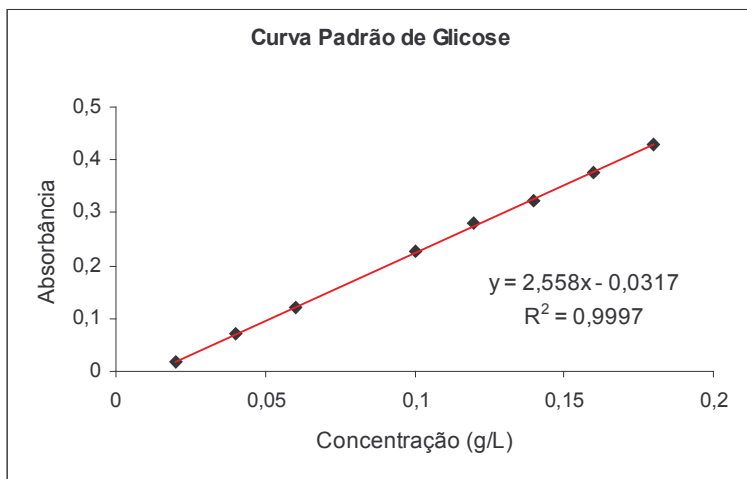


Figura 37: Curva padrão de glicose

7.3.3 - ÁCIDO LÁTICO

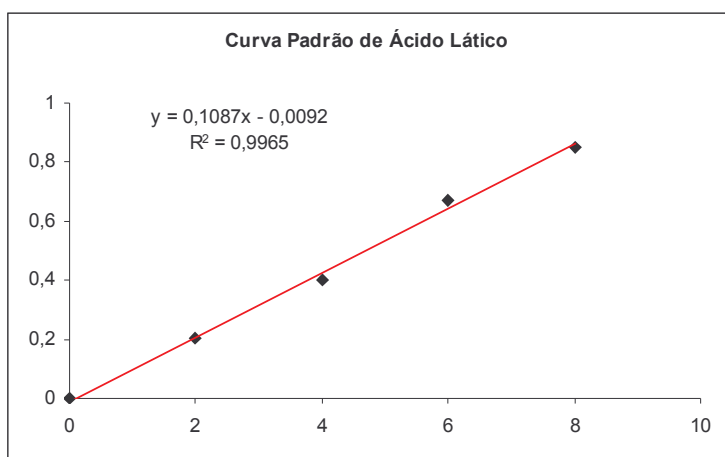


Figura 38: Curva padrão de ácido láctico

7.4 – MODELAGEM CINÉTICA

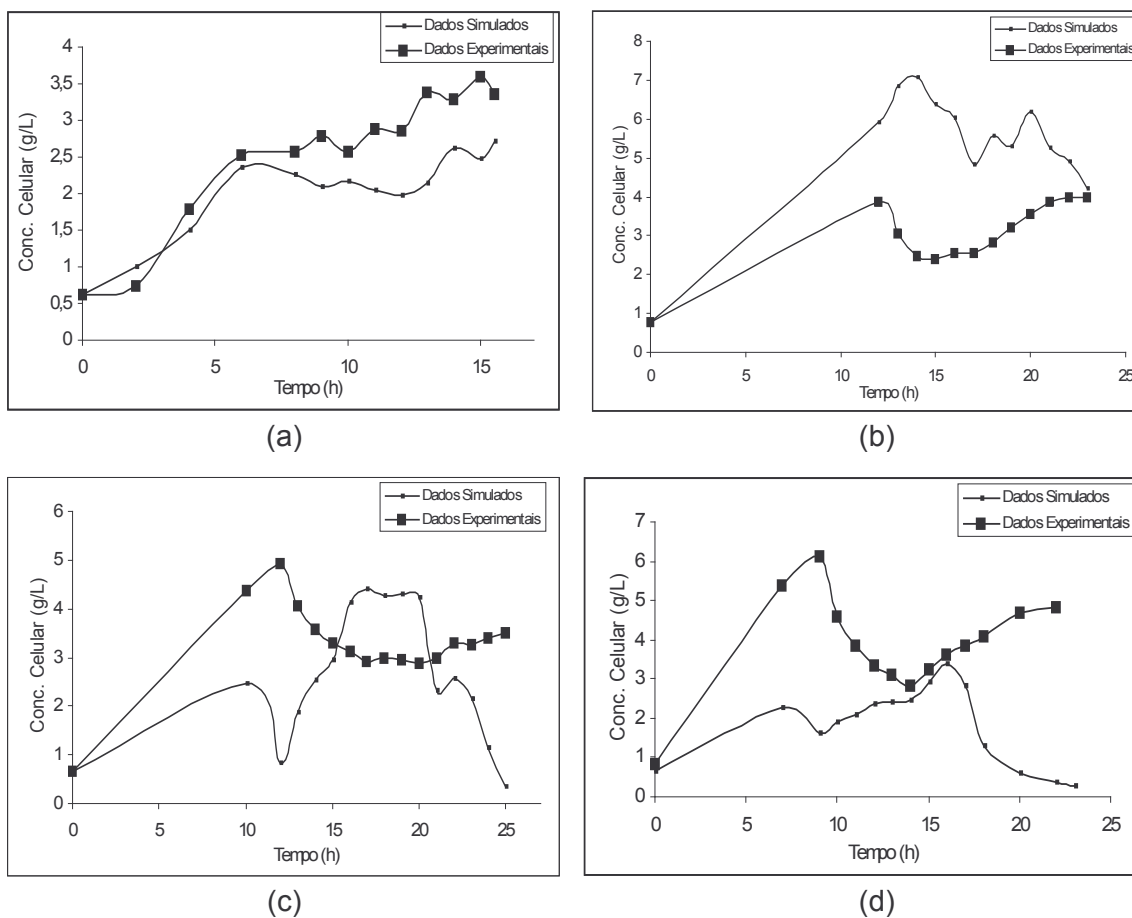


