

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

MODELAGEM, SIMULAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DE UM PROCESSO DE
FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA CONTÍNUA, COM RECICLO DE
CÉLULAS, EM REATOR CASCATA.

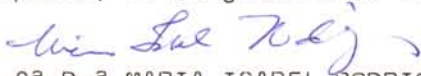
Susana Juliano Kalil

Engenheira Química, FURG, 1987

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por SUSANA JULIANO KALIL e aprovada pela Comissão Julgadora em 21.01. 1997:

Campinas, 21 de janeiro de 1997.


Prof^a.Dr^a.MARIA ISABEL RODRIGUES

Presidente da Banca

Orientadora: Profa. Dra. Maria Isabel Rodrigues

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos

CAMPINAS

1997

97404036

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA	T7 UNICAMP
	K124m
V.	Ex.
TOMBO BC	29859
PROC.	281/97
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	26/04/97
N.º CPD	

CM-00 098 035-6

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

K124m Kalil, Susana Juliano
Modelagem, simulação e otimização de um processo de
fermentação alcoólica contínua, com reciclo de células, em reator
cascata / Susana Juliano Kalil. -- Campinas, SP: [s.n], 1997.

Orientador: Maria Isabel Rodrigues
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Fermentação alcoólica. 2. Planejamento experimental.
3. Temperatura. I. Rodrigues, Maria Isabel II. Universidade
Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.
III. Título.

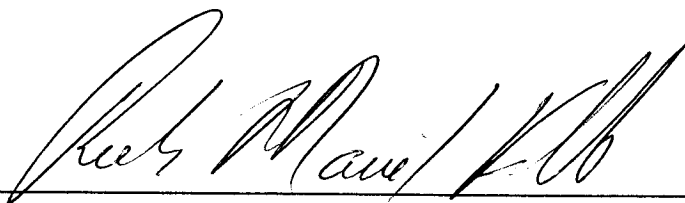
BANCA EXAMINADORA



DRA. MARIA ISABEL RODRIGUES
(ORIENTADORA)
(FEA-DEA-UNICAMP)



DR. FRANCISCO MAUGERI FILHO
(MEMBRO)
(FEA-DEA-UNICAMP)



DR. RUBENS MACIEL FILHO
(MEMBRO)
(FEQ-UNICAMP)

DR. SILVIO ROBERTO ANDRIETTA
(MEMBRO)
(CPQBA-UNICAMP)

DEDICATÓRIA

*Ao meu querido Medeiros por todo amor,
carinho e atenção em todos os momentos.*

*Aos meus pais, Michel e Maria , pelo amor,
dedicação e apoio que sempre recebi na vida.*

AGRADECIMENTOS

- À Profa. Dra. Maria Isabel Rodrigues pela orientação, amizade e dedicada atenção com a qual sempre pude contar.
- Ao Prof. Dr. Francisco Maugeri Filho pelo grande auxílio prestado durante a elaboração deste trabalho.
- À Banca Examinadora pelas sugestões e correções.
- À CAPES pelo apoio financeiro, na forma de bolsa de estudo.
- Aos amigos, especialmente Alessandra, Ediméia, Flávio, Priscila, Rose, Tatiana e Valéria pela amizade, apoio e por todos os momentos compartilhados.
- Aos amigos Ana e André que sempre me apoiaram e incentivaram.
- Ao Prof. Milton Espírito Santo, cuja ajuda permitiu a realização deste trabalho.
- Às amigas do laboratório de Bioengenharia Belzinha, Eliana, Fifa, Lia, Marise e Mirian pela amizade e disposição para ajudar.
- Ao meu irmão Paulo, à minha cunhada Rejane e às minhas primas Angélica e Tina por uma vida compartilhada juntos, com muito amor.
- À Neli, à Vera, ao Tita e à Cris por todo carinho e incentivo.
- Aos funcionários e professores do Departamento de Química da Universidade do Rio Grande por todo apoio e incentivo.
- Aos colegas, funcionários e professores da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP.

Sumário	Pág.
Nomenclatura	iii
Índice de Figuras	viii
Índice de Tabelas	x
Resumo	xii
Summary	xiii
1 - Introdução	01
2 - Revisão Bibliográfica	05
2.1 - Processos para Produção de Etanol via Fermentativa	05
2.1.1 - Processo Batelada	05
2.1.2 - Processo Contínuo	06
2.2 - Tipos de Reatores e Arranjos	10
2.3 - Cinética da Fermentação Alcoólica	11
2.3.1 - Modelos Cinéticos	11
2.3.2 - Efeito da Temperatura nos Parâmetros Cinéticos	16
2.4 - Viabilidade Celular	18
2.5 - Etanol Intracelular	21
2.6 - Fração do Volume Celular no Meio de Fermentação	24
2.7 - Efeito do Tempo de Residência na Fermentação Alcoólica	25
2.8 - “Screening Design”	25
2.9 - Método de Otimização	26
3 - Modelagem Matemática do Processo	29
3.1 - Modelo Cinético	29
3.1.1 - Equação para Velocidade Específica de Crescimento (μ)	29
3.1.2 - Equação para Determinação da Constante Cinética de Morte (K_d)	30
3.2 - Modelagem Matemática	31
4 - Resolução da Modelagem Matemática do Processo	40
4.1 - Resolução das Equações Diferenciais Ordinárias (EDO)	40

4.2 - Simulação no Estado Transiente.....	43
4.3 - Comparação dos Resultados entre o Modelo Intrínseco e o Não-Intrínseco.....	46
5 - Avaliação da Importância dos Parâmetros de Processo no Rendimento e Produtividade Usando o Método de Plackett-Burman.....	48
5.1 - Introdução.....	48
5.2 - Resultados da Avaliação das Variáveis.....	49
6 - Estudo da Otimização do Processo Através da Metodologia de Análise de Superfície de Resposta.....	56
6.1 - Introdução.....	56
6.2 - Resultados do Planejamento Fatorial Completo.....	57
6.2.1 - Rendimento.....	58
6.2.2 - Produtividade.....	73
7 - Conclusões.....	85
8 - Sugestões para Trabalhos Futuros.....	86
9- Referências Bibliográficas.....	87

Nomenclatura

a	constante empírica	h^{-1}
A_1, A_4, A_5	constante de ajuste da dependência de $\mu_{\max}$ com a temperatura	
A_2	constante de ajuste da dependência de $P_{\max}$ com a temperatura	
A_3	constante de ajuste da dependência de $K_d(T)$ com a temperatura	
A_6	constante de ajuste da dependência de K_s com a temperatura	
b	constante empírica	kg/m^3
b_0, b_i, b_{ii}, b_{ij}	coeficientes do modelo quadrático	
C	número de átomos de carbono	
df	graus de liberdade	
D	taxa de diluição	h^{-1}
d	constante empírica	
$E_1, E_2, E_3, E_4, E_5, E_6$	energia de ativação	cal/mol
f	fração de volume celular	vol.cél.um/vol.tot
F	vazão de alimentação do mosto	m^3/h
F_a	vazão de ácido	m^3/h
F_e	vazão volumétrica de entrada	m^3/h
F_r	vazão do reciclo	m^3/h
F_s	vazão volumétrica de saída	m^3/h
F_{ss}	vazão de saída (sangria)	m^3/h
F_v	vazão do vinho delevedurado	m^3/h
F_w	vazão de alimentação das dornas	m^3/h
F_1	vazão do creme de levedura antes da sangria	m^3/h
F_{11}	vazão do creme de levedura após sangria	m^3/h
g	número de variáveis independentes	
h	constante de Planck	kgm^2/h
h_{rk}	incremento da variável tempo	h
I_x	termo relativo a inibição pela concentração celular	
j	número de parâmetros do modelo	
k	constante de proporcionalidade	L.cél.um/g.cél sec

K_b	constante de Boltzmann	$\text{kgm}^2/\text{h}^2\text{K}$
$K_d(T,P)$	constante cinética de morte em função da temperatura e etanol	$1/\text{h}$
K_{dp}	constante de morte como função do produto	m^3/kg
KG_1	coeficiente de medida de inibição pelo etanol	
KG_2	coeficiente devido a inibição de fermentação da glicose pelo substrato	
KG_3	constante a partir de dados experimentais	
K_i	constante de inibição pelo substrato	kg/m^3
K_s	constante de afinidade ao substrato	kg/m^3
K_1	constante do termo de inibição	$\text{m}^3/\text{kg.h}$
K_2	constante do termo de inibição	m^3/kg
K_3	constante do termo de inibição	kg/m^3
L	indica que coeficiente é do termo linear	
m	índice de potência	
MQ_r	média quadrática do resíduo	
MQ_R	mádia quadrática da regressão	
MS	média quadrática	
n	índice de potência	
N_0	número de colônias no tempo zero	
N_t	Células vivas no tempo t	
N_{t0}	numero total de células no tempo t	
N_t	número de colônias no tempo t	
p	número de parâmetros do modelo	
P	concentração de produto	kg/m^3
P_e	concentração de produto na entrada	kg/m^3
P_i	concentração de produto nas dornas	kg/m^3
P_m	concentração de produto no mosto	kg/m^3
$P_{\max}$	concentração de etanol onde o crescimento celular cessa	kg/m^3
P_r	concentração de produto no reciclo	kg/m^3
P_s	concentração de produto na saída	kg/m^3
P_w	concentração de produto na alimentação	kg/m^3
Q	indica que coeficiente é do termo quadrático	
R	constante dos gases	$\text{kcal}/\text{k-mol K}$

r	razão de reciclo	
rd	taxa de mortalidade celular	kg/m ³ .h
rp	taxa de produção de etanol	kg/m ³ .h
rs	taxa de consumo de substrato	kg/m ³ .h
rx	taxa de crescimento	kg/m ³ .h
s	número de observações (ensaios)	
S	concentração de substrato	kg/m ³
S _e	concentração de substrato na entrada	kg/m ³
S _{FE}	erro padrão	
S _i	concentração de substrato nas dornas	kg/m ³
S _m	concentração de substrato no mosto	kg/m ³
S _{max}	concentração máxima de substrato onde o crescimento celular cessa	kg/m ³
S _{min}	concentração de substrato a partir da qual ocorre inibição	kg/m ³
SQ	soma quadrática	
SQ _r	soma quadrática devido ao resíduo	
SQ _R	soma quadrática devido a regressão	
SQ _T	soma quadrática total	
S _r	concentração de substrato no reciclo	kg/m ³
S _s	concentração de substrato na saída	kg/m ³
S _w	concentração de substrato na alimentação	kg/m ³
t	tempo	h
T	temperatura	K
T _i	temperatura da dorna	K
tr	tempo de residência	h
tr _i	tempo de residência na dorna	h
u	número de variáveis inertes	
V	volume	m ³
V _i	volume da dorna	m ³
VI	variável inerte	
X	concentração de células	kg/m ³
X _d	concentração de células mortas	kg/m ³
X _{de}	concentração de células mortas na entrada	kg/m ³

X_{di}	concentração de células mortas nas dornas	kg/m^3
X_{ds}	concentração de células mortas na saída	kg/m^3
X_e	concentração de células na entrada	kg/m^3
x_i	valor da variável no tempo t_i	
X_i	concentração de célula na dorna	kg/m^3
X_l	concentração de células no creme de leveduras	kg/m^3
X_m	concentração de células no mosto	kg/m^3
$X_{\max}$	concentração máxima de células	kg/m^3
X_r, X_R	concentração de células no reciclo	kg/m^3
X_t	concentração de células totais	kg/m^3
X_{t0}	concentração de células totais no tempo zero	kg/m^3
X_{ts}	concentração de células totais na saída	kg/m^3
X_v	concentração de células no vinho delevedurado	kg/m^3
X_{vv}	concentração de células viáveis	kg/m^3
X_{ve}	concentração de células viáveis nas entrada	kg/m^3
X_{vi}	concentração de células viáveis nas dornas	kg/m^3
X_{vs}	concentração de células viáveis na saída	kg/m^3
X_w	concentração de células na alimentação	kg/m^3
Z	resposta do modelo	
z_i	valor da variável no tempo t_i	
y, Y	fração de mosto alimentado ao segundo reator	
y_i, y_j	variáveis do modelo	
$Y_{p/s}$	rendimento global de substrato em produto	
$Y_{x/s}$	rendimento global de substrato em célula	

Letras Gregas

α	distância da variável ao ponto central	
β	índice de potência	
δ	nível de significância	
γ	relação entre a concentração de etanol intra e extra celular	
μ	velocidade específica de crescimento do microrganismo	h^{-1}
μ_i	velocidade específica de crescimento do microrganismo	h^{-1}

$\mu_{\max}$	velocidade específica máxima de crescimento do microrganismo	h^{-1}
$\mu_{\max,i}$	velocidade específica máxima de crescimento na presença de etanol	h^{-1}
ρ	massa de células secas por vol. de cél. úmido	
τ_c	tempo de residência celular	h
τ	tempo de residência	h
ΔH^*	entalpia de ativação de morte térmica	kcal/k-mol
ΔR	variação na resposta	
ΔS^*	entropia de ativação de morte térmica	kcal/k-mol K
ΔV	perturbação na variável de entrada	

Índice de Figuras

	Pág.
2.1 Fluxograma do Processo Contínuo com Reciclo de Células	9
2.2 Curva de volume total de reatores em função do número de reatores de mistura perfeita ligados em série	11
4.1 Fluxograma do Programa para Simulações do Estado Dinâmico	42
4.2 Comportamento dinâmico de X_{wv} , X_d , S e P para a dorna 1	44
4.3 Comportamento dinâmico de X_{wv} , X_d , S e P para a dorna 2	44
4.4 Comportamento dinâmico de X_{wv} , X_d , S e P para a dorna 3	45
4.5 Comportamento dinâmico de X_{wv} , X_d , S e P para a dorna 4	45
5.1 Efeitos da variáveis sobre o rendimento e a produtividade	53
6.1 Valores observados versus previstos	64
6.2 Superfícies de resposta do rendimento em função de a) T_2 e T_3 , b) T_2 e T_4 , c) T_2 e Y, d) T_2 e XR	67
6.2 Superfícies de resposta do rendimento em função de e) T_3 e T_4 , f) T_3 e Y, g) T_3 e XR, h) T_4 e Y.	69
6.2 Superfícies de resposta do rendimento em função de i) T_4 e XR e j) Y e XR	70
6.3 Superfícies de resposta da produtividade e do rendimento em função de a) e b) tr_2 e tr_1 , c) e d) tr_3 e tr_1	80
6.3 Superfícies de resposta da produtividade e do rendimento em função de e) e f) tr_4 e tr_1 e g) e h) Y e tr_1	71
6.3 Superfícies de resposta da produtividade e do rendimento em função de I) e j) tr_3 e tr_2 e k) e l) tr_4 e tr_2	82

6.3	Superfícies de resposta da produtividade e do rendimento em função de m) e n) Y e tr_2 e o) e p) tr_4 e tr_3	83
6.3	Superfícies de resposta da produtividade e do rendimento em função de q) e r) Y e tr_3 e s) e t) Y e tr_4	84

Índice de Tabelas

	Pág.
2.1 Comparativo de produtividade para diferentes processos de produção de etanol	7
2.2 Custo de produção para diferentes processos de produção de etanol	8
3.1 Parâmetros utilizados no modelo do processo	39
4.1 Valores iniciais utilizados no programa em pascal ($t=0$)	41
4.2 Resultados de substrato e produto das 4 dornas para o modelo intrínseco e o não-intrínseco	46
5.1 Faixa de valores para o tempo de residência (horas), a temperatura ($^{\circ}\text{C}$), a razão de alimentação ao segundo reator e a concentração de células do reciclo (g/l)	49
5.2 Planejamento experimental baseado no Plackett-Burman de 20 ensaios com as respostas rendimento e produtividade	50
5.3 Estimativa dos efeitos sobre o rendimento	51
5.4 Estimativa dos efeitos sobre a produtividade	52
6.1 Faixa de valores para a temperatura ($^{\circ}\text{C}$), Y e XR (g/l) usados para o rendimento	58
6.2 Faixa de valores para os tempos de residência (h) e Y usados para a produtividade	58
6.3 Ensaios utilizados no planejamento fatorial completo	59
6.4 Estimativa dos efeitos no rendimento	60
6.5 Coeficientes de regressão para o modelo quadrático	62

6.6	Tabela ANOVA para o Rendimento	64
6.7	Valores de produtividade do planejamento fatorial completo	73
6.8	Estimativa dos efeitos principais e de interação sobre a produtividade	74
6.9	Coefficientes de regressão do modelo quadrático	75
6.10	Tabela ANOVA para a produtividade	76
6.11	Lista de figuras das superfícies de resposta para otimização da produtividade	77

Resumo

A maioria dos trabalhos publicados sobre fermentação alcoólica por *Saccharomyces cerevisiae* apresenta parâmetros cinéticos determinados em condições muito diferentes daquelas praticadas pelas usinas nacionais. Além disso, muitos processos foram estudados em condições isotérmicas não permitindo verificar-se a influência da temperatura no rendimento e na produtividade do processo.

Neste trabalho, o objetivo principal foi otimizar as condições operacionais de um processo de fermentação alcoólica usando a metodologia do planejamento fatorial e análise de superfície de resposta, de modo a maximizar o rendimento e a produtividade. Os parâmetros estudados foram: o perfil de temperatura, o tempo de residência, a concentração de células do reciclo e a distribuição de alimentação de mosto entre a primeira e a segunda dorna de fermentação em um sistema constituído por quatro reatores CSTRs ideais, em série, com reciclo de células.

Através de simulações por computador, com resolução numérica por Runge-Kutta de quarta ordem das equações diferenciais ordinárias, foram obtidas as respostas de rendimento e produtividade do processo. Os parâmetros cinéticos utilizados na modelagem matemática foram obtidos de literatura, a partir de trabalhos cujas condições experimentais utilizadas foram as mais próximas possíveis da realidade nacional (substrato a partir de cana-de-açúcar, microrganismo isolado de usina e faixa de temperatura dentro das condições climáticas do país).

Primeiramente, aplicou-se a metodologia de PLACKETT-BURMAN (1946) para as dez variáveis de processo estudadas, e destas selecionou-se somente 5 parâmetros considerados importantes para cada resposta de modo a serem usados na otimização do rendimento e da produtividade.

Após definidas as variáveis importantes para cada resposta, utilizou-se a metodologia do planejamento fatorial e análise de superfície de resposta e verificou-se que com a temperatura da dorna 1 em 34°C, a dorna 2 a 32°C, as dornas 3 e 4 a 30°C, os tempos de residência nas quatro dornas de 1,25h, uma distribuição de alimentação de mosto 1:1 entre a primeira e a segunda dorna e uma concentração de células no reciclo de 90 kg/m³, atinge-se um rendimento de 86,28% (99,1% de conversão) e uma produtividade de 12 g/l.h, o que corresponde a um ganho de 48,16% em relação ao processo não otimizado.

Summary

The culture conditions used in most of the works published on alcoholic fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* showed to be different from those used in brazilian destilleries. Besides this, many works were carried out on isothermic conditions so that the temperature effect on yield and productivity couldn't have been verified.

In this work the main objective was to optimize the operational conditions of a typical large scale alcohol brasilian plant, using the factorial design and surface analyses technique in order to maximize yield and productivity. The parameters studied were: the temperature profile, residence time, cell recycle concentration and medium feed distribution between first and second stage. The fermentation system consisted of four CSTR's linked in serie, with cell recycle.

Through of computer simulation, using the 4th order Runge-Kutta method, the values of yield and productivity were obtained. The kinetic parameters used in the mathematical modeling were obtained from the literature and relating to the specific brazilian fermentation conditions (sugar-cane molasses as substrate, microorganism isolated from industrial plant and the range of temperature).

At first, the PLACKETT-BURMAN (1946) screening methodology was performed with ten parameters leading, to the selection of 5 parameters as the most important to optimize the yield and productivity.

Further, using the surface response method, the optimal operational conditions was verified as following: the temperature of 34°C for the first stage, at second stage 32°C, at stages 3 and 4, 30°C; the residence time was the same in all stages and igual to 1.25 h; the distribution ratio between the first and second stage was 1:1 and the cell recycle concentration was 90 kg/m³. The process yield and productivity using these parameters values were respectively 86.28% and 12 g/l.h, which means a gain of 48.16% in productivity, compared to a non optimized process with similar yield .

1 Introdução

Com a implantação do Proálcool, Programa Nacional de Álcool, em 1975, o Brasil tornou-se o primeiro país do mundo a desenvolver um programa alternativo em larga escala, em substituição à gasolina. A iniciativa ocorreu devido a crise do petróleo no início da década de 70, sendo a utilização do etanol como combustível carburante uma alternativa para países carentes em reservas deste óleo e com grandes extensões territoriais. A idéia do governo era diminuir a vulnerabilidade do país às instabilidades do Oriente Médio, fazer economia de divisas, reduzir a disparidade de renda, promover um crescimento da renda interna e expandir a produção de bens de capital.

Além das razões pelo qual o programa foi criado, existem vários fatores importantes no uso do álcool, conforme salientado por SIQUEIRA (1993). Destacam-se os seguintes:

- Trata-se de energia renovável e combustível menos poluente;
- Utiliza tecnologia cem por cento nacional;
- Emprega mão-de-obra direta, com fixação do homem no meio rural;
- É um programa de conteúdo estratégico pelo seu caráter nacionalístico e pela sua dispersão territorial.

O mesmo autor ressalta que o Proálcool atingiu sua plenitude, em termos de volume de produção, em 1987, com produções estáveis em torno de 12 bilhões de litros de álcool por safra. Atualmente o álcool carburante, nas suas espécies anidro e hidratado, participa com aproximadamente 12% do consumo de derivados do petróleo.

Apesar de todas as evidências favoráveis a utilização de etanol, o programa enfrenta problemas, necessitando de medidas para implementá-lo, com uma política de preços justa, uma redefinição pelo governo da matriz energética e da política vigente de combustíveis do País.

No Brasil o processo inicial de produção de etanol foi o descontínuo, batelada simples, porém, segundo ZARPELLON & ANDRIETTA (1992), quando o Programa Nacional do Álcool foi estabelecido, todas as novas destilarias de álcool foram montadas baseadas no processo Melle-Boinot (batelada - alimentada). Este processo apesar de antigo é muito conveniente e satisfatório

quanto a operação e eficiência de conversão de açúcares a álcool. No entanto, com a finalidade de reduzir custos de produção e aumentar a produtividade, a fermentação alcoólica contínua mostrava-se um processo bastante atrativo. O setor passou então a investir em pesquisas visando introduzir este tipo de processo.

Segundo ANDRIETTA & STUPIELLO (1990), a partir da metade da década de 80, os processos de fermentação alcoólica contínua passaram a ser utilizados em unidades industriais. Na safra de 1989, aproximadamente 30% do etanol foi produzido por processos contínuos ou semi-contínuos.

Conforme citado por ZARPELON & ANDRIETTA (1992), instalações experimentais operadas no passado levaram a acreditar que uma fermentação contínua não chegaria a ser tão eficiente quanto o sistema batelada, especialmente devido aos problemas relacionados com infecções, depósitos de sólidos no fundo das dornas (que, em essência, é um bom ambiente para o crescimento de bactérias), baixo teor alcoólico do vinho e ainda devido a eventuais paradas durante a safra. Existiam ainda outros problemas como:

- erupções de vinho pela grande liberação de CO₂ em curto espaço de tempo;
- baixa eficiência de reciclo de leveduras devida à floculação e a falta de homogeneidade.

Segundo FINGUERUT *et alii* (1992), a menor flexibilidade da fermentação contínua com relação ao processo convencional era em virtude da precariedade das modificações feitas, já que a grande maioria das instalações desta época eram adaptações de baixo custo feitas em processos por bateladas pré-existentes.

O mesmo autor apresenta o processo, desenvolvido pelo Centro de Tecnologia Copersucar, com avanços tecnológicos que o tornou mais confiável sem tantos problemas operacionais e com aumento de produtividade com relação ao Melle-Boinot. Este processo manteve a concepção de múltiplos estágios, em vista de suas vantagens cinéticas e de facilidade operacional. Algumas das características da nova tecnologia são: ser composta por três ou quatro dornas em série, fechadas e instrumentadas; a primeira dorna de maior volume que as subsequentes, que são iguais; fluxo de vinho descendente e de gás (mais espuma) pelo topo até a torre de lavagem que, em geral, situa-se no topo da dorna volante; fundo cônico acentuado e saída pelo fundo; resfriamento realizado por baterias de trocadores externos, que podem se conectar da primeira à penúltima dorna, com simples manobras de válvulas; fornecimento

contínuo de ar no tratamento de fermento e na primeira dorna e intermitente nas outras dornas. Além de modificações de projeto é importante desenvolver estratégias de operação, como por exemplo manter alta eficiência de rejeição de bactérias e de reciclo de leveduras, controlar a “idade” da população através da “sangria” da levedura produzida, para se obter uma boa performance.

Vários estudos tem sido desenvolvidos na tentativa de aumentar o rendimento e a produtividade do processo contínuo. Atualmente através de modelagem do processo, a otimização prévia pode ser realizada, permitindo diminuir o número de experimentos em laboratório e principalmente em plantas pilotos.

Um trabalho desenvolvido nesta linha foi o de ANDRIETTA & MAUGERI (1994). Através de simulações no computador obtiveram o melhor “design” para uma planta de fermentação alcoólica, nas condições operacionais nacionais. O resultado foi uma série de quatro reatores CSTRs. O volume de cada reator não foi necessariamente o mesmo, e sim obtido um perfil ótimo para atingir-se a maior produtividade. Já no caso da temperatura, esta foi mantida constante e a mesma para os quatro reatores. É importante ressaltar que a partir deste estudo, uma planta a nível industrial (Usina Guarani), foi colocada em operação, há 4 anos, com sucesso. No caso, 24 reatores batelada foram substituídos pelos 4 reatores em série, mantendo a mesma produção diária de etanol e facilitando grandemente as condições operacionais.

O presente trabalho tem como objetivo otimizar o rendimento e a produtividade do processo citado acima. Sabe-se que ambos caminham de maneira inversa, porém em condições otimizadas é possível ter um elevado ganho em produtividade, evitando prejuízos no rendimento. Portanto é necessário obter através de uma metodologia sistemática de otimização as melhores condições de tempo de residência e temperatura das quatro dornas, concentração de reciclo de células e distribuição da alimentação do mosto entre a primeira e a segunda dorna de fermentação. A finalidade porém, não é somente determinar as faixas ótimas e sim explorar devidamente o processo de modo que, ao ocorrer alguma mudança nos parâmetros de trabalho seja possível prever os resultados em termos de rendimento e produtividade.

Os parâmetros cinéticos utilizados no trabalho foram obtidos no laboratório de Engenharia Bioquímica da FEA-UNICAMP, e foram estudados em condições bem mais adequadas a realidade nacional que os da literatura internacional. Ou seja, o substrato utilizado foi a partir de

cana-de-açúcar, o microrganismo foi isolado de usina e a faixa de temperatura estudada está adequada as condições climáticas do país.

Assim, este trabalho pode ser dividido em 4 etapas distintas:

- modelagem do processo utilizando modelo intrínseco, cujo balanço de massa leva em conta a fração de volume celular, parâmetros cinéticos determinados experimentalmente e considerando também a viabilidade celular. (capítulo 3)

- desenvolvimento de um programa para a resolução das Equações Diferenciais Ordinárias do modelo do processo para obtenção do rendimento e produtividade através de simulação dinâmica. (capítulo 4)

- verificação dentre as 10 variáveis do processo (temperatura e tempo de residência das quatro dornas, concentração de reciclo de células e distribuição da alimentação do mosto entre a primeira e a segunda dorna de fermentação) as mais importantes nas respostas de rendimento e produtividade, usando a metodologia de “screening design” desenvolvido por PLACKETT-BURMAN (1946) (capítulo 5)

- otimizar o rendimento e a produtividade definindo-se as faixas ótimas de operação das variáveis relevantes para cada resposta usando-se o planejamento fatorial completo e análise de superfície de resposta (capítulo 6)

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Processos para Produção de Etanol Via Fermentativa

Em geral a obtenção de etanol via fermentação alcoólica se dá através de três tipos de processos: batelada, batelada alimentada (Melle-Boinot) e contínuo.

2.1.1 Processo Batelada

Conforme MAIORELLA *et alii* (1981) o processo batelada é lento. O reator tem que ser limpo e preparado, o mosto carregado ao sistema, bem como a cultura de leveduras e a fermentação é lenta. No processo citado pelos autores, o álcool foi obtido da fermentação de açúcares resultantes da hidrólise de grãos. A fermentação foi de 24 horas, com 94% de açúcar utilizado e um conteúdo de 46g/l de etanol ao final.

Segundo CARIOCA *et alii* (1985) os processos em batelada utilizam, em geral, mostos contendo 150g/l de açúcar e necessitam de um tempo de fermentação entre 30 e 40 horas, apresentando um rendimento na ordem de 94%.

Este tipo de processo apresenta baixa produtividade, na faixa de 1,8 a 2,5 g etanol/l.h., conforme é apresentado na tabela 2.1 (BAILEY & OLLIS, 1986). Outra característica é que as células de levedura são reutilizadas na batelada seguinte.

Uma variante do processo batelada é o sistema batelada alimentada (Melle-Boinot). Neste processo tem-se um valor limite de substrato, que não deve ser ultrapassado. Portanto, a alimentação do substrato ao mosto é feita parceladamente, de forma intermitente ou contínua. As leveduras, como no sistema anterior, também são reutilizadas.

Segundo ANDRIETTA & STUPIELLO (1990), este sistema continua sendo uma boa alternativa para unidades industriais, principalmente aquelas com baixo controle operacional. Os autores, através de modelagem matemática, obtiveram os perfis de concentração de açúcar, etanol e células em função do tempo para diversas velocidades de enchimento de dornas, estudaram a influência da velocidade de enchimento, da concentração de etanol no fermento e da concentração

de células na produtividade, e a variação da taxa específica de crescimento com respeito a velocidade de enchimento.

2.1.2 Processo Contínuo

No Brasil o interesse pela fermentação contínua foi retomado nos últimos quinze anos, pois com novos processos tecnológicos, vinhos com alto teor alcoólico são produzidos com fermentações de alta eficiência.

As principais vantagens do processo contínuo em relação aos anteriores são:

- Maior produtividade;
- Maior homogeneidade do produto;
- Menor custo operacional;
- Maior adaptabilidade ao controle automático.

No processo contínuo, como o nome diz, há retirada contínua do produto do(s) tanque(s) de fermentação. O efluente é submetido a algum sistema de separação de biomassa, geralmente através de centrífugas, o qual retorna ao(s) fermentador(es) após um tratamento ácido para diminuir a contaminação por bactérias. Em alguns casos, o mosto fermentado já é extraído do reator isento de células (fermentação a vácuo ou com uso de células floculantes ou células imobilizadas).

MAUGERI (1995) salienta que uma característica comum a processos contínuos é a operação à alta densidade celular no fermentador, requisito indispensável para alta produtividade em etanol (20-80 g/l.h).

Os principais processos de fermentação contínua podem ser divididos em dois grupos:

- fermentação em dorna única, de mistura completa;
- fermentação com reatores conectados em série, denominada “cascata”.

Conforme apresentado por ZARPELON & ANDRIETTA (1992), existem três processos de fermentação em dorna única que foram testados no Brasil: Biostil, Hoechst-Uhde e Fercen. Os dois primeiros foram abandonados e o terceiro está sendo utilizado por algumas destilarias autônomas onde o único substrato é o caldo de cana.

Existem, no mínimo, cinco processos de fermentação em cascata operando com sucesso no Brasil: da Usina Vale do Rosário, Copersucar, Codistil, Usina Guarani e BIOES. Todos eles são similares, sendo suas principais diferenças, as estratégias de se evitar o acúmulo de sólidos no fundo das dornas e o número de estágios que utilizam. Também é comum o fato de trabalharem com reciclagem das leveduras para obterem alta velocidade de fermentação e alto teor alcoólico (10°GL).

A fermentação em cascata é mais estável que a de dorna única, uma vez que somente nos últimos estágios os efeitos da inibição pelos produtos são relevantes. Por esta razão a produtividade é maior, como pode ser verificado na tabela 2.1.

Tabela 2.1: Comparativo de produtividade para diferentes processos de produção de etanol

Processo	Produtividade (g etanol/l h)
Fermentação Batelada	1,8-2,5
CSTR Simples	6
CSTR em Série	2-3 vezes CSTR simples
CSTR c/ Reciclo de Células	30-40
Fermentação a Vácuo	80

Fonte: BAILEY & OLLIS (1986)

A tabela 2.1 torna clara a diferença de produtividade entre o processo descontínuo (batelada) e os contínuos. Os processos contínuos, sem exceção, apresentam valores de produtividade bem superiores frente ao batelada, na ordem de 2,5 a 32 vezes. Verifica-se ainda, que investimentos, visando otimizar o processo contínuo, conduziram a uma elevação de 6 para 30-40 g etanol/l.h.

Para efeito comparativo, são apresentados na tabela 2.2 dados referentes ao custo de produção de etanol, (capacidade da planta de 295 m³/dia, com etanol 95%, a partir de solução 50% de melaço de cana), obtido por diferentes processos.

Tabela 2.2: Custo de produção para diferentes processos de produção de etanol

Custo de Produção de Diferentes Processos para Produção de etanol	Custo de Produção \$/m ³			
	Batelada	Contínuo	Cont. c/ Rec.	A Vácuo
Custo de investimento	27.21	12.94	10.57	9.25
Trabalho de operação	8.45	2.38	1.32	1.06
Supervisão e administ.	0.53	0.26	0.26	0.26
Utilidades				
Água	1.58	1.58	1.58	1.06
Força	3.17	1.58	2.38	1.58
Vapor	26.68	25.1	25.1	17.96
Oxigênio	-	-	-	1.32
Trocas Laboratoriais	0.26	0.26	0.26	0.26
Despesas Gerais	4.75	1.58	1.06	0.79
Total	72.63	45.68	42.53	33.54

Fonte: CYSEWSKI & WILKE (1978)

O processo contínuo apresenta aproximadamente 63% do custo total com respeito ao processo batelada. Esta grande diferença tem levado muitos pesquisadores a explorarem o processo contínuo, visando desta maneira torná-lo ainda mais econômico. Observa-se por exemplo, como a utilização de um reciclo de células já permite uma redução dos custos na ordem de 7%. O processo batelada, como era esperado, em vista de suas características, apresenta um elevado custo de produção devido aos custos fixos e operacionais e a baixa produtividade.

A figura 2.1 (ANDRIETTA & MAUGERI, 1994) apresenta o fluxograma geral de uma fermentação alcoólica contínua, com reciclo de células.

A alimentação ao primeiro reator é feita juntamente com o reciclo de células, após o tratamento ácido.

A alimentação é constituída geralmente de uma mistura de caldo tratado e melaço proveniente da fabricação de açúcar, recebendo um tratamento prévio que consiste normalmente em aquecimento e decantação, com o objetivo de diminuir a carga microbiana e retirada de material em suspensão que pode prejudicar as centrífugas no momento da recuperação das células.

O reciclo provém do tratamento ácido, onde ao creme de leveduras são adicionados água (1:1) e ácido sulfúrico concentrado, até pH 2,0-2,5, com um tempo de residência de 1-2 horas. A razão entre o volume de fermento tratado e o volume total de alimentação é chamado taxa de reciclo.

RODRIGUES *et alii* (1992), realizaram um estudo através de várias simulações, com reatores ideais, e verificaram que uma taxa de reciclo de 0,3 apresenta bons resultados a nível de rendimento e produtividade, considerando as limitações, em termos de centrífuga, muito usuais em destilarias.

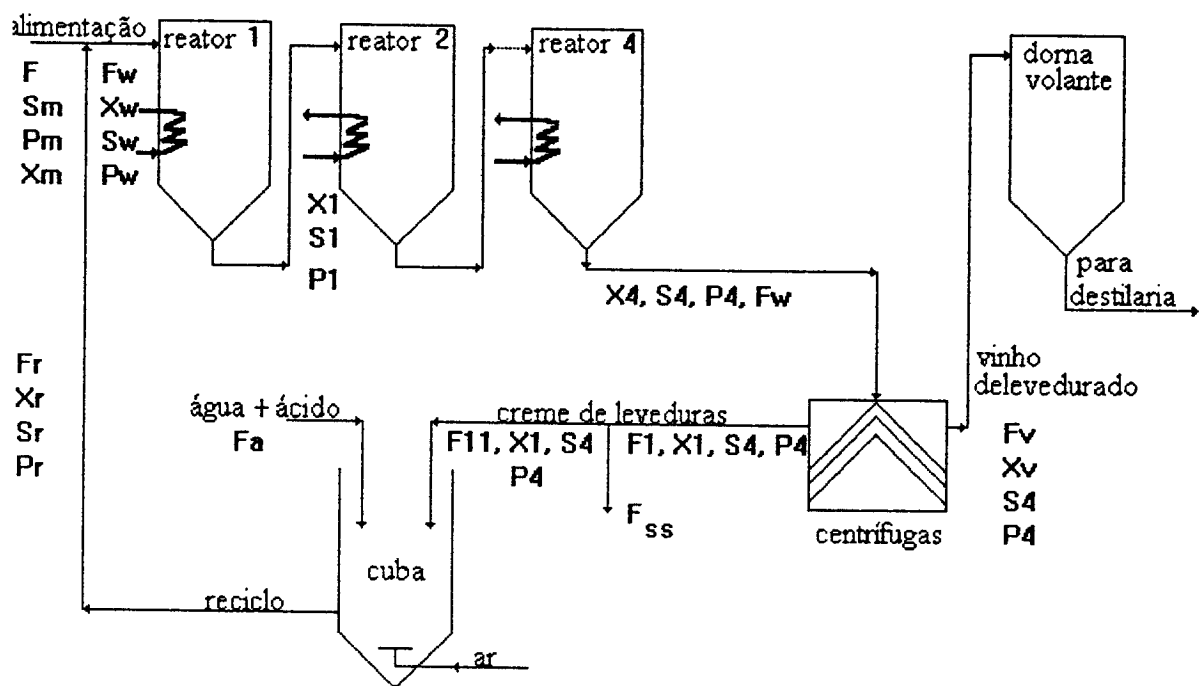


Figura 2.1: Fluxograma do Processo Contínuo com Reciclo de Células

ANDRIETTA & MAUGERI (1994)

2.2 Tipos de Reatores e Arranjos

GHOSE & TYAGI (1979b) concluíram que usando sistemas contendo dois reatores iguais em série, ao invés de um, o volume total poderia ser diminuído em 58%.

LEE, POLLARD & COULMAN (1983) predisseram aumentos na produtividade de 40 a 50% através do uso de 2 CSTRs em série ao invés de um CSTR simples.

DOURADO *et alii* (1987) observaram que reatores em cascata permitem substancial incremento na produtividade de etanol quando comparado ao processo com um reator de mesmo volume total. Esta vantagem aumenta quando o sistema é mais inibido pelo etanol. Isto acontece devido a parte da fermentação, no sistema em cascata, ocorrer a baixa concentração de etanol.

Para LEVENSPIEL, (citado por VIGIÉ *et alii*, 1990) a combinação de reatores que levam a fermentação alcoólica ao máximo de produtividade é um reator CSTR seguido de um reator tubular. Por outro lado, o comportamento do reator tubular, pode, na prática, ser aproximado por um número finito de CSTRs.

MAIORELLA *et alii* (1984) mostram que, para altas concentrações finais de etanol, um reator multiestágios pode resultar em redução substancial (41%) no volume do reator quando comparado ao CSTR simples.

ANDRIETTA (1994), através de modelagem matemática e simulações obteve como projeto ótimo, para as condições de operação das destilarias brasileiras, um sistema com quatro reatores de mistura perfeita ligados em série. Para obter este resultado o autor fez um estudo comparativo entre dois sistemas operando nas mesmas condições, sendo que em um deles foi empregado um reator tubular e no outro reatores de mistura perfeita em série. Calculou o volume do reator tubular necessário para atingir a conversão desejada (511 m^3) e no outro sistema variou o número de reatores até que os volumes se aproximassem. Na figura 2.2 pode ser observado o volume total de reatores para se atingir a conversão desejada de cada sistema constituído de diferentes números de reatores. O sistema escolhido foi o que continha o menor número possível de reatores e que o sistema subsequente a este não apresentasse ganhos apreciáveis em produtividade. Observe-se ainda que, se fosse utilizado 1 reator de mistura perfeita, o volume necessário para obter a mesma conversão seria de 4359 m^3 , enquanto que com os quatro reatores o volume ficou em 847 m^3 .

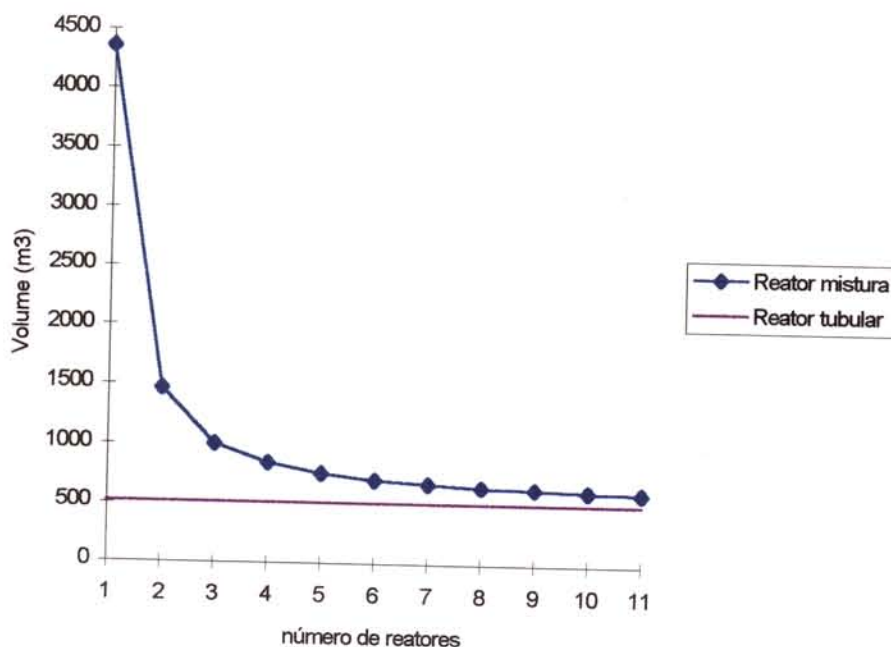


Figura 2.2: Curva de volume total de reatores em função do número de reatores de mistura perfeita ligados em série (ANDRIETTA, 1993)

2.3 Cinética da Fermentação Alcoólica

Na fermentação alcoólica é usual a construção de modelos que representem a cinética do processo fermentativo. Através destes modelos é possível determinar a velocidade de transformação da glicose em etanol e material celular e a influência de diferentes parâmetros nesta velocidade.

2.3.1 Modelos Cinéticos

Os modelos cinéticos normalmente usados em fermentações, segundo BAILEY & OLLIS (1986), podem ser divididos em:

- Não-estruturados e não-segregados, nos quais as células de microrganismos são consideradas como solutos;

- Estruturados e não-segregados, onde as células são tratadas como indivíduos de múltiplos componentes, porém com composição média semelhante;
- Não-estruturados e segregados, onde as células são tratadas como seres individuais distintos, porém descritos por um único componente;
- Estruturados e segregados, onde as células de microrganismos são consideradas como indivíduos distintos e formadas por múltiplos componentes.

O tipo de modelo mais encontrado na literatura para descrever a fermentação alcoólica é do tipo não-estruturado e não-segregado.

Com a finalidade de quantificar as taxas de crescimento celular, de consumo de substrato, formação de produtos e demais parâmetros relacionados, surgiram diversos modelos (não-estruturados e não-segregados) para descrever a fermentação alcoólica.

MONOD (1949) expressa a velocidade específica de crescimento do microrganismo (μ) como uma função da concentração de substrato limitante (S):

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{S}{(K_s + S)} \quad (2.1)$$

onde $\mu_{\max}$ e K_s são a velocidade específica máxima de crescimento e a constante de Monod, respectivamente.

A expressão de Monod somente é aplicável onde não há presença de produtos metabólicos tóxicos.

Durante o processo de fermentação alcoólica o etanol produzido acumula-se no meio, diminuindo a velocidade específica de crescimento. Portanto tem-se:

$$\mu = f(S, P) \quad (2.2)$$

onde P é a concentração de produto.

Em trabalhos publicados, GHOSE & TYAGI (1979b) e BAZUA & WILKE (1977), verificou-se que a inibição pelo etanol afetava $\mu_{\max}$ e não K_s , logo a velocidade de crescimento pode ser representada por :

$$\mu = \mu_{\max,i} \cdot \frac{S}{(K_s + S)} \quad (2.3)$$

onde $\mu_{\max,i}$ é a velocidade específica máxima de crescimento na presença de etanol.

LUONG (1985) realizou uma revisão dos principais modelos de inibição pelo etanol. A seguir são apresentados os tipos de dependência de μ com relação a concentração de P:

- Relação Linear:

$$\mu_{\max,i} = \mu_{\max} - K_1 P \quad (2.4)$$

$$\mu_{\max,i} = \mu_{\max} \cdot \left(1 - \frac{P}{P_{\max}}\right) \quad (2.5)$$

onde K_1 é uma constante empírica e $P_{\max} (= \mu_{\max} / K_1)$ é a concentração de etanol acima da qual as células não crescem.

A relação linear entre μ e P somente é aplicada quando o crescimento não é limitado por algum nutriente ou substrato.

- Relação Exponencial:

$$\mu_{\max,i} = \mu_{\max} \cdot e^{-K_2 P} \quad (2.6)$$

onde K_2 é uma constante empírica.

- Relação Hiperbólica:

$$\mu_{\max,i} = \mu_{\max} \cdot \frac{1}{\left(1 + \frac{P}{K_3}\right)} \quad (2.7)$$

onde K_3 é uma constante empírica.

As equações (2.6) e (2.7) predizem o crescimento celular e a produção de etanol indefinidamente, o que não é observado na realidade.

- Relação Parabólica:

$$\mu_{\max,i} = \mu_{\max} \cdot \left(1 - \frac{P}{P_{\max}}\right)^{0,5} \quad (2.8)$$

O ajuste dos dados experimentais, obtidos por BAZUA & WILKE (citados por LUONG, 1985), não foi suficientemente bom, de forma que eles propuseram uma segunda expressão:

$$\mu_{\max,i} = \mu_{\max} - \frac{aP}{(b - P)} \quad (2.9)$$

onde a e b são constantes.

A expressão (2.9) indica que a velocidade específica de crescimento é afetada pelo etanol mesmo a baixas concentrações. O crescimento e a produção de etanol cessam a concentrações finitas de etanol.

LEVENSPIEL (1980), propôs uma equação não linear generalizada:

$$\mu_{\max,i} = \mu_{\max} \cdot \left(1 - \frac{P}{P_{\max}}\right)^n \quad (2.10)$$

onde n é a constante empírica na equação (2.10).

LUONG (1985) propõe a seguinte expressão para a dependência de μ com respeito a concentração de P:

$$\mu_{\max,i} = \mu_{\max} \cdot \left(1 - \left(\frac{P}{P_{\max}}\right)^\beta\right) \quad (2.11)$$

onde β é uma constante adimensional da equação (2.11).

As equações generalizadas (2.10) e (2.11) são as mais utilizadas, pois se adequam mais aos dados experimentais.

Quando β e n são iguais a 1, as equações (2.10) e (2.11), tornam-se lineares. Quando β e n são maiores do que 1, as equações (2.10) e (2.11) podem ser aproximadas das equações (2.6) e (2.7), pois uma rápida queda inicial na velocidade de crescimento é seguida por uma lenta aproximação a $P_{\max}$. Por fim, quando β e n são menores do que 1, as equações (2.10) e (2.11) se

aproximam da equação (2.8) e uma lenta queda inicial na velocidade de crescimento é seguida por uma rápida aproximação a $P_{\text{máx}}$.