Figura 39: Modelagem cinética do crescimento celular, (a)- BAA1, (b)- BAA2, (c)- BAA3 e (d)- BAA4.

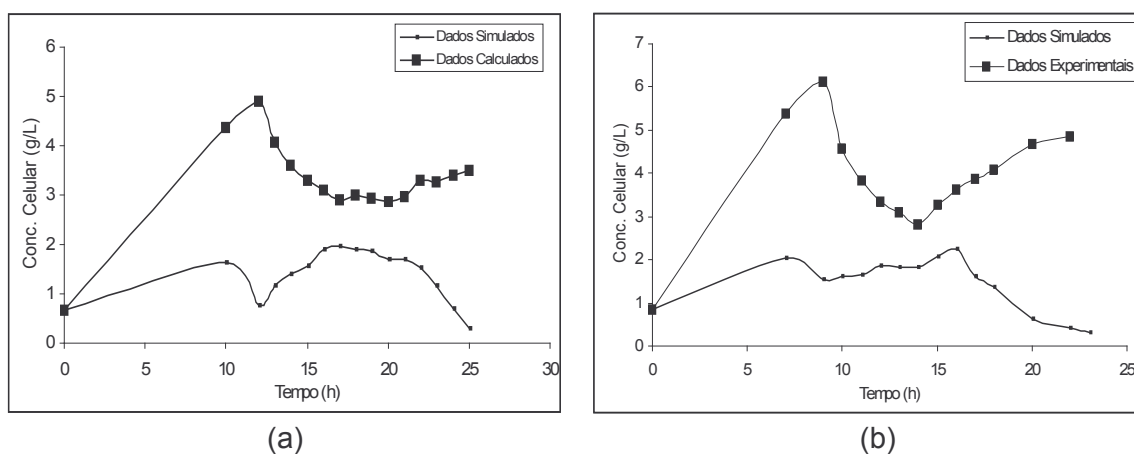


Figura 40: Modelagem cinética do crescimento celular utilizando um modelo cinético com termo de inibição. (a)- BAA3 e (b)- BAA4.