A fermentação alcoólica é também inibida pelo substrato. Este fenômeno é, normalmente, menos importante do que a inibição pelo etanol. GHOSE & TYAGI (1979b) propuseram um modelo que inclui a inibição pelo substrato:

$$\mu = \mu_{\text{máx},i} \frac{S}{(K_s + S + \frac{S^2}{K_i})} \quad (2.12)$$

onde K_i é a constante de inibição pelo substrato e $\mu_{\text{máx},i}$ possui uma relação linear com a concentração de etanol (eq. 2.5).

Segundo MOULIN *et alii* (1980), glicose torna-se inibitória acima de 100 g/l.

Quando $P < 32$ g/l e $S > 100$ g/l, tem-se:

$$\mu = \mu_{\text{máx}} \cdot \exp(-KG_1 P) \exp[-KG_2 (S - 100)] \quad (2.13)$$

onde KG_1 é o coeficiente de medida de inibição pelo etanol e KG_2 é o coeficiente que representa a inibição da fermentação da glicose pelo excesso de substrato.

Quando $P > 32$ g/l e $S > 100$ g/l

$$\mu = \mu_{\text{máx}} \cdot \exp(-KG_1 P) \exp[+KG_3 (S - 100)] \exp[-KG_3 (S - 100) P] \quad (2.14)$$

onde KG_3 é uma constante calculada de dados experimentais.

THATIPAMALA *et alii* (1992) propõem a seguinte expressão:

$$\mu = \mu_{\text{máx}} \cdot \frac{(S_{\text{máx}} - S)}{(S_{\text{máx}} - S_{\text{mín}})} \quad (2.15)$$

onde $S_{\text{máx}}$ é a máxima concentração de substrato acima da qual as células não crescem, e $S_{\text{mín}}$ a mínima concentração de substrato a partir da qual ocorre inibição.

Em fermentações com elevada concentração celular, se obtém uma maior produtividade, porém os modelos cinéticos devem levar em conta a inibição pela célula.

LEE *et alii* (1983) propuseram, para levar em conta a inibição celular, um termo análogo ao proposto por Levenspiel para inibição pelo produto:

$$I_x = \left(1 - \frac{X}{X_{\max}}\right)^m \quad (2.16)$$

onde I_x é o termo relativo a inibição pela concentração celular, $X_{\max}$ é a máxima concentração de células atingida sob condições ideais de crescimento. O coeficiente m é um termo empírico.

O modelo final proposto por LEE *et alii* (1983) para o crescimento celular foi:

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \left(1 - \frac{P}{P_{\max}}\right)^n \cdot \left(1 - \frac{X}{X_{\max}}\right)^m \cdot \left(\frac{S}{(K_s + S)}\right) \quad (2.17)$$

JARZEBSKI *et alii* (1989) propuseram um modelo baseado na equação 2.11:

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \left(1 - \left(\frac{P}{P_{\max}}\right)^n\right) \cdot \left(1 - \left(\frac{X}{X_{\max}}\right)^m\right) \cdot \left(\frac{S}{(K_s + S)}\right) \quad (2.18)$$

MONBOUQUETE (1987) utiliza modelos intrínsecos que levam em conta a fração volumétrica das células. A análise de um modelo de simples inibição pelo produto, indica que o modelo não intrínseco somente deve ser usado quando a fração volumétrica de biomassa é menor do que 0,1.

MONBOUQUETE (1992), utilizando os dados experimentais de JARZEBSKI *et alii* (1989) e trabalhando com o modelo intrínseco, verificou que as diferenças na concentração de glicose, em regime estacionário, predita pelo modelo, pode chegar até 60% daquela do modelo não intrínseco.

2.3.2 Efeito da Temperatura nos Parâmetros Cinéticos

Tem-se verificado que a temperatura influi na velocidade de crescimento, na produção de etanol, no consumo de açúcar e na inibição pelo produto e substrato. Os modelos cinéticos são

porém, em geral, descritos para temperatura constante, 30 ou 35°C. No entanto, é muito importante descrever-se a relação da temperatura com os parâmetros cinéticos.

VAN UDEN (1985) mostra que a tolerância ao etanol por *Saccharomyces cerevisiae* decresce quando a temperatura sai de uma determinada faixa (13-27°C), e que $\mu_{\text{máx}}$ varia exponencialmente com a temperatura, na forma da equação de Arrhenius.

DALE *et alii* (1990) apresentam $\mu_{\text{máx}}$ e $P_{\text{máx}}$ como uma função da temperatura tipo Arrhenius:

$$\mu_{\text{máx}}(T) = A_1 \cdot \exp\left(-\frac{E_1}{RT}\right) \quad (2.19)$$

$$P_{\text{máx}}(T) = A_2 \cdot \exp\left(-\frac{E_2}{RT}\right) \quad (2.20)$$

onde A_1 e A_2 , são constantes de ajuste da dependência de $\mu_{\text{máx}}$ e $P_{\text{máx}}$ com a temperatura, respectivamente. E_1 e E_2 correspondem a energia de ativação da equação de Arrhenius.

SINCLAIR & KRISTIANSEN (1987) expressam $\mu_{\text{máx}}$ e K_s em função da temperatura conforme segue:

$$\mu_{\text{máx}}(T) = A_4 \cdot e^{\left(-\frac{E_4}{RT}\right)} - A_5 \cdot e^{\left(-\frac{E_5}{RT}\right)} \quad (2.21)$$

$$K_s(T) = A_6 \cdot e^{\left(-\frac{E_6}{RT}\right)} \quad (2.22)$$

Na equação (2.21) para $\mu_{\text{máx}}$, o primeiro termo a direita corresponde à ativação térmica e o segundo, cuja energia de ativação é muito maior que do primeiro, tem sido associado à inativação térmica das enzimas.

ALVES (1996), utilizando cepa de *Saccharomyces cerevisiae* selecionada a partir de coletas realizadas em usinas, estudou o comportamento do microrganismo em culturas contínuas com baixos teores de açúcares, álcool e células. Verificou que o microrganismo segue a cinética de Monod obtendo a seguinte equação para $\mu_{\text{máx}}$ em função da temperatura (28 a 38°C):

$$\mu_{\text{máx}}(T) = 4,181 \cdot 10^4 \exp\left(-\frac{3535}{T}\right) - 5,397 \cdot 10^{69} \exp\left(-\frac{50475}{T}\right) \quad (2.23)$$

Constatou ainda que nestas condições o K_s é muito pouco afetado, podendo ser considerado constante como 4,1 g ART/l, na faixa de 28 a 38 °C.

Para avaliação de $P_{\max}$ à diferentes temperaturas, verificou que o modelo exponencial, considerando temperaturas de 30°C a 38°C, foi o que apresentou melhor ajuste:

$$P_{\max} = 638,1 \cdot \exp(-0,05741 \cdot T) \quad (2.24)$$

2.4 Viabilidade Celular

Em função de alguns fatores do processo algumas células tornam-se não viáveis, ou seja, incapazes de crescer e reproduzir. Conforme colocado por SINCLAIR & KRISTIANSEN (1987) algumas células são mortas, enquanto que em outros casos as células entram em estado de “animação suspensa”, mas não reverterem para o estado viável num tempo de interesse para um processo biotecnológico comercial.

Em geral, os fatores mais importantes que afetam a viabilidade celular são: a concentração celular que está vinculada com a velocidade de produção de etanol, a quantidade de oxigênio dissolvido, a temperatura da fermentação, a concentração de substrato e de etanol, a velocidade de produção de etanol e o tempo de contato entre as células e o etanol.

NAGODAWITHANA & STEINKRAUS (1976), em fermentação de mel diluído (25°Brix), com 8×10^8 células/ml, verificaram que em fermentação rápida, resultando em 9,5% (p/v) de etanol, em 3 horas a 30 °C, ocorria uma taxa de morte exponencial. Por outro lado, quando 6 horas foram necessárias para atingir o mesmo conteúdo de etanol a 15 °C, as células mantiveram a sua viabilidade. Ao trabalharem com 6×10^7 células /ml, já não obtendo uma fermentação rápida, as células mantiveram sua viabilidade a 30 °C. Quando etanol era adicionado ao meio, sua letalidade era menor do que etanol produzido, na mesma quantidade ou mesmo menor. Os autores consideraram a possibilidade do etanol ser produzido tão rapidamente a 30 °C que poderia não difundir para fora da célula tão rapidamente como era formado. Com isto, etanol acumulava-se na célula contribuindo para a alta taxa de morte a 30 °C. Altas concentrações de etanol, tal como, 2×10^{11} moléculas etanol/célula, são acompanhadas por inativação de ADH (álcool desidrogenase) e perda da viabilidade celular.

Em acordo com as conclusões acima, MILANESE-RUBILAR & MAUGERI (1990) verificaram que a viabilidade celular dependia da concentração de etanol e do tempo de residência celular segundo a expressão:

$$X_v = \frac{\exp[-d(\tau_c \cdot P)]^m}{(P_{\max} - P)} \quad (2.25)$$

onde X_v é a fração viável de células, τ_c o tempo de residência celular, d e m constantes empíricas.

CYSEWSKY & WILKE (1977) verificaram que em uma fermentação rápida usando vácuo e reciclo de células, a viabilidade das células se mantinha acima de 95% quando ocorria uma taxa de alimentação de oxigênio de 0,12 v/v/m na CNTP (Condições Normais de Temperatura e Pressão). As leveduras utilizam o oxigênio para produzir ácidos graxos poli-insaturados e seus precursores, componentes necessários para a biossíntese de lipídeos, constituintes das membranas plasmáticas e mitocondriais. A adição ao meio de cultura de ácidos graxos ou esteróis melhora a tolerância das leveduras ao etanol e, assim, aumenta a viabilidade celular.

SÁ-CORREIA & VAN-UDEN (1986), trabalhando com mutante de *Saccharomyces cerevisiae*, utilizaram as relações matemáticas para obter a taxa de morte celular, K_d , e sua função com a temperatura.

$$\ln N_t = \ln N_0 - K_d \cdot t \quad (2.26)$$

onde, N_0 e N_t representam o número médio de colônias no tempo zero e t , respectivamente, e K_d uma função da equação modificada de Arrhenius:

$$\ln \frac{K_d}{T} = \ln \frac{K_b}{h} + \frac{\Delta S^*}{R} - \frac{\Delta H^*}{R} \cdot \frac{1}{T} \quad (2.27)$$

onde, T é a temperatura absoluta, K_b é a constante de Boltzmann, h é a constante de Planck, R a constante dos gases, ΔS^* a entropia de ativação de morte térmica e ΔH^* a entalpia de ativação de morte térmica.

Ao utilizar o modelo modificado de Arrhenius, para diferentes concentrações de etanol no meio a baixas e médias temperaturas, os mesmos autores verificaram que a taxa de morte a

temperaturas baixas e intermediárias é uma soma de duas taxas de morte; uma corresponde ao etanol acentuando a morte térmica e sua influência sendo maior a medida que ocorre incremento da temperatura e outra taxa de morte que é induzida pelo etanol, com sua contribuição aumentando com o decréscimo da temperatura.

JARZEBSKI *et alii* (1989) salientam que para fermentações com altas concentrações de células, não se pode negligenciar a perda de viabilidade. Utilizam portanto, para fermentação alcoólica, os termos X_{vv} , fase de biomassa ativa (células viáveis) e X_d , fase inativa (células mortas). Consequentemente, a taxa de crescimento da fase viável é:

$$r_x = \mu_{\max} \left[1 - \left(\frac{P}{P_{\max}} \right)^n \right] \cdot \left[1 - \left(\frac{X_t}{X_{\max}} \right)^m \right] \frac{S \cdot X_{vv}}{(K_s + S)} \quad (2.28)$$

onde X_t é a concentração total de células.

DALE *et alii* (1990), trabalhando com células imobilizadas de *Kluyveromyces fragilis*, utilizaram a seguinte relação para expressar a taxa de morte:

$$\frac{N_1}{N_{t_0}} = \exp[-K_d(T,P) \cdot t] \quad (2.29)$$

onde:

$$K_d(T,P) = K_d(T) \cdot K_d(P) \quad (2.30)$$

$$K_d(T) = A_3 \cdot \exp\left(-\frac{E_3}{RT}\right) \quad (2.31)$$

$$K_d(P) = \exp(K_{dp} \cdot P) \quad (2.32)$$

sendo A_3 o fator de frequência da equação de Arrhenius, E_3 a energia de ativação (cal/mol) da equação 2.31 e K_{dp} a constante da taxa de morte função do etanol(l/g) da equação 2.32.

Pela equação 2.29 proposta, a morte celular aumenta com o aumento da temperatura e da concentração de etanol.

CARVALHO *et alii* (1996), utilizando cepa de *Saccharomyces cerevisiae* selecionada da Usina Santa Adélia, determinaram a equação que representa a cinética de morte celular do microrganismo estudado, seguindo o modelo de DALE (1990):

$$\frac{N_1}{N_{10}} = \exp\{[-9,00227 \cdot 10^{23} \exp(-\frac{39666}{RT}) \cdot \exp(0,07425 \cdot P)] \cdot t\} \quad (2.33)$$

onde:

$$A_3 = -9,00227 \cdot 10^{23}$$

$$E_3 = 39666$$

$$K_{dp} = 0,07425$$

O autor verificou que ao ajustar o modelo proposto por DALE (1990) aos seus dados experimentais, o modelo tende a superestimar a morte celular para altas concentrações de álcool e a subestimar à concentrações inferiores. Existe também um problema de falta de ajuste para algumas curvas, pois o modelo exprime somente a fração viável a partir do momento em que começa a ocorrer morte celular, enquanto que em alguns dados experimentais do autor, principalmente nos de baixos teores de álcool, nota-se um certo patamar de estabilidade antes de começar a morte propriamente dita.

2.5 Etanol Intracelular

Quando se trabalha com modelos intrínsecos deve-se conhecer a concentração de álcool intracelular, para poder realizar o balanço de massa.

D'AMORE & STEWART (1987) fizeram uma boa revisão sobre acúmulo de etanol intracelular, sendo que um ponto importante na mesma é que esta apresenta uma controvérsia entre grupos de pesquisadores. Tem sido proposto por vários grupos que a concentração de etanol dentro da célula pode ser maior do que fora em certos estágios e sob condições especiais como: fermentação rápida, alta temperatura, pressões osmóticas elevadas, etc. Por outro lado,

outros grupos sugerem que a concentração intracelular de etanol em fermentação por leveduras são menores ou iguais a extracelular.

A discrepância nos resultados dos vários estudos é na maioria devido a precisão das técnicas empregadas para medida da concentração intracelular. Estas diferenças resultam de pelo menos três problemas básicos: a) lavagem das células para medida do etanol intracelular b) assumir um volume de água intracelular constante ao longo da fermentação c) erros durante a recuperação inicial e as diversas etapas de diluição e suspensão de células, comum a todos os métodos.

NAGOWITHANA & STEINKRAUS (1976) realizaram testes de fermentação rápida com *Saccharomyces cerevisiae* e testes com adição de etanol, verificando que a letalidade celular devido a adição foi muito menor do que aquela devido a fermentação para as mesmas ou até menores quantidades de etanol produzido. Em vista disto, postularam que o acúmulo de etanol na célula estava contribuindo para sua morte, com a taxa de produção de etanol na célula excedendo o que poderia ser excretado. No caso, o etanol intracelular foi analisado por cromatografia gás-líquido sobre o extrato gerado de células rompidas por oscilação sônica.

NAVARRO (1980), em função dos problemas advindos do acúmulo de etanol intracelular, estudou condições de cultura que diminuíssem o problema. Trabalhando com *Saccharomyces carlsbergensis* verificou que quando peptona ou surfactante eram adicionados ao meio de cultura o acúmulo de etanol era menor e os efeitos inibidores eram reduzidos. A taxa de produção aumentava e assim o tempo de fermentação diminuía. A determinação de etanol intracelular foi feita pela diferença entre o álcool da solução e o álcool do sobrenadante resultante da centrifugação a 4500g por 15 minutos a 4°C.

PANCHAL & STEWART (1980) realizaram estudos sobre o efeito da pressão osmótica na produção e excreção de etanol por *Saccharomyces uvarum*. Para aumento da pressão utilizaram açúcar não metabolizável, no caso, sorbitol. Em diferentes testes utilizaram 10% (P/V) de sacarose e variaram o percentual de sorbitol de 0 a 30% (P/V). Verificaram que a concentração total de etanol é reduzida em aproximadamente 30% quando adiciona-se 15 ou 30% de sorbitol e que, por outro lado, mais etanol foi retido intracelularmente por tempo maior do que quando as células cresceram a baixa pressão osmótica. A retenção de etanol levou também a reduções maiores da viabilidade. A relação de etanol intracelular por extracelular variou conforme o estágio da fermentação e a pressão osmótica empregada.

BEAVEN *et alii* (1982) ressaltam os problemas advindos com a lavagem de células, recomendando inclusive que os resultados obtidos por NAGODAWITHANA & STEINKRAUS (1976) e PANCHAL & STEWART (1980) devem ser vistos criticamente, já que ambos grupos de pesquisadores lavam os microrganismos com tampão antes de rompê-los e determinar o etanol no extrato. Outro problema apresentado é quando assume-se que o conteúdo de água é constante nos microrganismos ao longo da fermentação em batelada por *Saccharomyces cerevisiae*, valor usado no cálculo de etanol intracelular, como nos experimentos conduzidos por NAVARRO (1980). Os autores verificaram que a concentração de etanol intra e extra celular variam ao longo do tempo de fermentação, estando sempre, porém, a concentração intracelular acima da extracelular.

DASARI *et alii* (1985) mediram a concentração intracelular de etanol em fermentação utilizando alta densidade celular de *Saccharomyces cerevisiae*. Não detectaram nenhum acúmulo de etanol intracelular na técnica utilizada para determinação. Segundo os autores a alta estimativa de etanol intracelular é devido não a deficiência na cromatografia gasosa, mas aos passos anteriores de centrifugação ou filtração. Durante as etapas de concentração celular as células ainda produzem álcool e este é incluído erroneamente como álcool intracelular. Para minimizar este problema deve-se reduzir o tempo de análise e congelar a amostra em nitrogênio líquido. A fermentação realizada foi em batelada e apresentou ao final uma relação entre etanol intracelular e extracelular de 0,78.

DOMBEK & INGRAM (1986) encontraram resultados de razão de etanol intracelular por etanol extracelular de 0,6 a 1,1. O valor variou conforme o tempo de fermentação. O processo utilizado foi descontínuo com fermentação feita por *Saccharomyces cerevisiae* cepa KD2, que é um mutante da cepa CC3. O método desenvolvido pelos autores foi baseado na exclusão de [^{14}C]-sorbitol para estimar o volume aquoso celular. Este método evita muitos problemas técnicos encontrados em outros estudos, como a lavagem de células.

Outro problema que contribui para resultados conflitantes conforme colocado por D'ÁMORE & STEWART (1987) podem ser as diferentes condições experimentais que são utilizadas, como tempo de amostragem, temperatura, concentração de substrato, etc. Tem sido apresentado por alguns autores que a concentração de etanol intracelular é maior nos estágios iniciais da fermentação e cai a medida que a fermentação segue para níveis similares à concentração extracelular. Isto poderia indicar que a excreção de etanol se dá por difusão passiva. Em alguns casos porém, a concentração de etanol eventualmente cai abaixo daquela do meio, o

determinação da concentração intracelular de etanol. Outros aspectos encontrados são que o aumento de temperatura (NAGOWITHANA & STEINKRAUS, 1976) e de pressão osmótica (PANCHAL & STEWART, 1980) aumentam o etanol intracelular.

Outro ponto importante que pode conduzir a reduções do nível de etanol intracelular é a cepa utilizada. LEGMANN & MARGALITH (1986) trabalharam com híbrido de *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces mellis*. A primeira, eficiente fermentadora e sensível a altas concentrações de açúcar, e a segunda, osmotolerante porém pobre fermentadora, principalmente devido a sua susceptibilidade ao etanol. Quando os autores utilizaram elevada concentração de açúcar (37%P/P), o híbrido fermentou melhor do que *S. cerevisiae* a altas concentrações de substrato devido ao menor acúmulo de etanol na célula em comparação a *S. mellis* e maior tolerância a altas concentrações de açúcar comparando com *S. cerevisiae*.

2.6 Fração de Volume Celular no Meio de Fermentação

Da mesma forma que colocado para o etanol intracelular, necessita-se conhecer a fração de volume celular no meio de fermentação para desenvolver um balanço de massa intrínseco.

JU & HO (1988) determinaram uma correlação da fração de volume celular com a concentração celular de *Saccharomyces cerevisiae* para cultura submersa. A correlação proposta foi:

$$f = k.X \quad (2.34)$$

onde:

f é a fração de volume celular

X é a concentração de células

k é a constante de proporcionalidade em volume de célula úmida (L) por grama de célula seca.

O valor de k obtido pelos autores foi de $2,572.10^{-3}$.

Conforme ARNOLD & LACY (citados por JU & HO, 1988) o conteúdo de água da célula microbiana foi de 0,71 g/gcél. úmida. Através deste dado e com o valor da densidade da célula úmida de JU & HO (1988), obtém-se um valor de k de $3,068 \cdot 10^{-3}$. Os autores também trabalharam com *Saccharomyces cerevisiae* e o valor por eles obtido de 0,71 está próximo aquele de JU & HO que foi de 0,66.

MAIA & NELSON (1993) também trabalharam com *Saccharomyces cerevisiae* e encontraram um valor de k de $3,016 \cdot 10^{-3}$

2.7 Efeito do Tempo de Residência na Fermentação Alcoólica

RODRIGUES *et alii* (1992), trabalhando com reatores CSTRs ideais verificou que a diminuição do tempo de residência provoca um aumento na produtividade, para diferentes razões de reciclo. Porém um efeito inverso ocorre com o rendimento global, mostrando uma queda significativa para tempos de residência abaixo de 4 horas, devido a perda de substrato no vinho.

O mesmo trabalho simulando reatores reais verifica um comportamento análogo ao anterior, a diminuição do tempo de residência aumenta a produtividade e diminui o rendimento. Porém a existência de zonas mortas provoca um aumento menos significativo na produtividade e um decréscimo mais acentuado no rendimento, a medida que o tempo de residência diminui. Para tempos de residência superiores a 4 horas a produtividade comparativamente não é afetada nas diferentes condições. Ainda é observado que com um volume morto de 10% nos reatores, tem-se praticamente os mesmos valores de produtividade e rendimento quando comparados com um reator de mistura ideal.

2.8 “Screening Design”

Quando existem diversos fatores que podem influenciar no resultado, ou seja, quando o sistema é multivariável, normalmente não é evidente quais são os mais importantes, deve-se portanto recorrer a algum experimento para encontrá-los. Conforme comentado por DAVIES (1993), um grande planejamento fatorial poderia fornecer esta informação, porém poderia necessitar de muitos recursos. As alternativas são portanto aplicar um planejamento fatorial fracionado ou um “design” estabelecido por PLACKET-BURMAN (1946) (PB).

MILAGRES & LACIS (1991) identificaram as variáveis importantes no processo de produção de xilanase por *Penicillium janthinellum*. Como um planejamento fatorial completo é uma alternativa muito extensa e o fatorial fracionado tem problemas para separar os efeitos principais das interações de variáveis, os autores utilizaram o PB “design”. Foram estudadas 5 variáveis e utilizado um PB de 8 experimentos. Encontraram que as principais variáveis foram o pH do fermentador e a agitação, sendo de menor importância a concentração de esporos no início da cultura, o tipo de açúcar empregado no crescimento do inóculo e a presença ou ausência de suplementação mineral.

2.9 Método de Otimização

Na área de fermentação alcoólica são poucos os trabalhos que se utilizam de uma metodologia sistemática de otimização como a do planejamento fatorial e análise de superfície de resposta. Os encontrados na literatura se reportam principalmente a otimização do meio, de nutrientes, e raramente do processo de fermentação como pode ser verificado a seguir:

BOWMAN & GEIGER (1984), em fermentação alcoólica, utilizando *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126, investigaram o nível de carboidratos, o grau inicial de sacarificação do amido, a dosagem de glicoamilase, a temperatura e o tempo de fermentação usando o planejamento experimental, com isto verificaram que o uso de amido parcialmente hidrolisado aumentou o rendimento e o nível de álcool atingido. Balancearam também o grau de sacarificação inicial e o nível de glicoamilase usado para completar a hidrólise do substrato, bem como definiram uma temperatura ótima de operação.

MARCHETTI & GUERZONI (1991) utilizaram a metodologia de superfície de resposta para determinar os efeitos de alguns nutrientes minerais na performance das leveduras na fermentação. Verificaram que são grandemente influenciadas pela modificação na concentração de íons e que a concentração ótima de cada íon não pode ser individualmente definida. A variação de alguns íons selecionados pode produzir estímulo ou inibição dependendo da concentração de outros íons ou nutrientes.

ABRAHAM & KLAUSHOFER (1989), trabalhando com produção de etanol a partir de alcachofra Jerusalem, fermentada por *K. marxianus*, investigaram a influência do extrato de levedura, do liquor de infusão de milho, da concentração de substrato, da agitação de mistura na

incubação e da temperatura na qualidade da semente de levedura, através de um “design” fatorial de 2^5 . Os autores acreditam que com base nos resultados é possível substituir o caro extrato de levedura no preparo do inóculo pelo liquor de infusão de milho, mais barato. Apesar de não se obter a mesma produção de inulase, comparado com o uso de extrato de levedura, não houve detrimento no rendimento de etanol.

CORDENUNSI *et alii* (1985) trabalharam com fermentação alcoólica em batelada utilizando *Saccharomyces cerevisiae*. O objetivo foi obter um modelo matemático em função da quantidade de açúcar redutor inicial, da concentração de inóculo e do suplemento de nitrogênio inorgânico como $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, bem como otimizar as concentrações destas variáveis. Para tal, utilizaram o planejamento fatorial completo e o incompleto fazendo um comparativo entre ambos.

Os autores concluíram que usando o modelo polinomial de 2ª ordem não há diferença significativa entre o “design” fatorial completo e o fracional. Assim, devido a custos, tempo e espaço envolvidos optaram pelo fatorial fracional. As condições ótimas foram: 222 g/l de açúcares redutores totais, 150 a 160 g/l de inóculo e 1g/l de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, obtendo com isto 88,73 a 92,29 g/l de álcool e uma produtividade de 3,7 a 3,8 g/l.h.

CHEN (1981) investigou o efeito da concentração de substrato, da concentração de levedura e do suplemento nutricional em um processo de fermentação alcoólica em batelada tendo como substrato xarope de glicose. Foram analisadas a quantidade de etanol e a produtividade em g de etanol/l.h para atingir 90 e 95% da reação, bem como obtidos os modelos para tempo de fermentação e a produtividade. Verificaram que o suplemento nutricional na forma de extrato de levedura reduz significativamente o tempo de fermentação e aumenta a produtividade. O etanol produzido aumenta com a concentração de substrato até 30° Brix, quando então passa a cair. Os autores colocam que como não é compatível obter-se altos conteúdos de álcool e rápidas fermentações, do ponto de vista da fermentação, a seleção da condição ótima seria a que permitiria uma máxima produtividade de etanol, a menos que altos conteúdos de álcool levassem a reduções substanciais de custo de destilação, justificando assim uma redução na produtividade de etanol. Finalmente os autores concluíram que, na medida em que a concentração de substrato aumentava o tempo de fermentação tornava-se mais longo e a produtividade era menor. Por outro lado, o incremento na concentração de leveduras conduziram a menores tempos de fermentação e maiores produtividades. Um ponto importante colocado pelos autores é que pode-se estabelecer a condição ótima de fermentação para adaptar-se a operação da planta em questão.

Como pôde ser verificado neste capítulo existem diversos trabalhos apresentando estudos quanto aos parâmetros cinéticos de crescimento e morte para diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, bem como outros, que tratam sobre diferentes tipos de arranjos dos reatores em processos de fermentação alcoólica contínua. Encontram-se também artigos de otimização, porém, como já salientado no item 2.9, se reportam basicamente a otimização do meio de fermentação.

O grande número de trabalhos mostra o interesse que a área de fermentação alcoólica desperta. No entanto, através da revisão bibliográfica, fica claro que não existem trabalhos para otimizar um processo determinado, utilizando uma metodologia sistemática, em que os parâmetros cinéticos tenham sido determinados em condições adequadas a realidade nacional. Um trabalho desta ordem é importante quando se deseja otimizar a produtividade do sistema mantendo altos rendimentos.

No capítulo a seguir é desenvolvido o modelo determinístico do processo, que será utilizado posteriormente na sua otimização.

3 Modelagem Matemática do Processo

Neste capítulo será desenvolvido, através de balanços de massa, o modelo determinístico de um processo de fermentação alcoólica contínua. O balanço de massa leva em conta a fração de volume celular e considera a viabilidade celular, cuja equação da constante cinética de morte segue o modelo de DALE *et alii* (1990). No entanto, foi determinada em condições experimentais adequadas a realidade nacional, como os demais parâmetros cinéticos utilizados nesta modelagem.

O processo a ser estudado será aquele desenvolvido por ANDRIETTA e MAUGERI (1994), conforme a figura 2.1. É importante ressaltar que o mesmo foi implantado na Usina Guarani e opera há 4 anos com sucesso. No processo desenvolvido pelos autores, a alimentação de mosto é feita somente no primeiro reator, porém neste estudo será considerada a possibilidade de a distribuição da alimentação ser dividida entre o primeiro e o segundo reator.

3.1 Modelo Cinético

A seguir são apresentados o modelo e os parâmetros cinéticos utilizados no balanço de massa. Os mesmos foram obtidos da literatura, sendo que os parâmetros resultaram de trabalhos desenvolvidos anteriormente no laboratório de Engenharia Bioquímica da FEA/UNICAMP.

3.1.1 Equação para Velocidade Específica de Crescimento (μ)

O modelo cinético a ser utilizado será o de LEE *et alii* (1983):

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \left(1 - \frac{P}{P_{\max}}\right)^n \cdot \left(1 - \frac{X}{X_{\max}}\right)^m \cdot \left(\frac{S}{(K_s + S)}\right) \quad (3.1)$$

Este modelo é o que melhor se adapta as condições do processo pois propõe levar em conta a inibição celular, enquanto o modelo proposto por LEVENSPIEL (1980) considera apenas a inibição pelo produto:

Para a determinação $\mu_{\max}$ e $P_{\max}$, serão utilizadas as correlações obtidas por ALVES (1996), descrevendo a dependência destes parâmetros com respeito a temperatura:

$$\mu_{\max}(T) = 4,181.10^4 \exp\left(-\frac{3535}{T}\right) - 5,397.10^{69} \exp\left(-\frac{50475}{T}\right) \quad (3.2)$$

A temperatura utilizada na equação acima deve ser em Kelvin

$$P_{\max} = 638,1 \cdot \exp(-0,05741 \cdot T) \quad (3.3)$$

A temperatura na equação (3.3) é em graus celsius.

O valor de K_s a ser utilizado também será o de ALVES (1996), de 4,1 g ART/l

Estes parâmetros cinéticos foram obtidos utilizando-se a cepa de *Saccharomyces cerevisiae* isolada da usina Santa Adélia. Para o expoente “m” e X_m , serão utilizados os valores citados por ANDRIETTA (1994), de 1,0 e 100kg/m³ respectivamente, pois estes valores foram também obtidos de experimentos laboratoriais, e ajustados para plantas de escala industrial. Para o expoente “n” será utilizado o valor ajustado de 2,5.

3.1.2 Equação para Determinação da Constante Cinética de Morte (K_d)

A partir da equação de DALE *et alii* (1990), equação (2.29) abaixo transcrita, pode-se deduzir a expressão para rd:

$$\frac{N_t}{N_{t_0}} = \exp[-K_d(T,P) \cdot t] \quad (2.29)$$

ou, de acordo com a nomenclatura adotada:

$$\frac{X_{vv}}{X_{t_0}} = \exp[-K_d(T,P) \cdot t] \quad (3.4)$$

onde:

X_{t_0} é o número total de células no tempo zero.

$$\text{mas,} \quad X_t = X_{vv} + X_d \quad (3.5)$$

$$\frac{X_t - X_d}{X_{to}} = \exp[-K_d \cdot t] \quad (3.6)$$

$$X_d = X_t - X_{to} \cdot \exp[-K_d \cdot t] \quad (3.7)$$

Derivando com relação ao tempo, obtem-se:

$$\frac{dX_d}{dt} = K_d \cdot X_{to} \cdot \exp[-K_d \cdot t] \quad (3.8)$$

Logo:

$$rd = K_d \cdot X_{v,v} \quad (3.9)$$

ou, para as dornas:

$$rd = K_d \cdot X_i \quad (3.10)$$

Segundo CARVALHO *et alii* (1996), K_d pode ser expresso por:

$$K_d = 9,00227 \cdot 10^{23} \exp\left(-\frac{39666}{RT}\right) \cdot \exp(0,07425 \cdot P) \quad (3.11)$$

3.2 Modelagem Matemática

A modelagem do sistema foi realizada através de balanços de massa. Utilizou-se o modelo intrínseco de MOUBOUQUETTE (1992), que leva em conta a fração de volume celular. Desta forma se pode estudar a influência da concentração celular no reator sem incorrer em erros de desprezar o volume celular, o que só pode ser feito, segundo o autor, quando o volume de células for menor que 10%.

Foram realizados primeiramente os balanços de massa para as células viáveis e mortas, para o substrato e para o produto no reator, conforme é apresentado a seguir:

Balanço de células

viáveis

$$\frac{dX_{vv} \cdot V}{dt} = F_e \cdot X_{v_{de}} - F_s \cdot X_{v_{ds}} + rxV - rdV \quad (3.12)$$

mortas

$$\frac{dX_d \cdot V}{dt} = F_e \cdot X_{d_{de}} - F_s \cdot X_{d_{ds}} + rdV \quad (3.13)$$

onde:

F_e é a vazão volumétrica de entrada

F_s é a vazão volumétrica de saída

V é o volume

X_{vv} é a concentração de células viáveis

$X_{v_{de}}$ é a concentração de células viáveis na entrada

$X_{v_{ds}}$ é a concentração de células viáveis na saída

X_d é a concentração de células mortas

$X_{d_{de}}$ é a concentração de células mortas na entrada

$X_{d_{ds}}$ é a concentração de células mortas na saída

rx é a taxa de crescimento

rd é a taxa de morte

Balanço para Substrato

$$\frac{d[(1 - \frac{X_t}{\rho}) \cdot S \cdot V]}{dt} = F_e \cdot S_e \cdot (1 - \frac{X_{te}}{\rho}) \cdot V - F_s \cdot S_s \cdot (1 - \frac{X_{ts}}{\rho}) \cdot V - r_s \cdot V \quad (3.14)$$

onde:

S_e é a concentração de substrato na entrada

S_s é a concentração de substrato na saída

X_t é a concentração de células totais

X_{te} é a concentração de células totais na entrada

X_{ts} é a concentração de células totais na saída

ρ é a massa de células secas por volume de célula úmida

r_s é taxa de consumo de substrato

Balanço para Produto

$$\frac{d[(1 - \frac{X_t}{\rho}) \cdot P \cdot V + \frac{X_t}{\rho} \cdot \gamma \cdot P \cdot V]}{dt} = F_e \cdot P_e \cdot (1 - \frac{X_{te}}{\rho}) \cdot V + F_e \cdot P_e \cdot \gamma \cdot \frac{X_{te}}{\rho} \cdot V - F_s \cdot P_s \cdot (1 - \frac{X_{ts}}{\rho}) \cdot V - F_s \cdot P_s \cdot \gamma \cdot \frac{X_{ts}}{\rho} \cdot V + r_p \cdot V \quad (3.15)$$

onde:

P_e é a concentração de produto na entrada

P_s é a concentração de produto na saída

γ é a relação entre a concentração de etanol intra e extra celular

r_p é a taxa de formação de produto

As taxas cinéticas, r_x , r_s e r_p podem ser descritas pelas seguintes equações:

$$r_x = \mu \cdot X \quad (3.16)$$

$$r_s = \frac{r_x}{Y_{x/s}} \quad (3.17)$$

$$r_p = \frac{Y_{p/s}}{Y_{x/s}} \cdot r_x \quad (3.18)$$

$$r_d = K_d \cdot X_{v} \quad (3.19)$$

onde:

$Y_{x/s}$ é o rendimento de células baseado no consumo de substrato

$Y_{p/s}$ é o rendimento de produto baseado no consumo de substrato

K_d é a constante cinética de morte

Equações da modelagem

Considerando o reciclo de células, tem-se:

$$r = \frac{F_r}{F_w} \quad (3.20)$$

$$F_w = F_r + (1 - y) \cdot F \quad (3.21)$$

$$F_r = \frac{(1 - y)}{(1 - r)} \cdot r \cdot F \quad (3.22)$$

onde:

r = razão de reciclo

F_r = vazão de reciclo

F_w = vazão de alimentação ao primeiro reator

y é a fração de vazão de mosto alimentada ao segundo reator

Na unidade de separação tem-se:

$$F_v = F_w \cdot \frac{(X_1 - X_4)}{(X_1 - X_v)} \quad (3.23)$$

$$F_l = F_w - F_v \quad (3.24)$$

onde:

X_4 é a concentração de células no quarto reator

F_v é a vazão de vinho delevedurado

X_v é a concentração de células no vinho delevedurado

X_1 é a concentração de células no creme de leveduras

F_l é a vazão do creme de leveduras

Na unidade de tratamento ácido tem-se:

$$F_{11} = \frac{F_r \cdot X_r}{X_l} \quad (3.25)$$

$$F_a = F_r - F_{11} \quad (3.26)$$

onde:

F_{11} é a vazão do creme de leveduras, após a sangria

F_a é a vazão de ácido para o tratamento

Na sangria:

$$F_{ss} = F_1 - F_{11} \quad (3.27)$$

onde:

F_{ss} é a vazão retirada na sangria (purga)

Na unidade de reciclo, o balanço de células:

$$X_w = \frac{F \cdot X_m + F_r \cdot X_r}{F_w} \quad (3.28)$$

onde:

X_r é a concentração de células no reciclo

X_w é concentração de células no primeiro reator

X_m é a concentração de células no mosto

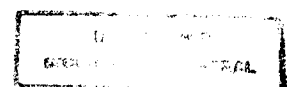
O balanço para sustrato na unidade de reciclo

$$S_w = \frac{(1-y) \cdot F \cdot S_m + F_r \left(1 - \frac{X_r}{\rho}\right) \cdot S_r}{F_w \left(1 - \frac{X_w}{\rho}\right)} \quad (3.29)$$

Sendo que:

$$S_r = \frac{F_{11} \cdot \left(1 - \frac{X_1}{\rho}\right) \cdot S_4}{F_r \cdot \left(1 - \frac{X_r}{\rho}\right)} \quad (3.30)$$

onde:



S_w é a concentração de substrato na alimentação do primeiro reator

S_r é a concentração de substrato no reciclo

S_m é a concentração de substrato no mosto

Realizando-se o balanço do produto no reciclo:

$$P_w = \frac{\left[F_r \cdot \left(1 - \frac{X_r}{\rho}\right) + F_r \cdot \gamma \cdot \frac{X_r}{\rho} \right] \cdot P_r}{F_w \cdot \left[\left(1 - \frac{X_w}{\rho}\right) + \gamma \cdot \frac{X_w}{\rho} \right]} \quad (3.31)$$

A equação acima é para $P_m = 0$

onde:

P_w é a concentração de produto alimentado ao primeiro reator

P_r é a concentração de produto no reciclo

P_m é a concentração de produto no mosto

Na unidade de tratamento ácido tem-se que:

$$P_r = \frac{\left[F_{11} \cdot \left(1 - \frac{X_1}{\rho}\right) + F_{11} \cdot \gamma \cdot \frac{X_1}{\rho} \right] \cdot P_4}{F_r \cdot \left[\left(1 - \frac{X_r}{\rho}\right) + \gamma \cdot \frac{X_r}{\rho} \right]} \quad (3.32)$$

onde:

P_4 é a concentração de produto no quarto reator

Assim, através destes balanços é possível calcular a produtividade e o rendimento do processo:

$$\text{Prod} = \frac{P_4 \cdot F_v \cdot \left[\left(1 - \frac{X_v}{\rho}\right) + \gamma \cdot \frac{X_v}{\rho} \right] + P_4 \cdot F_{ss} \cdot \left[\left(1 - \frac{X_l}{\rho}\right) + \gamma \cdot \frac{X_l}{\rho} \right]}{V} \quad (3.33)$$

$$\text{Rend} = \frac{P_4 \cdot F_v \cdot \left[\left(1 - \frac{X_v}{\rho}\right) + \gamma \cdot \frac{X_v}{\rho} \right] + P_4 \cdot F_{ss} \cdot \left[\left(1 - \frac{X_l}{\rho}\right) + \gamma \cdot \frac{X_l}{\rho} \right]}{F \cdot S_m \cdot 0,511} \cdot 100 \quad (3.34)$$

onde:

V é o volume total dos quatro reatores

0,511 é a relação estequiométrica de conversão de glicose em etanol.

É importante ressaltar que o rendimento máximo que pode ser atingido é de 87,08%, sendo este valor obtido da razão entre $Y_{P/S}$ (0,445) e o valor estequiométrico 0,511(usado como 100%).

A seguir são apresentados na tabela 3.1 os parâmetros utilizados no modelo do processo para a realização da simulação dinâmica. Esses valores serão usados como condição de referência para todos os estudos a seguir.

Tabela 3.1: Parâmetros utilizados no modelo do processo

Parâmetro	Valor/equação
$\mu_{\max}^*$	$= 4,181.10^4 \exp(-\frac{3535}{T}) - 5,397.10^{69} \exp(-\frac{50475}{T})$
$P_{\max}^*$	$= 638,1. \exp(-0,05741. T)$
X_m^{**}	100 kg/m ³
m^{**}	1,0
n	2,5
K_s^*	4,1g ART/l
K_d^{***}	$= 9,00227. 10^{23} \exp(-\frac{39666}{RT}). \exp(0,07425. P)$
ρ^{****}	390 g cél.seca/l cél úmida
γ^{*****}	0,78
$Y_{x's}^{**}$	0,033
$Y_{p's}^{**}$	0,445
F^{**}	100.000 l/h
F_r	42.852 l/h
S_m^{**}	180 kg/m ³
X_l^{**}	180 kg/m ³
X_v^{**}	3 kg/m ³

* ALVES (1996)

** ANDRIETTA (1994)

*** CARVALHO *et alii* (1996)

**** JU & HO (1988)

***** DASARI (1985)

4 Resolução da Modelagem Matemática do Processo

4.1 Resolução das Equações Diferenciais Ordinárias (EDO)

Para resolução das equações diferenciais ordinárias desenvolvidas no capítulo anterior foi feito um programa em linguagem pascal (Turbo Pascal, versão 6.0, Borland) no qual utilizou-se o método numérico de Runge-Kutta de quarta ordem. O algoritmo do método de Runge-Kutta 4ª ordem clássico é:

$$z_{i-1} = z_i + \left[\frac{1}{6}(k_1 + 2.k_2 + 2.k_3 + k_4) \right] h_{rk} \quad (4.1)$$

onde:

$$k_1 = f(x_i, z_i) \quad (4.2)$$

$$k_2 = f\left(x_i + \frac{1}{2} h_{rk}, z_i + \frac{1}{2} h_{rk} k_1\right) \quad (4.3)$$

$$k_3 = f\left(x_i + \frac{1}{2} h_{rk}, z_i + \frac{1}{2} h_{rk} k_2\right) \quad (4.4)$$

$$k_4 = f(x_i + h_{rk}, z_i + h_{rk} k_3) \quad (4.5)$$

h_{rk} é o incremento ou passo da variável tempo e x_i e z_i os valores das variáveis no tempo t_i . Para a resolução das equações é necessário conhecer o ponto inicial, que seria o ponto imediatamente anterior a perturbação, ou seja, os pontos do regime permanente. Como no caso este valor é desconhecido, foram utilizados como estimativa inicial os valores apresentados na tabela 4.1. Portanto, no instante da perturbação estes pontos são correspondentes a $t = 0$.

Tabela 4.1 Valores iniciais utilizados no programa em linguagem pascal (t = 0)

Variável	Valor (kg/m ³)
X _{vv1}	29,12
X _{vv2}	30,18
X _{vv3}	30,76
X _{vv4}	30,98
X _{d1}	3,48
X _{d2}	3,59
X _{d3}	3,75
X _{d4}	3,95
S ₁	65,59
S ₂	32,45
S ₃	12,34
S ₄	2,21
P ₁	36,38
P ₂	51,43
P ₃	60,38
P ₄	64,88

Na figura 4.1 é apresentado o diagrama em blocos do programa em pascal utilizado para as simulações do estado transiente.

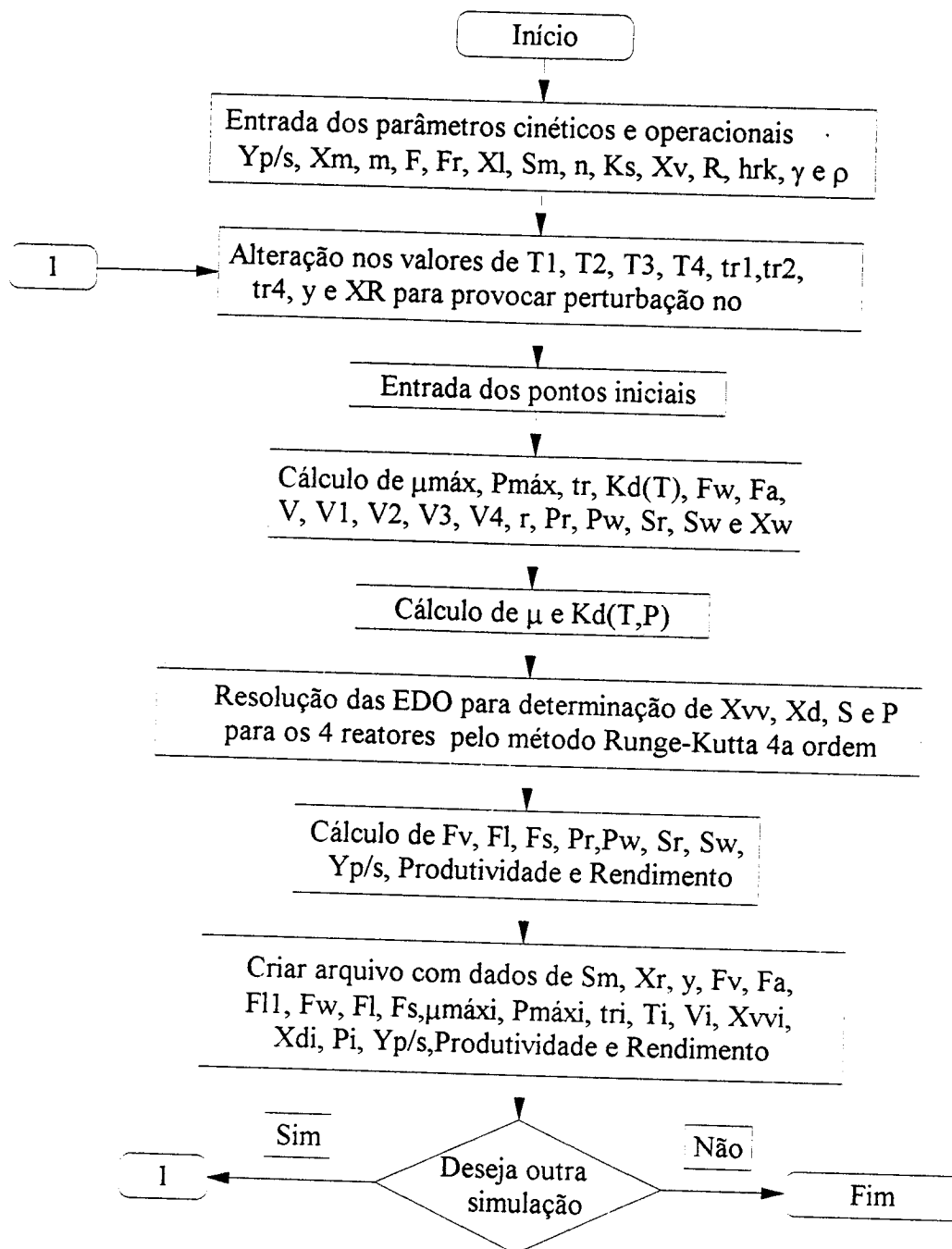


Figura 4.1: Fluxograma do Programa para Simulações do Estado Dinâmico

No programa foi utilizado um passo de integração de 10^{-4} para o tempo e o critério de convergência foi quando a concentração de substrato da quarta dorna não variou acima de $0,01 \text{ kg/m}^3$.