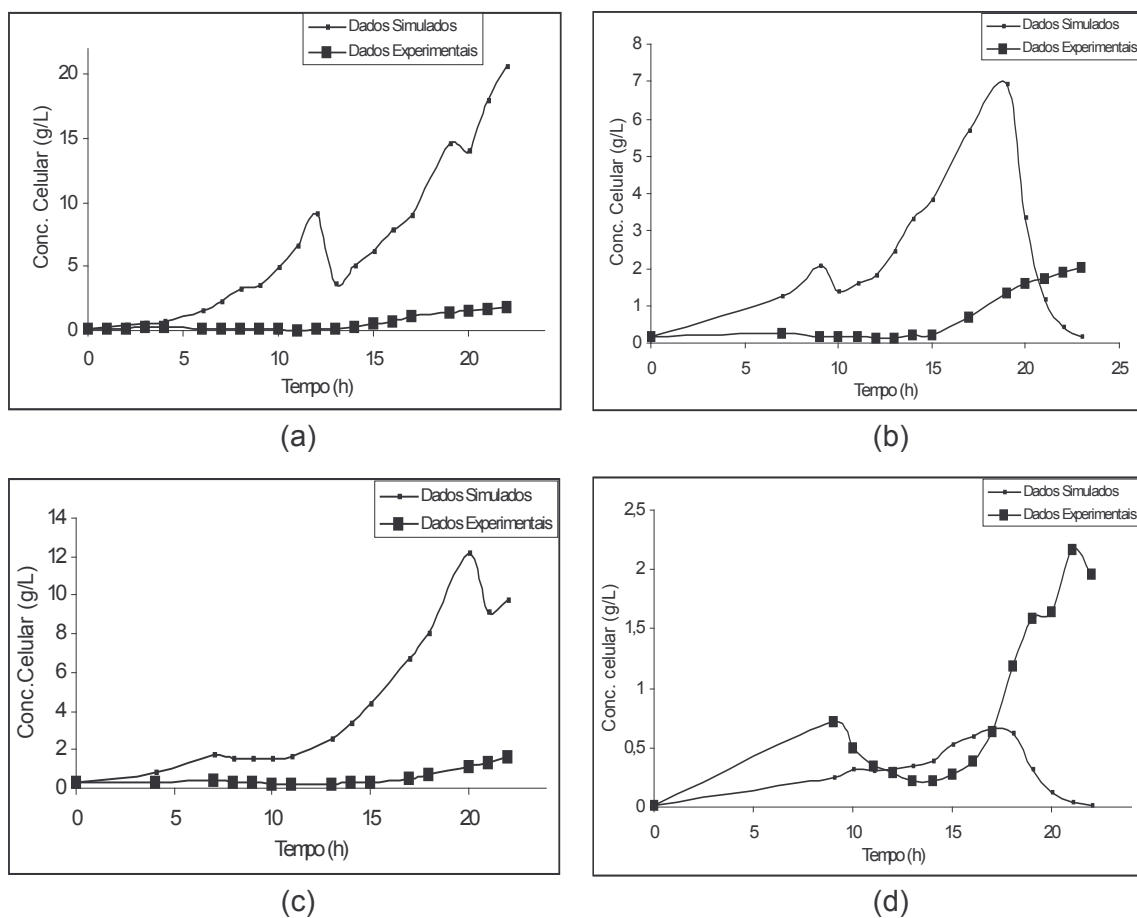


Figura 41: Modelagem cinética do crescimento celular. (a)- BAL1, (b)- BAL2, (c)- BAL3 e (d)- BAL4.

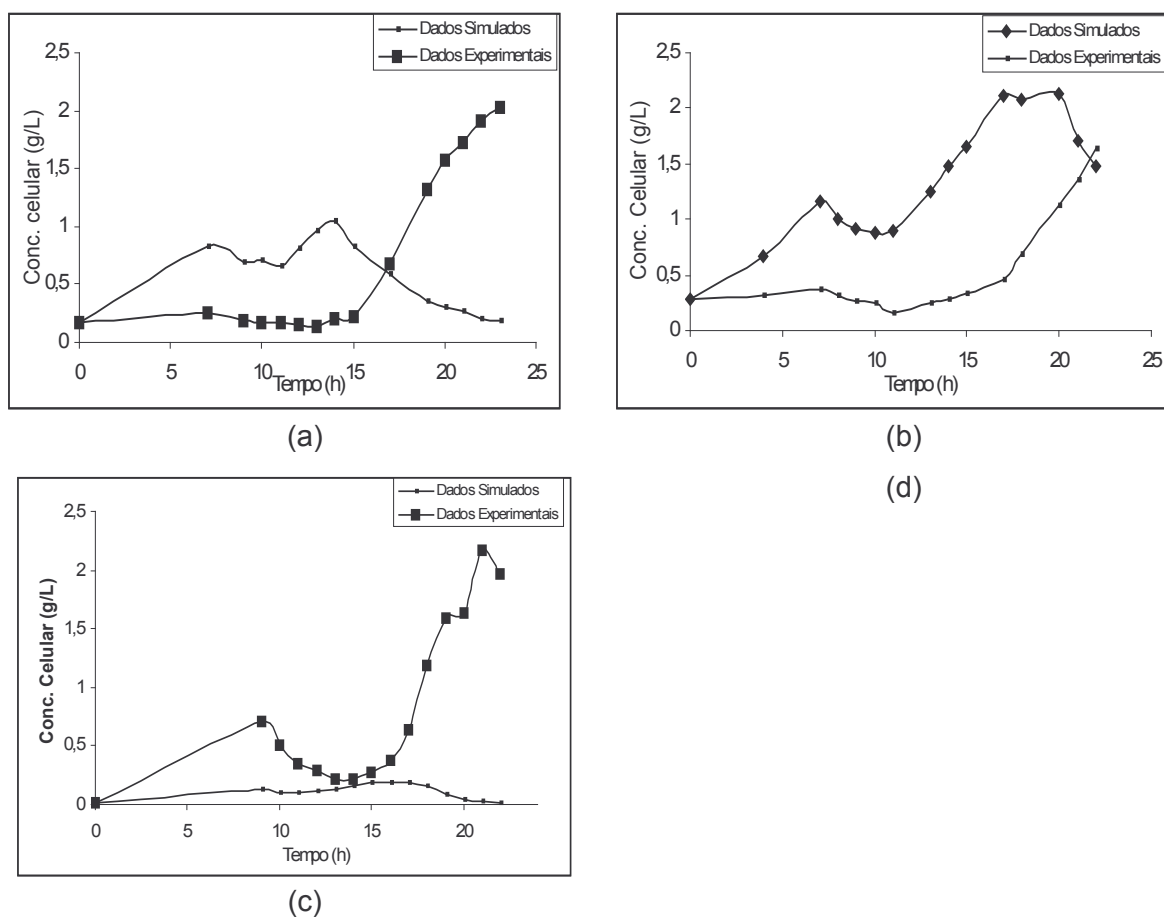


Figura 42: Modelagem cinética do crescimento celular utilizando um modelo cinético com termo de inibição. (a)- BAL2, (b)- BAL3 e (c)- BAL4.