Para confirmar se o processo havia realmente atingido o estado estacionário foi realizado o cálculo de $Y_{p/s}$. Caso este não confirmasse o valor fornecido de 0,445, significaria que o balanço de massa não estava fechado, sendo necessário modificar o critério de convergência para 0,001.

4.2 Simulação no Estado Transiente

Para ilustrar a forma de obtenção dos resultados no estado transiente é apresentado um exemplo de uma simulação dinâmica para as quatro dornas do sistema. Os valores de temperatura, tempo de residência, distribuição de alimentação de mosto entre a primeira e a segunda dorna de alimentação e concentração de reciclo de células utilizados para este ensaio foram:

$$T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = 32^\circ\text{C}$$

$$tr_1 = tr_2 = tr_3 = tr_4 = 1,5\text{h}$$

$$Y = 0,25$$

$$XR: 90 \text{ kg/m}^3$$

As figuras 4.2, 4.3, 4.4 e 4.5 correspondem ao comportamento dinâmico de $X_{v,i}$, $X_{d,i}$, S e P nas dornas 1, 2, 3 e 4 respectivamente, frente a uma perturbação no sistema. Como pode ser verificado o programa fornece o comportamento dinâmico de cada dorna e os pontos em que se atinge o estado estacionário. No exemplo em questão, o novo estado estacionário é atingido após aproximadamente 2 horas de fermentação.

Na primeira dorna verifica-se que a concentração de etanol já atingiu aproximadamente 45 kg/m^3 , após estabelecido o novo estado estacionário. Este resultado é interessante, pois se esta concentração fosse muito baixa (conversão menor do que 50%) poderiam ocorrer contaminações na dorna. A concentração de S fica em 43,71, um valor relativamente baixo, como esperado, pois 25% da alimentação de mosto foi para o segundo reator. A concentração de células viáveis e mortas é de 31,51 e 3,69 respectivamente. Na segunda dorna S reduz para 26,24, devido a

formação de etanol, e tem-se uma redução na concentração de células viáveis (27,24) e mortas (3,12), em função da diluição sofrida com a alimentação de mosto, já no caso de P este aumenta para 55,13. Na terceira dorna a concentração de substrato é baixa (6,77) e as células viáveis e mortas tem um incremento (27,68 e 3,28, respectivamente). Na última dorna a concentração de substrato é de somente 1,11, o etanol já atingiu 65,65, a concentração de células viáveis é praticamente constante (27,68) e a de células mortas tem novamente um incremento, como era esperado, em função do aumento da concentração de etanol da terceira para a quarta dorna, passando de 3,28 para 3,46 kg/m³.

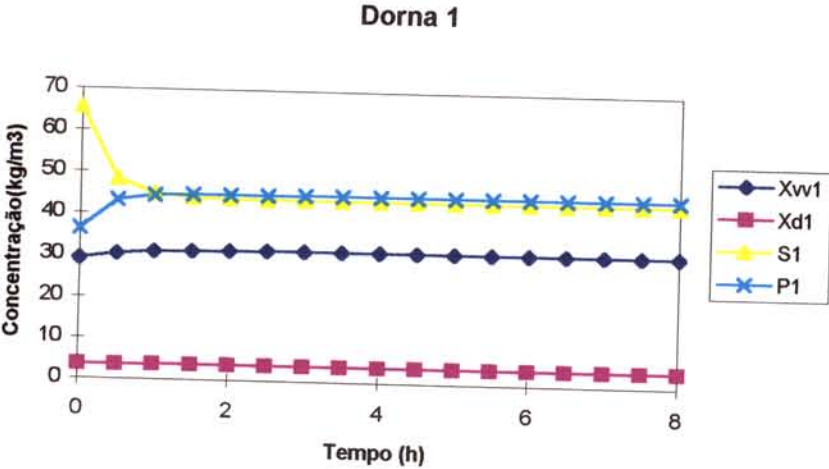


Figura 4.2: Comportamento dinâmico de X_{vv} , X_d , S e P para a dorna 1

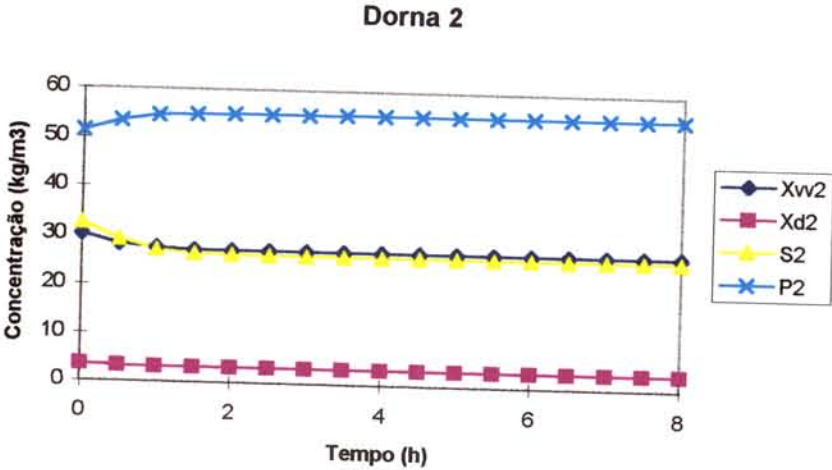


Figura 4.3: Comportamento dinâmico de X_{vv} , X_d , S e P para a dorna 2

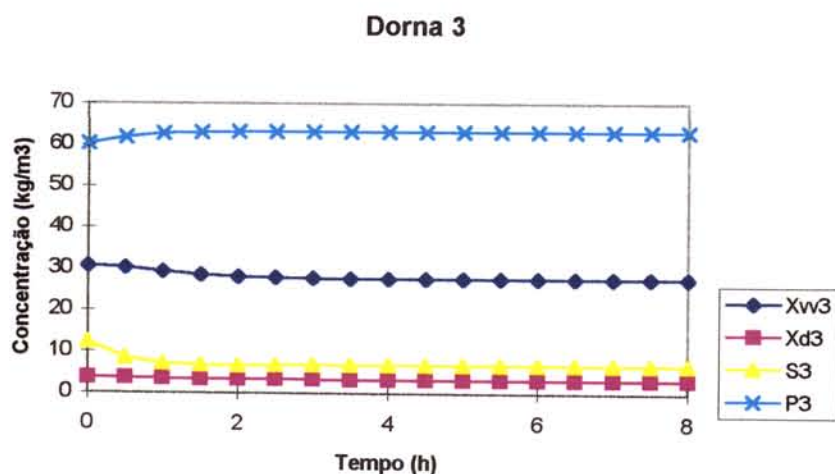


Figura 4.4: Comportamento dinâmico de X_{vv} , X_d , S e P para a dorna 3

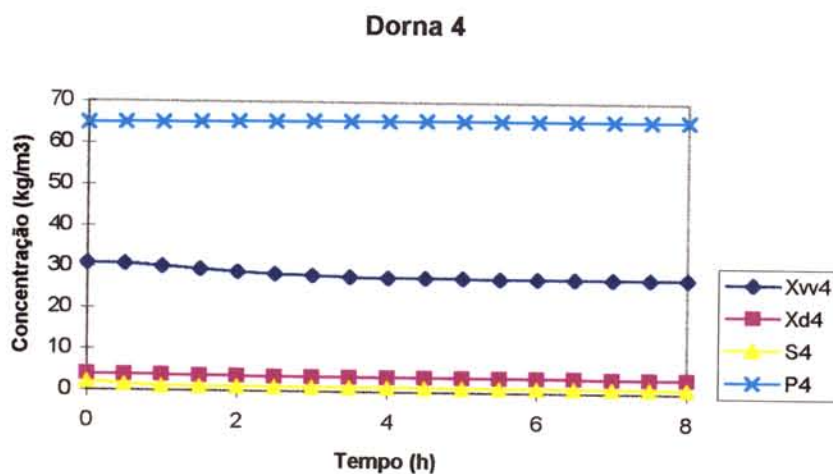


Figura 4.5: Comportamento dinâmico de X_{vv} , X_d , S e P para a dorna 4

A partir das respostas no estado estacionário é que são realizados os cálculos de rendimento e produtividade. No ensaio em questão a produtividade foi de 9,7 g/l.h e o rendimento igual a 86,43%.

4.3 Comparação dos Resultados entre o Modelo Intrínseco e o Não-Intrínseco

No exemplo apresentado no item 4.2 foi utilizado o modelo intrínseco, conforme descrito no capítulo 3. Neste item com a finalidade de comparar os modelos intrínseco e não intrínseco, em um balanço de massa é considerada a fração de volume celular (intrínseco, ensaio 1) e no outro não (não-intrínseco, ensaio 2).

Com respeito aos parâmetros utilizou-se os mesmos do item 4.2. A tabela 4.2 apresenta os resultados obtidos para o substrato e o produto nas quatro dornas para o modelo intrínseco e o não-intrínseco.

Tabela 4.2: Resultados de substrato e produto das 4 dornas para o modelo intrínseco e o não-intrínseco.

Dorna	Modelo Intrínseco		Modelo não-intrínseco	
	S (kg/m ³)	P(kg/m ³)	S (kg/m ³)	P(kg/m ³)
1	43,71	44,94	40,34	45,01
2	26,24	55,13	24,62	55,01
3	6,77	63,28	6,54	63,05
4	1,11	65,65	1,13	65,46

Conforme pode ser verificado na tabela acima a concentração de substrato e produto na quarta dorna são muito similares para os dois modelos, porém saliente-se que o valor obtido para o modelo intrínseco refere-se a concentração na fase abiótica (concentração/vol líquido) e que quando este valor é transformado em concentração da cultura (concentração/vol. total) , as diferenças passam a ser consideráveis. MONBOUQUETE (1992) já havia salientado este fato. Em simulação realizada pelo autor, o mesmo encontrou que a concentração de substrato da cultura no estado estacionário modelado não-intrinsicamente era 101% maior que a concentração de substrato na cultura modelado intrinsicamente. No entanto, a concentração de substrato, no estado estacionário, obtida pelo modelo não-intrínseco, diferia somente 7% da concentração de substrato na fase abiótica.

No exemplo apresentado na tabela 4.2 a concentração de substrato na quarta dorna, obtida pelo modelo não intrínseco difere em apenas 1,8% da concentração de substrato da fase abiótica. No entanto, quando comparada a concentração de substrato da cultura obtida pelo modelo intrínseco e não-intrínseco a diferença aumenta para 5,1%. Este valor é bem menor que aquele encontrado por MONBOUQUETE (1992), isto porque a concentração de células neste exemplo é de 31 g/l, enquanto que no trabalho do autor a concentração utilizada foi de 300 g/l, o que conduz a diferença bem superiores. No entanto, como neste estudo, a concentração celular no reator em algumas simulações será superior a 31 g/l, o modelo intrínseco precisa ser considerado.

No capítulo seguinte são apresentados os resultados das simulações utilizados para avaliação da importância das variáveis do processo.

5 Avaliação da Importância dos Parâmetros de Processo no Rendimento e Produtividade Usando o Método de Plackett-Burman

5.1 Introdução

Como já salientado no item 2.8, a utilização de “screening designs” tem grande importância no estágio inicial de um trabalho experimental ou de simulação. No planejamento de experimentos, muitas vezes, diversas variáveis são consideradas a princípio de grande influência na resposta desejada. Para poder identificar as variáveis realmente importantes, antes de partir para um planejamento fatorial completo, aplica-se o “screening design”.

Os planejamentos propostos por PLACKETT & BURMAN (PB) (1946) mais usuais são para 12, 20, 24, 28 e 36 ensaios, existindo porém para sistemas superiores a 100 variáveis. Eles podem ser usados para qualquer número de fatores ou variáveis de entrada, desde que estes fiquem pelo menos em 1 abaixo do número de ensaios. Apesar disto, é conveniente utilizar um número menor de fatores, que fique pelo menos em 4 abaixo do número de ensaios. As colunas no planejamento, que não possuem variáveis a elas atribuídas, são denominados variáveis inertes e são utilizadas para estimar o erro padrão e assim definir as variáveis estatisticamente significativas através dos efeitos principais de cada uma delas.

Para o processo em estudo neste trabalho haviam 10 variáveis selecionadas para verificar suas influências no rendimento e na produtividade, que eram a temperatura e o tempo de residência das quatro dornas, a concentração de reciclo de células e a distribuição da alimentação do mosto entre a primeira e a segunda dorna de fermentação. Um planejamento completo a 2 níveis (2^{10}) corresponderia a 1024 ensaios, e mesmo sendo um trabalho de simulação, esse número de experimentos inviabiliza sua realização. Por isso optou-se pela metodologia do P-B para uma avaliação prévia da importância das variáveis nas respostas. Como são 10 variáveis, utilizou-se um planejamento de 20 ensaios.

Para aplicar a metodologia do PB é necessário primeiramente estabelecer as faixas de trabalho das variáveis, onde o nível inferior da faixa é denominado -1 e o superior +1. Para estabelecer estas faixas, foram utilizadas as condições operacionais das usinas que trabalham com fermentação contínua, conforme é apresentado na tabela 5.1.

Tabela 5.1: Faixa de valores para o tempo de residência (horas), a temperatura (°C), a razão de alimentação entre o primeiro e o segundo reator e a concentração de células do reciclo (g/l).

	tr ₁	tr ₂	tr ₃	tr ₄	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	Y	XR
nível -1	1,25	1,25	1,25	1,25	30,5	30,5	30,5	30,5	0,0	90
nível +1	2,25	2,25	2,25	2,25	37,5	37,5	37,5	37,5	0,5	120

Na seção seguinte é apresentado o planejamento para 20 ensaios. Para obtenção das respostas de rendimento e produtividade, em cada ensaio, utilizou-se o programa desenvolvido como descrito no capítulo anterior.

5.2 Resultados da Avaliação das Variáveis

A tabela 5.2 apresenta o planejamento proposto por P-B para 20 ensaios e as respostas obtidas de rendimento e produtividade.

De posse dos resultados para cada ensaio da tabela 5.2 foi possível verificar os efeitos de cada variável nas respostas. O cálculo dos efeitos é feito conforme os procedimentos descritos a seguir:

- 1) Fazer a soma em cada coluna das respostas correspondentes a linha de sinal + (Soma+).
- 2) Fazer a soma em cada coluna das respostas correspondentes a linha de sinal - (Soma-).
- 3) Somar Soma + e Soma -, para cada coluna. Todos os valores tem que ser os mesmos (“check”).
- 4) Subtrair Soma - de Soma +, e escrever o valor como “Diferença”.
- 5) Dividir a diferença pelo número de sinais + da coluna correspondente. Este número é o efeito da variável para a coluna correspondente. Porém naquelas colunas das variáveis inertes, este valor é usado para estimar o erro.
- 6) Utilizar o efeito das variáveis inertes para calcular o erro padrão (S_{FE}) dos fatores.

Tabela 5.2: Planejamento experimental baseado no Plackett-Burman de 20 ensaios com as respostas rendimento e produtividade

En	T1	T2	T3	T4	TR1	TR2	TR3	TR4	Y	XR	VI ₁	VI ₂	VI ₃	VI ₄	VI ₅	VI ₆	VI ₇	VI ₈	VI ₉	REND	PROD
1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	86,46	6,19
2	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	85,63	7,64
3	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	81,19	6,53
4	-1	1	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	72,54	7,52
5	1	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	73,26	6,74
6	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	82,40	7,58
7	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	79,84	8,57
8	1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	83,13	8,92
9	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	75,00	10,58
10	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	84,88	9,82
11	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	86,56	7,96
12	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1	86,68	8,50
13	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1	1	86,96	7,76
14	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	86,42	6,96
15	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	78,76	7,24
16	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	79,34	8,22
17	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	74,06	7,68
18	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	71,67	7,03
19	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	85,00	7,24
20	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	86,82	11,18

onde:

VI são as variáveis inertes.

7) Determinar o intervalo de confiança através do valor t_{FE} , que é calculado a partir do valor t (para 95% de confiança, e no caso 9 graus de liberdade) e do S_{FE} .

8) Determinar os efeitos cujo intervalo de confiança não inclua zero, pois estes é que serão os estatisticamente significativos.

As equações para o cálculo de S_{FE} , t_{FE} e dos intervalos de confiança, são como segue:

$$S_{FE} = \sqrt{\frac{(\text{efeito}_{VII}^2 + \text{efeito}_{VII}^2 + + \text{efeito}_{VII}^2)}{u}} \tag{5.1}$$

onde: u é o número de variáveis inertes.

O valor t tabelado para 95% de confiança e 9 graus de liberdade é 2,262

$$t_{FE} = \text{valor t} . S_{FE} \tag{5.2}$$

$$- 95\% \text{ limite de confiança} = \text{Efeito} - t_{FE} \tag{5.3}$$

$$+ 95\% \text{ limite de confiança} = \text{Efeito} + t_{FE} \tag{5.4}$$

A tabela 5.3 apresenta os efeitos das variáveis sobre o rendimento.

Tabela 5.3: Estimativa dos efeitos sobre o rendimento

Var.	Efeito	Erro padrão	valor t(9)	p	-95,% Lim.Conf.	+95,% Lim.Conf
Méd..	81,33000	,579894	140,2498	,000000	80,01819	82,64181
T1	-1,05800	1,159788	-,9122	,385428	-3,68162	1,56562
T2	-3,76800	1,159788	-3,2489	,010015	-6,39162	-1,14438
T3	-4,22600	1,159788	-3,6438	,005369	-6,84962	-1,60238
T4	-6,98600	1,159788	-6,0235	,000197	-9,60962	-4,36238
TR1	,96600	1,159788	,8329	,426445	-1,65762	3,58962
TR2	1,96400	1,159788	1,6934	,124624	-,65962	4,58762
TR3	1,76400	1,159788	1,5210	,162592	-,85962	4,38762
TR4	,63200	1,159788	,5449	,599045	-1,99162	3,25562
Y	-2,30800	1,159788	-1,9900	,077794	-4,93162	,31562
XR	-2,09000	1,159788	-1,8021	,105049	-4,71362	,53362

O valor t de cada variável apresentado na tabela 5.3 é calculado conforme segue:

valor t

da variavel

=

efeito

erro padrao

(5.5)

Na tabela 5.3 os dados em vermelho representam os efeitos significativos, cujos intervalos de confiança não incluem o zero, sobre o rendimento, que são correspondentes a temperatura dos 3 últimos reatores (T₂, T₃ e T₄). De uma maneira geral quando ocorre um incremento de temperatura o rendimento decresce. Este efeito é mais acentuado nos últimos reatores, justamente quando se tem maiores concentrações de etanol, pois conforme colocado por SÁ-CORREIA & VAN UDEN (1986), o etanol acentua a morte térmica.

Os resultados da produtividade são apresentados na tabela 5.4 abaixo:

Tabela 5.4: Estimativa dos efeitos sobre a produtividade

Var.	Efeito	Erro padrão	valor t(9)	p	-95% LimConf.	+95% Lim.Conf.
Méd.	7,99300	,079366	100,7103	,000000	7,81346	8,172539
T1	-,25200	,158732	-1,5876	,146844	-,61108	,107078
T2	-,33000	,158732	-2,0790	,067378	-,68908	,029078
T3	-,61800	,158732	-3,8933	,003656	-,97708	-,258922
T4	-,68800	,158732	-4,3343	,001893	-1,04708	-,328922
TR1	-,98600	,158732	-6,2117	,000157	-1,34508	-,626922
TR2	-1,06000	,158732	-6,6779	,000091	-1,41908	-,700922
TR3	-1,21400	,158732	-7,6481	,000032	-1,57308	-,854922
TR4	-1,20400	,158732	-7,5851	,000034	-1,56308	-,844922
Y	,41200	,158732	2,5956	,028948	,05292	,771078
XR	-,21600	,158732	-1,3608	,206681	-,57508	,143078

Das dez variáveis estudadas, como pode ser observado na tabela 5.4, sete foram significativas estatisticamente para a produtividade: a temperatura do terceiro e do quarto reator, o tempo de residência de cada reator e a distribuição da alimentação de mosto entre a primeira e a

segunda dorna de fermentação. Da mesma maneira que para o rendimento, um acréscimo de temperatura de 30,5°C (-1) para 37,5°C (+1), ocasiona uma redução da produtividade. Para o caso dos tempos de residência ocorre o mesmo, ou seja sua elevação representa perdas na produtividade. O único efeito contrário a estes é a distribuição de alimentação de mosto, onde a medida que a vazão é dividida entre o primeiro e o segundo reator, tem-se ganhos de produtividade.

Para uma melhor visualização destes resultados é apresentado na figura 5.1 os efeitos de cada variável sobre o rendimento e a produtividade.

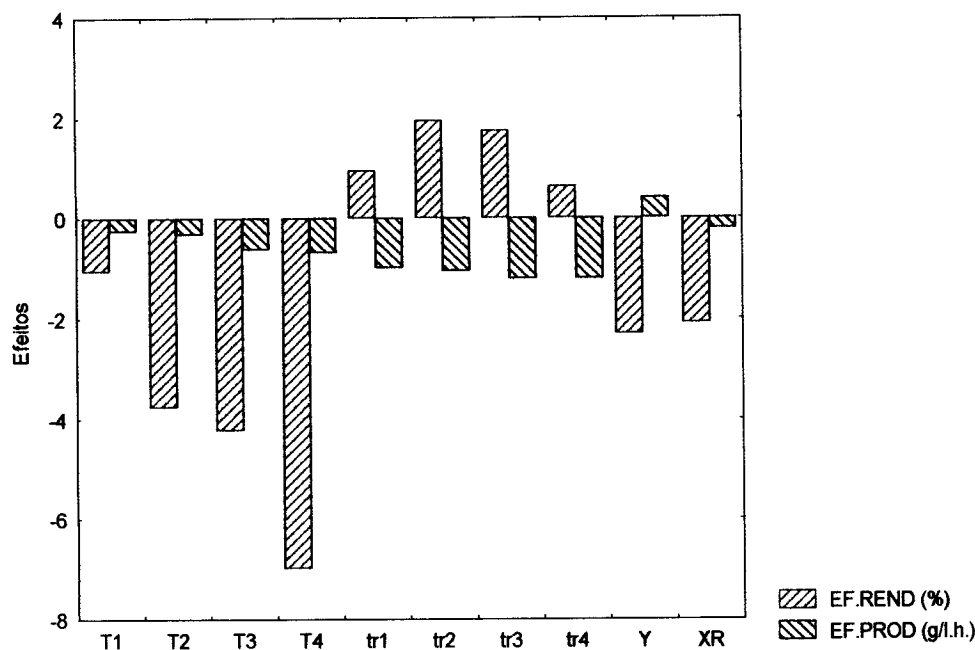


Figura 5.1: Efeitos das variáveis sobre o rendimento e a produtividade

Como pode ser verificado através da figura 5.1 o efeito da temperatura no primeiro reator, tanto para o rendimento como para a produtividade é pequeno, -1,058 e -0,252, respectivamente. Isto representa que dentro da faixa estudada não haverá grandes perdas para as respostas com a elevação da temperatura na primeira dorna. O mesmo não ocorre quando refere-se a temperatura dos demais reatores, principalmente do terceiro e do quarto, onde os efeitos são estatisticamente significativos tanto para a produtividade como para o rendimento. No caso do quarto reator o efeito é de aproximadamente -7% para o rendimento e de -0,69 g/l.h para a produtividade. Isto representa que o aumento da temperatura deste reator pode conduzir a quedas acentuadas nas respostas.

Com respeito ao tempo de residência, este tem um efeito positivo sobre o rendimento, porém em nenhum reator este efeito chega a ser estatisticamente significativo. Isto mostra que o controle das temperaturas é o ponto essencial, pois caso se tenha uma elevação das temperaturas, por exemplo, do terceiro e quarto reatores, ocorrerão perdas elevadas no rendimento, e mesmo que se aumente o tempo de residência para tentar compensar, isto será difícil em função do efeito positivo ser pequeno, como já salientado. Outro ponto a ser considerado, é que ao elevar o tempo de residência de qualquer reator passa-se a ter perdas significativas de produtividade.

Em relação a variável Y, a medida que ocorre alimentação de mosto no segundo reator tem-se redução do rendimento, porém este efeito não chega a ser estatisticamente significativo. A redução no rendimento se deve ao fato do mosto alimentado no segundo reator não ter ainda reagido, o que leva a uma redução na conversão final do substrato do sistema. Por outro lado, tem-se a grande vantagem de ganhos significativos na produtividade.

Ainda analisando a figura 5.1 observa-se que os efeitos advindos da variação de XR não são significativos estatisticamente tanto para a produtividade como para o rendimento e influem negativamente em ambas respostas, ou seja, a medida que aumenta-se a concentração de células do reciclo ocorre, de maneira geral, redução do rendimento e da produtividade. Isto provavelmente ocorre porque neste modelo está sendo considerado tanto a inibição pelas células, quanto a morte celular.

LAFFORGUE *et alii* (1987) já acreditavam que a inibição pela biomassa ou limitação pelo substrato podem levar a não se ter ganhos na produtividade, mesmo com aumento da concentração celular. Em testes de fermentação alcoólica verificaram que obtinham a mesma produtividade trabalhando com 150 kg/m^3 de células e 90% de viabilidade ou com 300 kg/m^3 e 75% de viabilidade. Apesar de ambas concentrações serem bem superiores a deste trabalho ($25\text{-}40 \text{ kg/m}^3$), isto mostra que existe a necessidade de uma otimização no processo para se ter ganhos na produtividade.

CYSEWSKI & WILKE(1978) também colocam que a altas concentrações de açúcar não adianta elevar a concentração celular para aumentar a produtividade, pois a inibição se daria pelo etanol. Quando os autores obtiveram elevada produtividade a altas concentrações celulares foi em fermentação à vácuo. Em fermentação alcoólica, com reciclo, sem injeção de ar, a concentração celular máxima foi de 50 kg/m^3 , que apesar de superior a deste trabalho, não pode ser tomada como padrão, em vista das diferentes condições utilizadas, como cepa da levedura e substrato.

Como a finalidade deste trabalho é obter elevada produtividade sem prejuízo do rendimento, através dos resultados até o momento apresentados, verifica-se que ao otimizar-se a temperatura dos reatores, estar-se-á promovendo um incremento em ambas as respostas. Já a diminuição do tempo de residência e o aumento de Y promovem um ganho de produtividade com a vantagem de não apresentarem maiores efeitos sobre o rendimento. O efeito de XR é pequeno em ambas respostas.

Em vista do acima exposto as variáveis escolhidas para realizar o planejamento fatorial completo, que é apresentado no capítulo 6, a fim de se obter uma otimização do processo foram:

- Para o rendimento utilizou-se as temperaturas dos três últimos reatores por serem as de maior importância e acrescentou-se a variável Y para verificação se realmente não haveria prejuízos no rendimento com seu incremento, já que isto leva a ganhos de produtividade. Já para a variável XR, como seu incremento acarretou redução de ambas respostas, sua inclusão na análise foi para verificar se o valor utilizado atualmente nas usinas é o mais adequado.

- Para a produtividade utilizou-se 5 das 7 variáveis definidas como importantes. Foram excluídas as temperaturas do terceiro e do quarto reatores. Isto se deveu ao fato de que ao se otimizar as mesmas para o rendimento, o mesmo se dará para a produtividade visto que o sentido do efeito é o mesmo.

6 Estudo da Otimização do Processo Através da Metodologia de Análise de Superfície de Resposta

6.1 Introdução

O método de otimização por análise de superfície de resposta tem como base o método de planejamento fatorial, e consiste num grupo de técnicas usadas para o estudo empírico das relações entre uma ou mais respostas medidas analiticamente (por exemplo, rendimento e produtividade) e um número de variáveis de entrada que possam ser controladas. Segundo BOX *et alii* (1978) estas técnicas são usadas para elucidar as seguintes questões:

- como uma resposta é afetada sobre uma região de interesse por um dado conjunto de variáveis de entrada.
- quais conjuntos de variáveis de entrada resultarão num produto dentro das especificações desejadas.
- quais os valores das variáveis de entrada que levarão ao melhor valor para uma resposta específica e como é a superfície de resposta próxima a este ponto.

É importante salientar que um estudo utilizando esta metodologia permite verificar a influência de diversas variáveis, assim como otimizá-las. Isto é obtido com um número bem menor de experimentos que através de metodologias convencionais (tentativa e erro), além de obter-se uma análise mais adequada. Permite assim, explorar o processo numa faixa ampla e a um custo e tempo menores.

Um fato a ser observado é que a metodologia por análise de superfície resposta é uma ótima ferramenta, porém deve estar aliada ao conhecimento do processo, para uma avaliação adequada dos resultados.

Para aplicar o método de análise de superfície de resposta é necessário primeiramente programar ensaios através de um planejamento fatorial. Este método consiste em se selecionar um número fixo de níveis para cada um dos fatores ou variáveis de entrada conforme é feito no PB, porém a faixa não necessita ser exatamente a mesma. Então executam-se experimentos com todas as possíveis combinações. Como primeira etapa é usual um planejamento fatorial com 2 níveis

(nível -1 e nível +1) para cada variável. Assim para “g” variáveis envolvidas no estudo, o número de experimentos que deve ser realizado para investigar todas as combinações possíveis é igual a 2^g . Para estimativa do erro experimental associada aos ensaios, são realizados 3 ensaios nas condições correspondentes às intermediárias entre os 2 níveis atribuídos a cada variável (nível 0 ou Ponto Central).

Com os resultados obtidos do planejamento é possível calcular os efeitos principais e de interação das variáveis sobre as respostas, determinar quais são os efeitos mais significativos e ajustar empiricamente um modelo linear ou de 1ª ordem, correlacionando-se as variáveis e as respostas.

Se o modelo de 1ª ordem não apresentar uma boa correlação com os dados experimentais é possível complementar o planejamento fatorial inicial realizando-se mais $2 \times g$ ensaios segundo configuração “estrela” (KHURI e CORNELL, citado por RODRIGUES, 1993), para obter um modelo quadrático ou de 2ª ordem.

Para obtenção das respostas foi utilizado o mesmo programa em turbo pascal usado no “screening design”, com pequenas modificações, devido a diferença de variáveis de entrada.

6.2 Resultados do Planejamento Fatorial Completo

Para o processo em estudo foi efetuado um planejamento fatorial completo com cinco variáveis tanto para o rendimento quanto para a produtividade. Assim foram realizados 2^5 ensaios para verificação de um modelo linear e mais 10 ensaios distribuídos rotacionalmente (pontos axiais) a uma distância α da condição do ponto central, onde α é definido por:

$$\alpha = \sqrt[4]{2^g} \quad (6.1)$$

onde g é o número de variáveis independentes ou fatores.

Para o trabalho em questão tem-se $g = 5$, $\alpha = 2,38$, portanto para o modelo quadrático são incluídos os níveis -2,38 e +2,38.

Na tabela 6.4 são apresentadas as faixas das variáveis utilizadas para otimizar o rendimento e na tabela 6.5 as faixas para a produtividade.

Tabela 6.1: Faixa de valores para a temperatura (°C), Y e XR (g/l) usados para rendimento

	T ₂	T ₃	T ₄	Y	XR
nível -1	32,3	32,3	32,3	0,14	81,6
nível +1	35,7	35,7	35,7	0,36	98,4
nível 0	34,0	34,0	34,0	0,25	90,0
nível -2,38	30,0	30,0	30,0	0,00	70,0
nível +2,38	38,0	38,0	38,0	0,50	110,0

Tabela 6.2: Faixa de valores para os tempos de residência (h) e Y usados para produtividade

	tr ₁	tr ₂	tr ₃	tr ₄	Y
nível -1	1,55	1,55	1,55	1,55	0,14
nível +1	1,95	1,95	1,95	1,95	0,36
nível 0	1,75	1,75	1,75	1,75	0,25
nível -2,38	1,25	1,25	1,25	1,25	0,00
nível +2,38	2,25	2,25	2,25	2,25	0,50

6.2.1 Rendimento

Definida as faixas das variáveis foi realizado primeiramente o planejamento fatorial completo, tendo como resposta o rendimento. Para isto foram rodados 43 ensaios que estão apresentados na tabela 6.3. Trinta e dois ensaios correspondentes ao modelo linear (2⁵), mais 10 ensaios para completar o modelo quadrático e um ensaio no ponto central.

Para as simulações a temperatura do primeiro reator foi fixada em 34°C. Esta temperatura está dentro das condições operacionais das usinas, sendo que temperaturas inferiores a esta seria difícil de controlar, pois grande parte da reação ocorre neste reator e esta é uma reação exotérmica. Além disso, o grande volume de meio de fermentação exigiria uma grande quantidade

de trocadores de calor a placas. Os tempos de residência de cada reator foram fixados no ponto central, ou seja, em 1,75 horas, totalizando 7 horas de fermentação.

Tabela 6.3: Ensaios utilizados no planejamento fatorial completo.

Ensaio	T2	T3	T4	Y	XR	REND
1	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	86,71
2	1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	86,29
3	-1,00	1,00	-1,00	-1,00	-1,00	85,92
4	1,00	1,00	-1,00	-1,00	-1,00	85,01
5	-1,00	-1,00	1,00	-1,00	-1,00	85,84
6	1,00	-1,00	1,00	-1,00	-1,00	84,60
7	-1,00	1,00	1,00	-1,00	-1,00	83,63
8	1,00	1,00	1,00	-1,00	-1,00	81,62
9	-1,00	-1,00	-1,00	1,00	-1,00	86,54
10	1,00	-1,00	-1,00	1,00	-1,00	86,04
11	-1,00	1,00	-1,00	1,00	-1,00	85,60
12	1,00	1,00	-1,00	1,00	-1,00	84,60
13	-1,00	-1,00	1,00	1,00	-1,00	85,30
14	1,00	-1,00	1,00	1,00	-1,00	83,89
15	-1,00	1,00	1,00	1,00	-1,00	82,68
16	1,00	1,00	1,00	1,00	-1,00	80,97
17	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	1,00	86,55
18	1,00	-1,00	-1,00	-1,00	1,00	85,98
19	-1,00	1,00	-1,00	-1,00	1,00	85,45
20	1,00	1,00	-1,00	-1,00	1,00	84,31
21	-1,00	-1,00	1,00	-1,00	1,00	85,17
22	1,00	-1,00	1,00	-1,00	1,00	83,56
23	-1,00	1,00	1,00	-1,00	1,00	82,35
24	1,00	1,00	1,00	-1,00	1,00	80,16
25	-1,00	-1,00	-1,00	1,00	1,00	86,32
26	1,00	-1,00	-1,00	1,00	1,00	85,65
27	-1,00	1,00	-1,00	1,00	1,00	84,95
28	1,00	1,00	-1,00	1,00	1,00	83,74
29	-1,00	-1,00	1,00	1,00	1,00	84,45
30	1,00	-1,00	1,00	1,00	1,00	82,74
31	-1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	81,29
32	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	79,19
33	-2,38	0,00	0,00	0,00	0,00	86,05
34	2,38	0,00	0,00	0,00	0,00	82,94
35	0,00	-2,38	0,00	0,00	0,00	86,40
36	0,00	2,38	0,00	0,00	0,00	81,60
37	0,00	0,00	-2,38	0,00	0,00	86,36
38	0,00	0,00	2,38	0,00	0,00	80,46
39	0,00	0,00	0,00	-2,38	0,00	85,54
40	0,00	0,00	0,00	2,38	0,00	84,45
41	0,00	0,00	0,00	0,00	-2,38	85,51
42	0,00	0,00	0,00	0,00	2,38	83,53
43 (C)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	84,92

De posse dos resultados de rendimento para cada ensaio, utilizou-se o “Software” “Statistica” (versão 5.0) para obter os efeitos das variáveis, os coeficientes de regressão do

modelo quadrático, a análise da variância do modelo e as superfícies de resposta através do qual foi feita a otimização do processo.

Na tabela 6.4 são apresentados os efeitos principais de cada variável e os de interação sobre o rendimento.

Tabela 6.4: Estimativa dos efeitos no rendimento

Variável	Estimativa Efeitos
T ₂	-1,28
T ₃	-2,14
T ₄	-2,64
Y	-0,58
XR	-0,84
T ₂ e T ₃	-0,26
T ₂ e T ₄	-0,47
T ₂ e Y	-0,01
T ₂ e XR	-0,12
T ₃ e T ₄	-0,82
T ₃ e Y	-0,10
T ₃ e XR	-0,24
T ₄ e Y	-0,23
T ₄ e XR	-0,37
Y e XR	-0,08

Os cinco primeiros efeitos da tabela acima correspondem aos efeitos principais das variáveis, que correspondem a média dos efeitos na resposta devido a mudança da variável da faixa -1 para +1. Isto significa, por exemplo, que se T₂ passar de 32,3°C para 35,7°C, a resposta, no caso o rendimento, cai em média 1,28%. A mesma avaliação pode ser feita para as demais variáveis.

Os efeitos principais confirmam os resultados do Plackett-Burman, onde as temperaturas dos três reatores finais são as variáveis mais importantes para análise do rendimento.

Sendo o princípio do planejamento fatorial uma análise multivariável, se existir interação entre elas, será possível a sua quantificação. Isto significa que ao variar, por exemplo, a temperatura de -1 para +1, a mudança na resposta pode não ser a mesma dependendo assim da variação dos outros fatores. No estudo em questão, isto pode ser verificado através dos efeitos de interação, que são os dez últimos apresentados na tabela 6.4. Salienta-se que o efeito de interação envolvendo as temperaturas T_3 e T_4 é tão importante quanto o efeito principal de Y.

A importância do efeito da temperatura na fermentação alcoólica já havia sido verificada por ANDRIETTA (1994), que ao estudar a sensibilidade de alguns parâmetros do processo constatou que a temperatura de entrada do fluido de resfriamento era o que tinha maior influência sobre o rendimento. Isto, segundo o autor, porque a cinética do processo é bastante sensível à variação da temperatura de operação e qualquer variação na temperatura de entrada da água de resfriamento causa uma grande variação na temperatura de operação.

Na tabela 6.5 encontram-se os coeficientes de regressão para o modelo quadrático. É importante salientar que os parâmetros obtidos são para o modelo descodificado (real).

Tabela 6.5: Coeficientes de regressão para o modelo quadrático

Varia.	Coef.Regress	Erro Padrão	valor t(22)	p	-95,% Lim Conf	+95,% Lim Conf
Med/Inters.	-462,136	25,84083	-17,8839	,000000	-515,727	-408,545
(1)T2 (L)	6,137	,54350	11,2918	,000000	5,010	7,264
T2 (Q)	-,027	,00683	-3,8967	,000776	-,041	-,012
(2)T3 (L)	10,472	,54350	19,2679	,000000	9,345	11,599
T3 (Q)	-,058	,00683	-8,4231	,000000	-,072	-,043
(3)T4 (L)	14,580	,54350	26,8261	,000000	13,453	15,707
T4 (Q)	-,094	,00683	-13,8182	,000000	-,109	-,080
(4)Y (L)	31,945	5,27776	6,0527	,000004	20,999	42,890
Y (Q)	1,127	1,74941	,6445	,525931	-2,501	4,756
(5)XR (L)	1,008	,08173	12,3332	,000000	,839	1,178
XR (Q)	-,001	,00027	-3,6580	,001384	-,002	-,000
1L by 2L	-,045	,00546	-8,1962	,000000	-,056	-,033
1L by 3L	-,082	,00546	-14,9669	,000000	-,093	-,070
1L by 4L	-,037	,08441	-,4355	,667411	-,212	,138
1L by 5L	-,004	,00111	-3,9595	,000666	-,007	-,002
2L by 3L	-,142	,00546	-26,0535	,000000	-,154	-,131
2L by 4L	-,277	,08441	-3,2864	,003369	-,452	-,102
2L by 5L	-,008	,00111	-7,5230	,000000	-,011	-,006
3L by 4L	-,608	,08441	-7,2063	,000000	-,783	-,433
3L by 5L	-,013	,00111	-11,6013	,000000	-,015	-,011
4L by 5L	-,041	,01708	-2,3757	,026650	-,076	-,005

onde:

L é o coeficiente do termo linear e Q é o coeficiente do termo quadrático

Os valores em vermelho são os dados estatisticamente significativos, observe-se que Y quadrático e T₂ x Y podem ser eliminados do modelo. O valor do erro está muito elevado frente ao coeficiente de regressão.

O modelo obtido com o planejamento foi de 2ª ordem e segue a equação genérica abaixo:

$$Z = b_0 + \sum_{i=1}^5 b_i y_i + \sum_{i=1}^5 b_{ii} y_i^2 + \sum_{i=1}^4 \sum_{j=2}^5 b_{ij} y_i y_j \quad (6.2)$$

onde:

Z é a resposta, b_0 , b_i , b_{ii} e b_{ij} são os coeficientes do modelo e y_i e y_j são as variáveis.

O modelo final obtido pela regressão e que correlaciona o rendimento em função de T2, T3, T4, Y e XR é o que segue:

$$\begin{aligned} \text{Rend} = & -462,136 + 6,137.T_2 - 0,027.T_2^2 + 10,472.T_3 - 0,058.T_3^2 \\ & + 14,58.T_4 - 0,094.T_4^2 + 31,945.Y + 1,008.XR - 0,001.XR^2 - 0,045.T_2.T_3 \\ & - 0,082.T_2.T_4 - 0,004.T_2.XR - 0,142.T_3.T_4 - 0,277.T_3.Y - 0,008.T_3.XR \\ & - 0,608.T_4.Y - 0,013.T_4.XR - 0,041.Y.XR \end{aligned} \quad (6.3)$$

Para avaliação do desempenho do modelo, conforme colocado por BARROS-NETO *et alii* (1995), inicialmente analisa-se os desvios das observações com respeito a média global. Isto pode ser feito pela Soma Quadrática Total (SQ_T), expresso conforme segue:

$$SQ_T = \sum (\text{valor obs} - \text{valor medio})^2 \quad (6.4)$$

SQ_T compreende a soma quadrática devido à regressão (SQ_R) e devido ao resíduo (Sq_r). Estes resultados e mais alguns encontram-se na tabela denominada Tabela de Análise de Variância ou ANOVA (tabela 6.6).

A percentagem de variação explicada é dada por:

$$\% \text{ de variação explicada} = \frac{SQ_R}{SQ_T} \quad (6.5)$$

No modelo em estudo obteve-se um valor de % de variação explicada igual a 0,99892.

A previsão adequada do modelo pode ser melhor visualizada pela figura 6.1, onde são apresentados os valores observados versus os previstos. Como pode ser verificado não existem regiões onde o modelo não seja aplicado. Todos os pontos observados encontram-se praticamente sobre a reta dos previstos

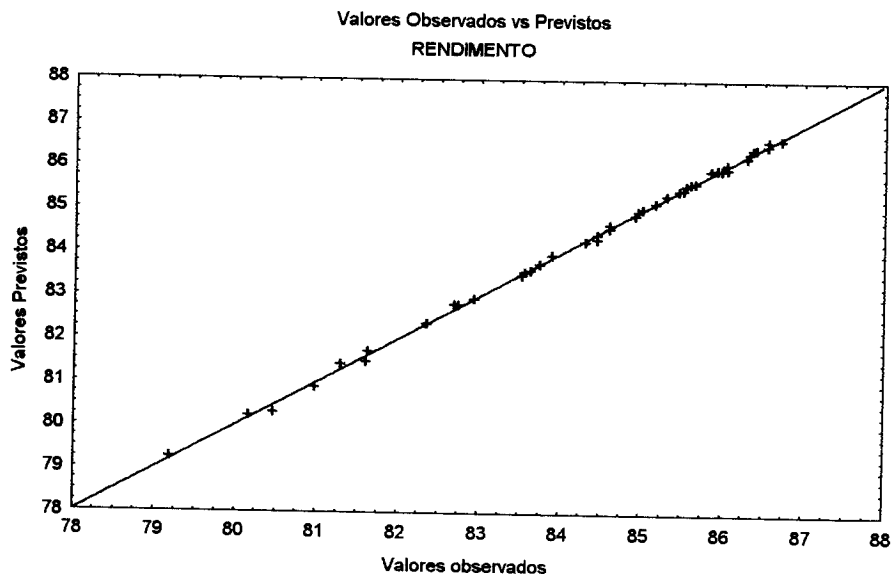


Figura 6.1: Valores observados versus previstos

Tabela 6.6: Tabela ANOVA para o Rendimento

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	162,845	20 (j-1)	8,0951	1015,69
Resíduos	0,1754	22 (s-j)	0,00797	
Total	163,0204			
% de variação explicada = 99,892				
$F_{0,99;20;22} = 2,83$				

De modo a verificar se o modelo explica uma quantidade significativa da variação nos dados experimentais ou de simulação, pode-se utilizar o teste F de significância. Para isto, compara-se os valores de F estimados a partir dos dados experimentais com o valor tabelado de uma distribuição de frequência de referência $F_{\delta,j-1,s-j}$. O fundamento do teste consiste em verificar se a hipótese nula é válida, ou seja, se as modificações introduzidas nas condições experimentais não tiveram nenhum efeito nos resultados obtidos e as variações nos valores destes resultados foram exclusivamente à fatores aleatórios. O teste F pode ser expresso segundo a equação abaixo:

$$\text{Teste F} = \frac{MQ_R}{MQ_r} \quad (6.6)$$

onde:

MQ_R é a média quadrática da regressão

MQ_r é a média quadrática do resíduo

j é o número de parâmetros do modelo

s é o número total de observações (ensaios)

δ nível de significância

Como o valor tabelado de F para 99% de confiança foi de 2,83, bem inferior ao valor obtido com o modelo, a hipótese nula é rejeitada ao nível δ de significância, e pode-se afirmar que a quantidade de variação devido ao modelo é significativamente maior que a variação não explicada, e o modelo é considerado válido.

Assim, sendo o modelo quadrático válido, é possível gerar as superfícies de resposta para todas as combinações possíveis de variáveis, totalizando 10 figuras que serão analisadas para definir as faixas ótimas de operação para otimização do rendimento do processo.

Em todas as superfícies, as variáveis que não estão plotadas são fixadas no ponto central. É relevante ressaltar que o rendimento máximo que pode ser atingido é de 87,08%, conforme já esclarecido no capítulo 3.

As figuras 6.2 a, b, c e d apresentam as superfícies de resposta para o rendimento em função de T_2 e T_3 , T_2 e T_4 , T_2 e Y e T_2 e XR , respectivamente.

Observando-se o gráfico T_2 vs T_3 verifica-se que quanto menores são as temperaturas maior é o rendimento. A resposta é mais sensível a variações de T_3 quando T_2 é elevado e em menor intensidade quando T_2 é baixo, e o inverso também ocorre, ou seja, quando T_3 é elevado o rendimento torna-se mais sensível a variações de T_2 do que quando T_3 é baixo. Quando T_3 está entre 30 - 31°C, o rendimento não é inferior a 85,5%, para toda a faixa de T_2 . Se porém T_2 for baixo, ao redor de 30-31°C, e T_3 variar de 30 a 38°C o rendimento pode cair para 83,5%. Logo, se há necessidade de uma temperatura ser fixada em valor baixo é melhor que seja T_3 . É

interessante portanto trabalhar com baixas temperaturas no reator 3, ao redor de 30°C e assim é possível manter o reator 2 em 32°C, sem prejuízos para o rendimento.

No gráfico T_2 vs T_4 verifica-se o mesmo comportamento do anterior. Se mantido T_4 em 30°C, não ocorre queda do rendimento, independente da temperatura de T_2 . Saliente-se que isto é importante, pois o controle de T_4 é mais fácil que de T_2 , visto que no último reator a quantidade de calor liberado pela reação exotérmica é bem menor que no segundo reator devido a conversão de substrato em etanol já ser menor. Se por outro lado, T_2 estivesse em 30°C e T_4 variasse até 38°C o rendimento pode cair para 83,5%. Uma situação crítica é T_4 a elevadas temperaturas (38°C), pois qualquer que seja T_2 o rendimento estará prejudicado.

Analisando T_2 vs Y constata-se que em qualquer temperatura fixada o rendimento não irá variar mais do que 1% ao longo de toda faixa de Y . Isto confirma o resultado obtido com o Plackett Burman, ou seja, a alimentação de mosto no segundo reator não tem grande influência no rendimento. No entanto, se for verificada a influência da temperatura, ver-se-á que para um valor fixo de Y , ao variar T_2 de 30 para 38°C, o rendimento pode cair de 3 a 4%.

A análise da figura 6.2 c) (T_2 vs XR) mostra que o aumento na concentração de células provoca uma redução no rendimento quando T_2 é elevado, se T_2 for baixo 30-32°C, XR praticamente não influi no rendimento. Caso a temperatura T_2 esteja ao redor de 32°C, XR poderá variar de 70 até 90g/l sem perdas no rendimento.

As figuras 6.2 e, f, g e h contêm as superfícies de resposta do rendimento em função de T_3 e T_4 , T_3 e Y , T_3 e XR , T_4 e Y , respectivamente.

No gráfico de rendimento em função de T_3 e T_4 tem-se uma ampla faixa onde o rendimento é elevado, quando T_3 e T_4 encontram-se entre 30 e 33°C. Se no entanto T_3 ou T_4 for elevado (38°C) o rendimento será bem mais sensível as variações de temperaturas da outra dorna.

Através da figura 6.2 f) (T_3 vs Y) verifica-se que a distribuição de alimentação de mosto entre a primeira e a segunda dorna de fermentação não influi no rendimento. Qualquer que seja a faixa de temperatura usada, ao variar-se Y o rendimento é praticamente constante. O responsável pelo decréscimo do rendimento é o aumento da temperatura T_3 , independentemente da

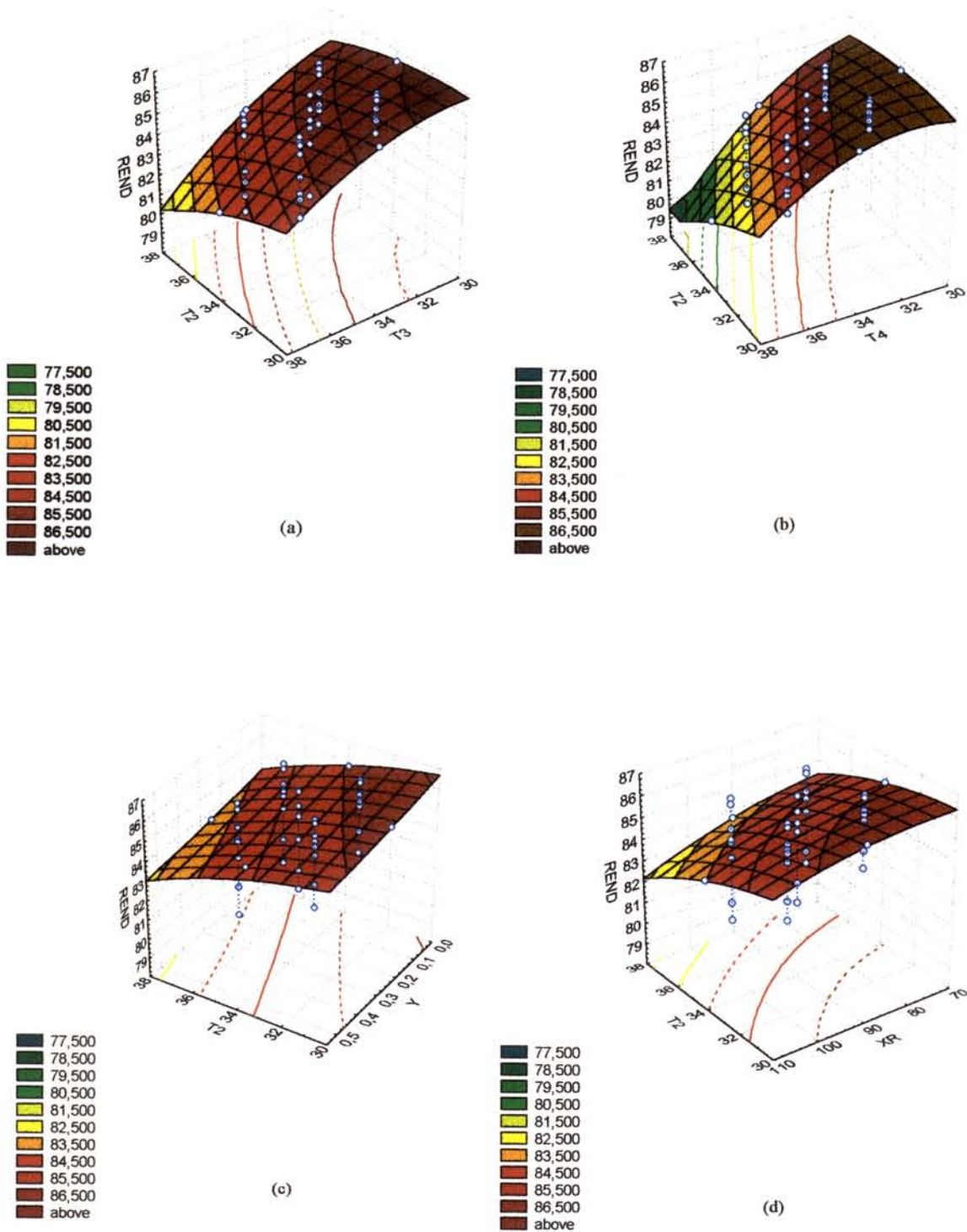


Figura 6.2: Superfícies de resposta do rendimento em função de
a) T_2 e T_3 , b) T_2 e T_4 , c) T_2 e Y , d) T_2 e XR

distribuição de alimentação entre o primeiro e o segundo reator.

A análise de T_3 vs XR mostra que trabalhando-se com baixas temperaturas no terceiro reator, na ordem de 30-31°C, XR pode variar ao longo de toda faixa sem prejuízos do rendimento. No entanto, a medida que aumenta T_3 o rendimento cai mais acentuadamente a valores de XR altos e mais suavemente para valores de XR entre 70 a 90 g/l.

O gráfico de T_4 vs Y mostra novamente que Y praticamente não influi na resposta, confirmando as observações anteriores. Portanto é vantagem como já salientado, à nível de produtividade, poder trabalhar com o valor de Y elevado.

As figuras 6.2 i e j apresentam as superfícies de resposta do rendimento em função de T_4 e XR e Y e XR.

Como observa-se em T_4 vs XR, para baixas temperaturas tem-se praticamente o mesmo rendimento qualquer que seja o valor de XR. Existe uma pequena tendência para maiores rendimentos quando o valor de XR é menor. Se no entanto T_4 for elevado, o rendimento é mais sensível as mudanças de XR, caindo a medida que este aumenta.

No gráfico de Y vs XR pode verificar-se que ao trabalhar com baixos valores de XR, o valor de Y não irá influenciar em mais do que 1% no rendimento. A utilização de XR na ordem de 70 a 90 g/l é um valor adequado.

A partir das superfícies de resposta é possível analisar o comportamento do processo, definir faixas de operação que levam ao máximo de rendimento, verificar condições críticas ou de restrições do processo que indicam uma necessidade de controle operacional (temperatura das dornas). Assim, para o processo em questão pode-se estabelecer os seguintes parâmetros:

- A temperatura do primeiro reator em 34°C seria adequada. Como esta variável não influi grandemente no rendimento é preferível mantê-la não muito baixa, pois a maior parte da reação ocorre no primeiro reator, sendo mais oneroso seu controle a baixa temperatura.

- A temperatura do segundo reator deveria estar em 30°C, pois quanto menor, maior o rendimento. Porém, o efeito de T_2 não é tão grande quanto o de T_3 e T_4 , podendo-se assim elevá-la para 32°C sem prejuízos para o rendimento, o que beneficia a nível de controle de processo, já que no 2º reator ainda tem-se boa liberação de calor.

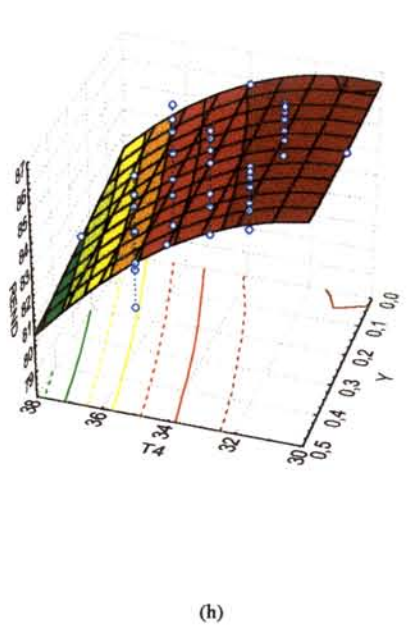
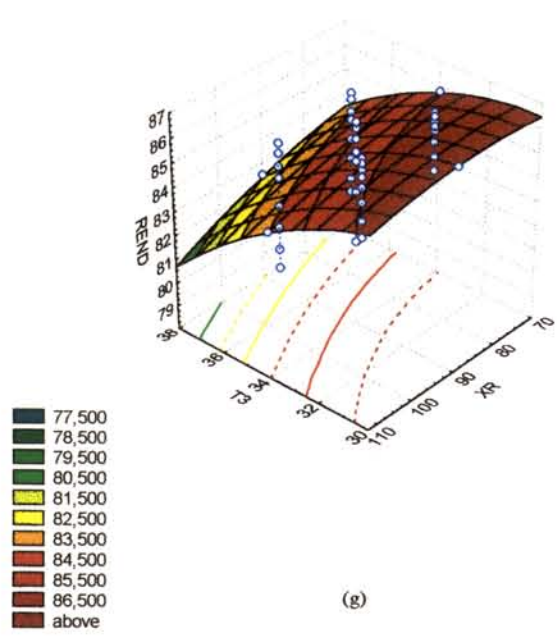
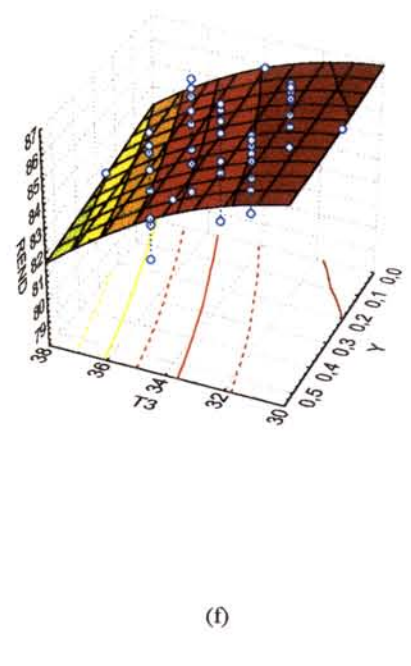
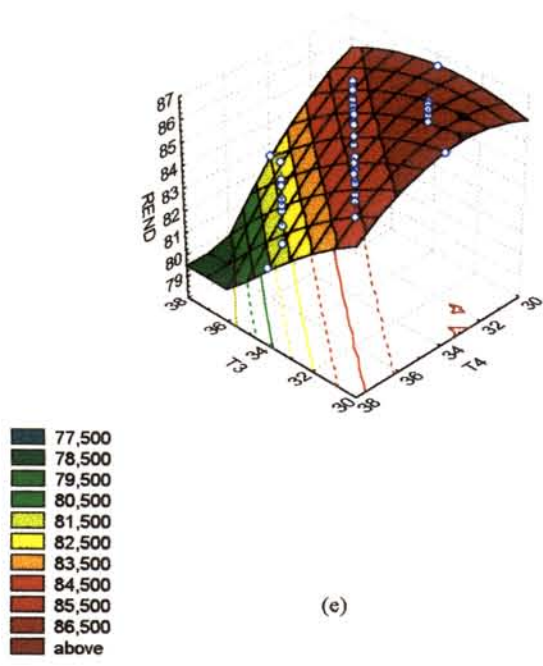


Figura 6.2: Superfícies de resposta do rendimento em função de
e) T_3 e T_4 , f) T_3 e Y , g) T_3 e XR e h) T_4 e Y

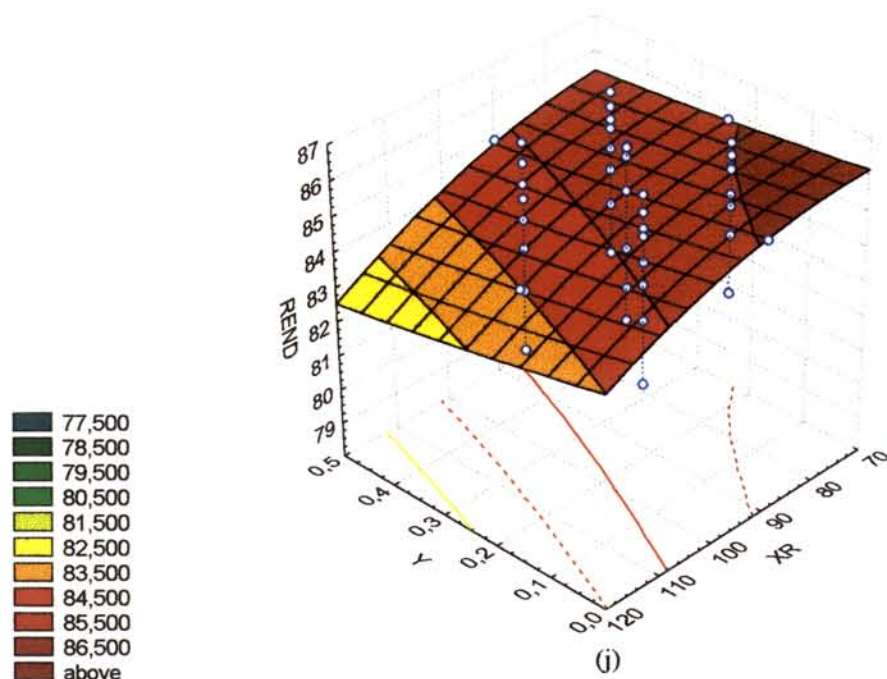
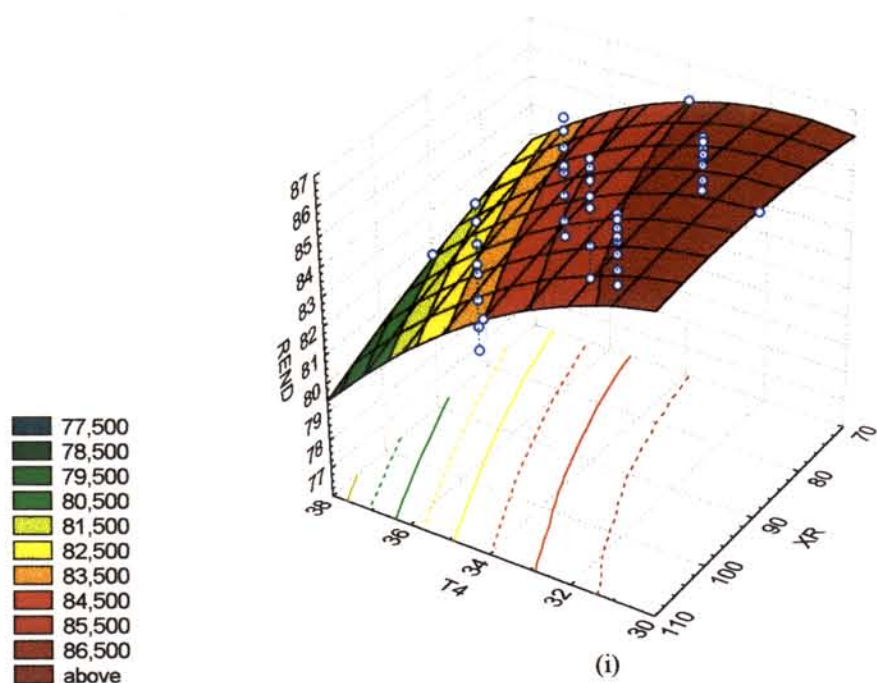


Figura 6.2: superfícies de resposta do rendimento em função de
i) T_4 e XR e j) Y e XR

- A temperatura do terceiro e do quarto reator devem estar no limite inferior da faixa, pois são as variáveis que mais influem, já que nestes reatores a concentração de etanol é mais elevada. A vantagem é que decresce a taxa de reação nos reatores finais sendo mais fácil o controle de temperatura diminuindo a área de trocador de calor. A necessidade de manter estes reatores com baixas temperaturas vem de encontro aos estudos de SÁ-CORREIA & VAN-UDEN (1986), onde com o incremento de temperatura o etanol estaria potencializando a morte térmica.

- O valor de Y para manter o rendimento elevado deve ser baixo, ao redor de 0,1. Porém praticamente não ocorrem reduções trabalhando-se com valores de Y maiores, o que justifica um valor na ordem de 0,5, devido aos ganhos na produtividade como veremos no item 6.2.2.

- O valor de XR deve estar entre 70 e 90 g/l, porém como atualmente utiliza-se nas usinas 90 g/l, conforme colocado por ANDRIETTA (1994), devido ao desempenho das unidades separadoras e à quantidade de água adicionada na unidade de tratamento ácido, este valor será mantido.

Para confirmar a análise feita nas superfícies com respeito a Y e XR, foram feitas primeiramente algumas simulações para $Y = 0,1$ e $Y = 0,5$ nas condições abaixo:

$$T_1 = 34^{\circ}\text{C}, T_2 = 32^{\circ}\text{C}, T_3 = 30^{\circ}\text{C}, T_4 = 30^{\circ}\text{C} \text{ e } XR = 90 \text{ g/l}$$

Para $Y = 0,1$, obteve-se:

Rendimento: **86,95%**

Produtividade: **8,14 g/l.h.**

Para $Y = 0,5$, obteve-se:

Rendimento: **86,85%**

Produtividade: **8,75 g/l.h.**

A diferença no rendimento é praticamente desprezível. Já para a produtividade ocorre um aumento de **7,5%** com respeito ao valor inicial. Isto mostra que não há problemas em se utilizar valores de Y elevados.

A outra variável avaliada foi a concentração de células. Novamente realizou-se duas simulações onde as temperaturas foram as mesmas usadas anteriormente e $Y = 0,1$, sendo que XR em um teste foi de 80 g/l e no outro foi de 90 g/l.

Para $XR = 80$ g/l, obteve-se:

Rendimento: **86,97%**

Produtividade: **8,14 g/l.h.**

Para $XR = 90$ g/l, obteve-se:

Rendimento: **86,95%**

Produtividade: **8,14 g/l.h.**

Aqui novamente as diferenças são desprezíveis, tanto para o rendimento quanto para a produtividade, o que justifica utilizar XR em 90 g/l, já que este é o valor aplicado pelas usinas atualmente, como comentado anteriormente.

A título de ilustração, havendo estabelecido os valores de trabalho do processo foi feito um comparativo dos resultados através do modelo obtido pelo planejamento fatorial, ou seja rendimento em função das variáveis (eq. 6.3) e da simulação, cujo modelo matemático foi obtido através dos balanços de massa e equações cinéticas.

Os valores utilizados para as variáveis foram:

$T_1 = 34^\circ\text{C}$, $T_2 = 32^\circ\text{C}$, $T_3 = 30^\circ\text{C}$, $T_4 = 30^\circ\text{C}$, $Y = 0,5$ e $XR = 90$ g/l

Pelo modelo probabilístico o rendimento é igual a **86,89%**

Pela modelo determinístico o rendimento é igual a **86,85%**

A concordância dos valores está muito boa, o que era esperado em função do alto percentual de variação explicada do modelo.

6.2.2 Produtividade

Após o estudo feito com o rendimento partiu-se para a otimização da produtividade. Para tanto, foi realizado um trabalho similar ao rendimento. Para o planejamento fatorial completo foi utilizada a mesma sequência de ensaios apresentados na tabela 6.3, sendo que agora as variáveis foram os tempos de residência de cada reator e a alimentação de mosto entre o primeiro e o segundo reator e a resposta foi a produtividade. As faixas de valores utilizadas para as variáveis são apresentadas na tabela 6.2. As demais variáveis foram fixadas nos valores estabelecidos para otimização do rendimento, ou seja T₂ a 32°C, T₃ a 30°C, T₄ a 30°C e XR a 90 kg/m³.

As respostas de produtividade obtidas para o planejamento estão apresentadas na tabela 6.7

Tabela 6.7: Valores de produtividade do planejamento fatorial completo.

Ensaio	Prod (g/l.h.)		Ensaio	Prod (g/l.h.)
1	9,24		22	8,60
2	8,73		23	8,47
3	8,68		24	8,10
4	8,22		25	9,01
5	8,68		26	8,59
6	8,22		27	8,47
7	8,17		28	8,10
8	7,77		29	8,47
9	8,67		30	8,10
10	8,22		31	7,99
11	8,17		32	7,66
12	7,77		33	8,90
13	8,17		34	7,88
14	7,77		35	9,02
15	7,73		36	7,78
16	7,36		37	9,02
17	9,62		38	7,78
18	9,15		39	9,03
19	9,01		40	7,78
20	8,59		41	8,00
21	9,01		42	8,75
			43(C)	8,36

Utilizando-se o “Software Statistica” obteve-se os efeitos de cada variável, os coeficientes de regressão do modelo quadrático, a análise da variância do modelo e as superfícies de resposta para a produtividade.

Na tabela 6.8 são apresentados os efeitos principais sobre a produtividade.

Tabela 6.8: Estimativa dos efeitos principais e de interação sobre a produtividade

Variável	Efeito	Variável	Efeito	Variável	Efeito
tr ₁	-0,41	tr ₁ e tr ₂	0,02	tr ₂ e tr ₄	0,03
tr ₂	-0,50	tr ₁ e tr ₃	0,02	tr ₂ e Y	-0,02
tr ₃	-0,50	tr ₁ e tr ₄	0,02	tr ₃ e tr ₄	0,03
tr ₄	-0,50	tr ₁ e Y	0,02	tr ₃ e Y	-0,02
Y	0,34	tr ₂ e tr ₃	0,03	tr ₄ e Y	-0,02

Os resultados estão em acordo com aqueles obtidos no PB, onde os efeitos principais dos tempos de residências são similares e o de Y, apesar de ser menor não pode ser desprezado.

Na tabela 6.9 são apresentados os coeficientes de regressão do modelo quadrático. Os valores em vermelho são os dados estatisticamente significativos.

Tabela 6.9: Coeficientes de regressão do modelo quadrático

Variav.	Coef. Regres	Erro Padrão	valor t(22)	p	-95% Lim..Conf.	+95% Lim..Conf
Med/Inter.	23,85287	,315650	75,5675	,000000	23,19825	24,50748
(1)TR1 (L)	-3,09411	,111736	-27,6913	,000000	-3,32584	-2,86239
TR1 (Q)	,11133	,024845	4,4810	,000186	,05980	,16285
(2)TR2 (L)	-3,44955	,111736	-30,8724	,000000	-3,68127	-3,21782
TR2 (Q)	,15133	,024845	6,0910	,000004	,09980	,20285
(3)TR3 (L)	-3,45440	,111736	-30,9158	,000000	-3,68613	-3,22268
TR3 (Q)	,15133	,024845	6,0910	,000004	,09980	,20285
(4)TR4 (L)	-3,58639	,111736	-32,0971	,000000	-3,81812	-3,35467
TR4 (Q)	,17133	,024845	6,8960	,000001	,11980	,22285
(5)Y (L)	3,05392	,153998	19,8310	,000000	2,73455	3,37329
Y (Q)	,21206	,100077	2,1190	,045618	,00451	,41961
1L by 2L	,28906	,022858	12,6458	,000000	,24166	,33647
1L by 3L	,30469	,022858	13,3294	,000000	,25728	,35209
1L by 4L	,30469	,022858	13,3294	,000000	,25728	,35209
1L by 5L	,41193	,041561	9,9116	,000000	,32574	,49812
2L by 3L	,35156	,022858	15,3801	,000000	,30416	,39897
2L by 4L	,38281	,022858	16,7472	,000000	,33541	,43022
2L by 5L	-,46875	,041561	-11,2787	,000000	-,55494	-,38256
3L by 4L	,36719	,022858	16,0636	,000000	,31978	,41459
3L by 5L	-,44034	,041561	-10,5952	,000000	-,52653	-,35415
4L by 5L	-,44034	,041561	-10,5952	,000000	-,52653	-,35415

A percentagem de variação explicada obtida foi 99, 995%

O modelo final obtido segue a equação (6.7) e correlaciona a produtividade com o tempo de residência de cada reator e a alimentação de mosto entre o primeiro e o segundo reator, conforme apresentado abaixo:

$$\begin{aligned} \text{Prod} = & 23,85287 - 3,09411 \cdot \text{tr}_1 + 0,11133 \cdot \text{tr}_1^2 - 3,44955 \cdot \text{tr}_2 \\ & + 0,15133 \cdot \text{tr}_2^2 - 3,4544 \cdot \text{tr}_3 + 0,15133 \cdot \text{tr}_3^2 - 3,58639 \cdot \text{tr}_4 + 0,17133 \cdot \text{tr}_4^2 \\ & + 3,05392 \cdot Y + +0,21206 \cdot Y^2 + 0,28906 \cdot \text{tr}_1 \cdot \text{tr}_2 + 0,30469 \cdot \text{tr}_1 \cdot \text{tr}_3 \\ & + 0,30469 \cdot \text{tr}_1 \cdot \text{tr}_4 + 0,41193 \cdot \text{tr}_1 \cdot Y + 0,35156 \cdot \text{tr}_2 \cdot \text{tr}_3 + 0,38281 \cdot \text{tr}_2 \cdot \text{tr}_4 \\ & - 0,46875 \cdot \text{tr}_2 \cdot Y + 0,36719 \cdot \text{tr}_3 \cdot \text{tr}_4 - 0,44034 \cdot \text{tr}_3 \cdot Y - 0,44034 \cdot \text{tr}_4 \cdot Y \end{aligned} \tag{6.7}$$

A análise de variância para o modelo encontra-se na tabela 6.10.

Tabela 6.10: Tabela ANOVA para a produtividade

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	11,42037	20	0,5711	21151,85
Resíduos	0,00059	22	0,000027	
Total	11,42096			
% de variação explicada = 99,995				
$F_{0,99;20;22} = 2,83$				

O valor tabelado de F é o mesmo apresentado para a análise do rendimento, visto que j e s são idênticos. Logo para 99% de confiança F é de 2,83, bem inferior ao calculado (21151,85), assim pode-se considerar o modelo perfeitamente adequado.

Para definir as condições ótimas de trabalho, de modo a se obter alta produtividade sem perdas do rendimento, foram construídas as superfícies de resposta tanto para a produtividade como para o rendimento em função dos tempos de residência de cada reator e da distribuição de alimentação do mosto entre a primeira e a segunda dorna de fermentação. A importância de se ter as superfícies de ambas as respostas é que as mesmas fornecem uma idéia se as modificações feitas para otimizar a produtividade conduzirão ou não a prejuízos no rendimento.

Para a análise das superfícies de resposta foram realizadas todas as possíveis combinações entre as 5 variáveis distribuídas como segue apresentado na tabela 6.11:

Tabela 6.11: Lista de figuras das superfícies de resposta para otimização da produtividade

Variáveis	Produtividade	Rendimento
$tr_2 \times tr_1$	Figura 6.3 (a)	Figura 6.3 (b)
$tr_3 \times tr_1$	Figura 6.3 (c)	Figura 6.3 (d)
$tr_4 \times tr_1$	Figura 6.3 (e)	Figura 6.3 (f)
$Y \times tr_1$	Figura 6.3 (g)	Figura 6.3 (h)
$tr_3 \times tr_2$	Figura 6.3 (i)	Figura 6.3 (j)
$tr_4 \times tr_2$	Figura 6.3 (k)	Figura 6.3 (l)
$Y \times tr_2$	Figura 6.3 (m)	Figura 6.3 (n)
$tr_4 \times tr_3$	Figura 6.3 (o)	Figura 6.3 (p)
$Y \times tr_3$	Figura 6.3 (q)	Figura 6.3 (r)
$Y \times tr_4$	Figura 6.3 (s)	Figura 6.3 (t)

Como pode ser observado na figura 6.3 a) para menores tempos de residência, tanto do primeiro como do segundo reator, ocorre um incremento da produtividade. Quando ambos tempos de residência são de 1,25h a produtividade pode ficar acima de 9,4 g/l.h. Se por outro lado ocorrer uma elevação para 2,25h, na primeira e na segunda dorna, a produtividade cairá para 7,57g/l.h, o que corresponde a uma redução de aproximadamente 25%. Quando observa-se o efeito da variação dos tempos de residência sobre o rendimento (figura 6.3 b) constata-se que praticamente não ocorre mudança desta resposta, como pode ser verificado pela superfície praticamente plana. Quando os tempos de residência são de 1,25h o rendimento é de 86,8%, ao passarem para 2,25h o rendimento vai para acima de 86,9% (o máximo é de 87,08%). Um ganho muito pequeno frente as perdas que se tem de produtividade quando eleva-se o tempo de residência.

Ao analisar-se a figura 6.3 c) e d) observa-se que o comportamento é praticamente idêntico as figuras 6.3 a) e b). Uma diminuição dos tempos de residência do primeiro e do terceiro

reatores conduz a elevados ganhos de produtividade, sem praticamente reduzir o rendimento. Novamente poderia ter-se os dois reatores (1º e 3º) com tempos de residência de 1,25h, isto levaria a uma produtividade de 9,44 g/l.h e um rendimento elevado de 86,8%.

As figuras 6.3 e) e f) apresentam as variações na produtividade e no rendimento, respectivamente, quando se varia o tempo de residência do primeiro e do quarto reatores. Qualquer que seja o tempo de residência dos reatores o rendimento não fica abaixo de 86,9%. Como já salientado anteriormente, neste caso é vantagem mantê-los em 1,25h, pois isto conduz a elevada produtividade.

Analisando-se a figura 6.3 g) (Y vs tr_1) verifica-se que a variável Y tem um efeito positivo sobre a produtividade, ou seja, a medida que mais mosto é alimentado no segundo reator a produtividade aumenta. A região onde Y é igual a 0,5 e tr_1 é de 1,25h fornece a maior produtividade, no valor de 9,09 g/l.h. Este efeito da variável Y já havia sido verificado no capítulo 5, através do “screening design”. Novamente constata-se que ao varrer toda faixa de valores de Y e de tr_1 , não ocorrem quase variações do rendimento (figura 6.3 h), podendo-se assim optar pela faixa de valores mais apropriadas para a produtividade, que já foram colocadas anteriormente (Y=0,5 e tr_1 =1,25).

Como pode ser observado nas demais figuras, seja variando o tempo de residência dos reatores ou a distribuição de alimentação de mosto entre o primeiro e o segundo reator, o comportamento obtido é muito próximo aos anteriores, já discutidos. Todos os gráficos tendo como resposta a produtividade apresentam o mesmo comportamento, ou seja, a produtividade tem um grande incremento ao ocorrer uma redução do tempo de residência e no caso da variável Y, a maior produtividade se dá quando Y é igual a 0,5. Em todos os gráficos a variação da pior situação (tempos de residência na ordem de 2,25) para a melhor (1,25) leva a um incremento de no mínimo 1,464 g/l.h na produtividade, o que representa aproximadamente 20% com respeito ao menor valor.

Se, por outro lado, for avaliado o rendimento, ver-se-á que a variação é muito baixa, quase independente do tempo de residência, ou seja, baixos tempos de residência não conduziram a rendimentos inferiores a 86,8%. Para Y a situação é a mesma, com valores de Y elevados (0,5) ou baixos (0-0,1), o rendimento é praticamente o mesmo. É importante, no entanto, salientar que em cada gráfico somente duas variáveis estão variando e as demais estão fixas. Isto significa que

se levarmos todas as variáveis para a situação mais positiva à produtividade, a perda no rendimento pode ser um pouco maior.

Para verificar qual seria o resultado de um ensaio onde todos os tempos de residência fossem de 1,25h e o valor de Y igual a 0,5, que corresponde a melhor situação para a produtividade, foi realizada uma simulação com estes parâmetros, mantendo os valores de temperatura e XR nos pontos definidos na avaliação anterior (item 6.2.1) para o rendimento.

Obteve-se com este ensaio:

Produtividade: 12,06 g/l.h.

Rendimento: 86,28%

Se for feito um comparativo entre este ensaio e outro já apresentado, onde $Y = 0,1$, os tempos de residência no ponto central e mantendo as demais condições, ocorreu um incremento de **3,92 g/l.h.** na produtividade, o que corresponde a **48,16%**, e uma redução de apenas 0,67% no rendimento. Se comparado com o rendimento máximo possível de ser obtido (87,08%) a redução foi de 0,8%.

ANDRIETTA (1994) obteve, após estabelecido o processo e otimizar a distribuição do volume total para cada estágio, uma produtividade de 7,936 g/l.h e uma conversão de 99,3%. Na otimização realizada neste trabalho, utilizando o mesmo “design” de ANDRIETTA, a conversão obtida foi praticamente a mesma (99,1%), porém a produtividade foi **52%** superior.

Como resultado da otimização da produtividade o volume do primeiro, segundo, terceiro e quarto reatores, em relação ao volume total, ficou em 17,8%, 27,4%, 27,4% e 27,4%, respectivamente. O volume total foi de 651,8 m³ e o valor de Y de 0,5.

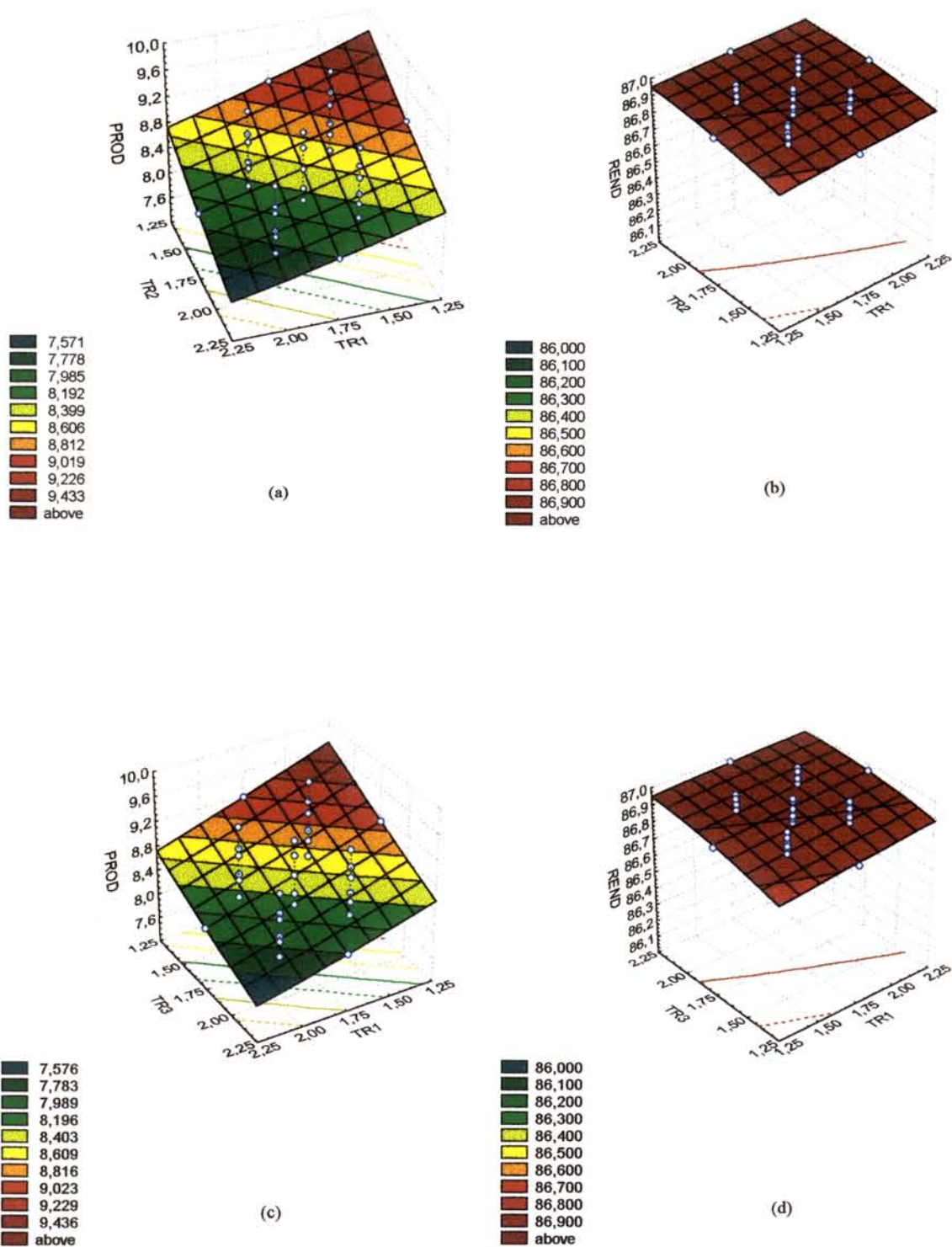


Figura 6.3: Superfícies de resposta da produtividade e do rendimento em função de a) e b) tr_2 e tr_1 , c) e d) tr_3 e tr_1

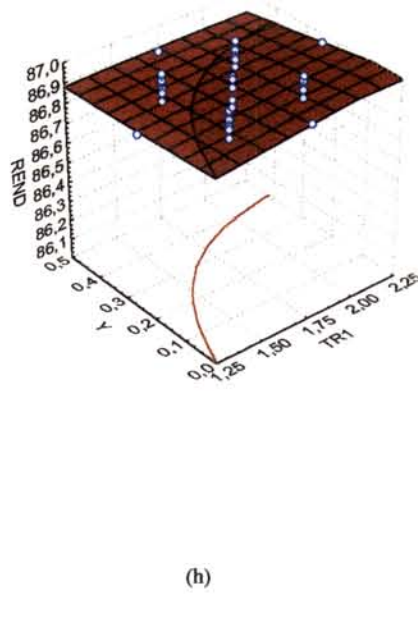
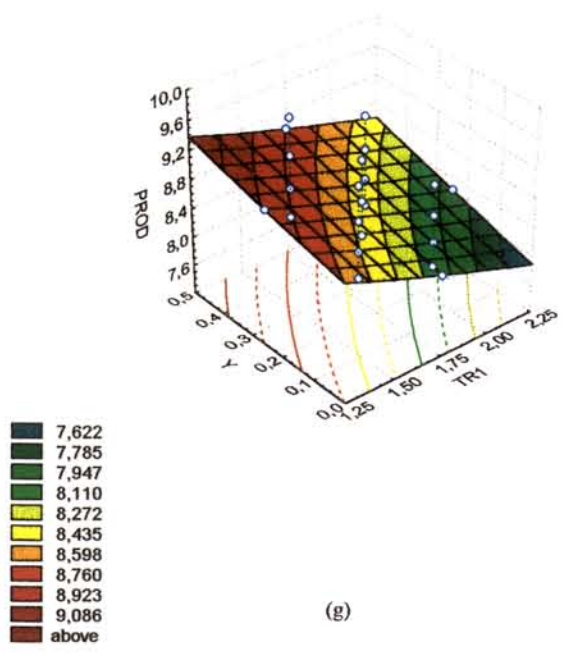
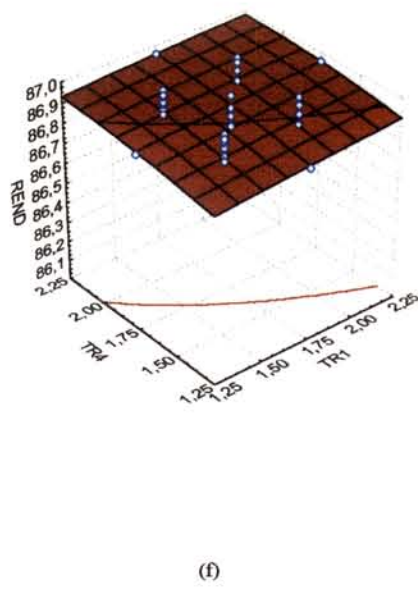
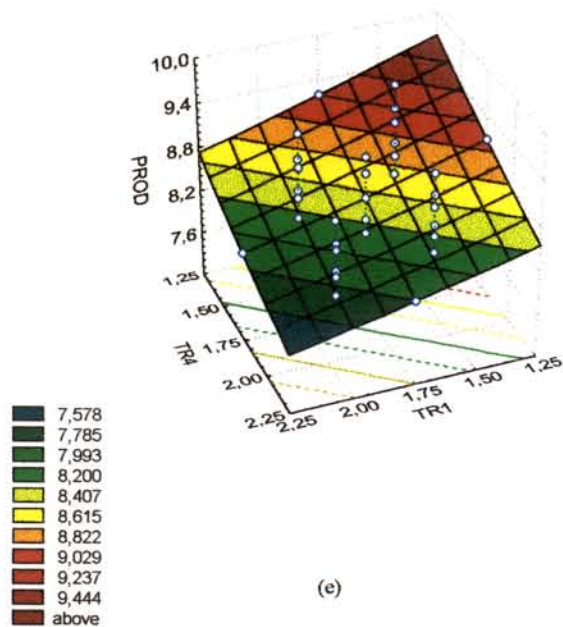


Figura 6.3: Superfícies de resposta da produtividade e do rendimento em função de e) e f) tr_4 e tr_1 , g) e h) Y e tr_1

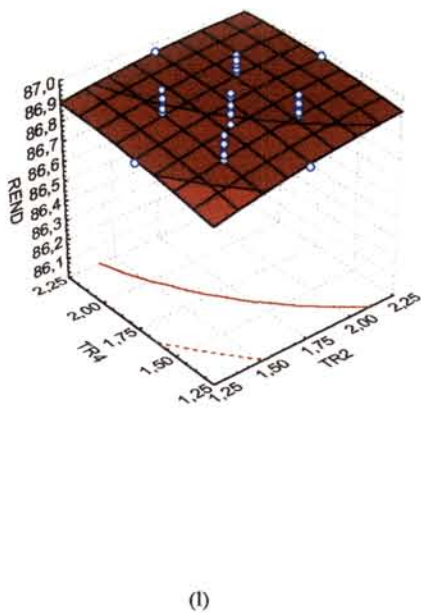
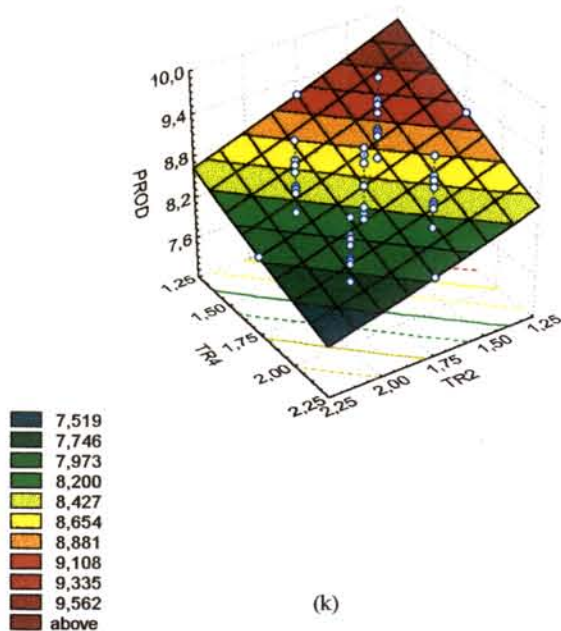
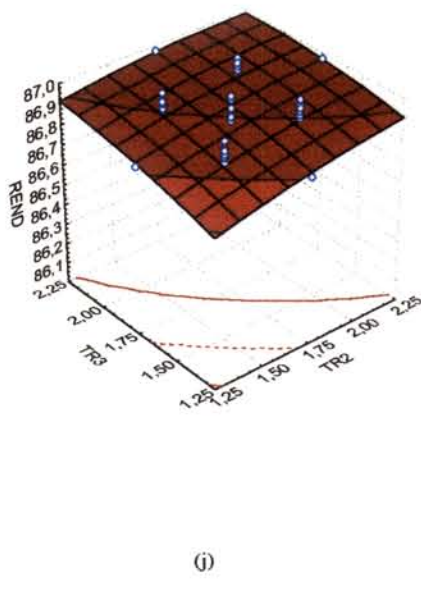
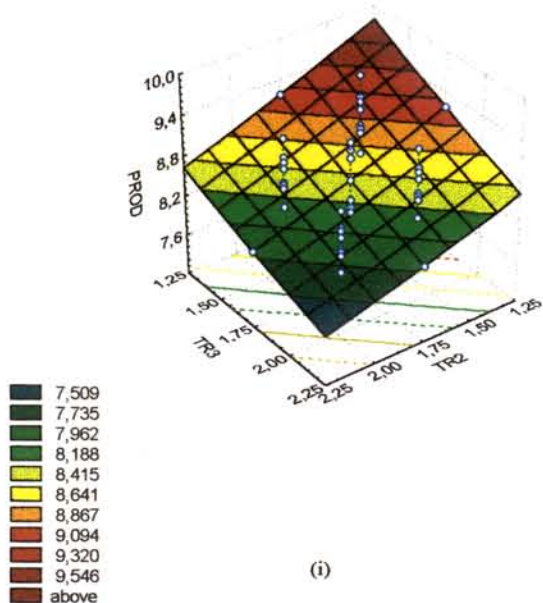


Figura 6.3: Superfícies de resposta da produtividade e do rendimento em função de i) e j) tr_3 e tr_2 e k) e l) tr_4 e tr_2

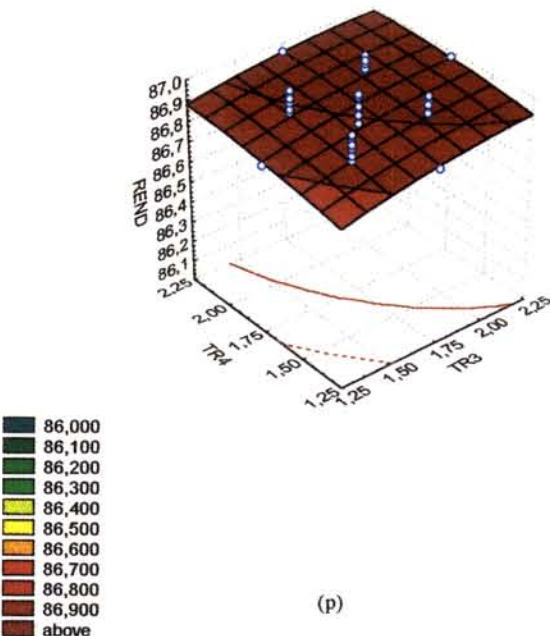
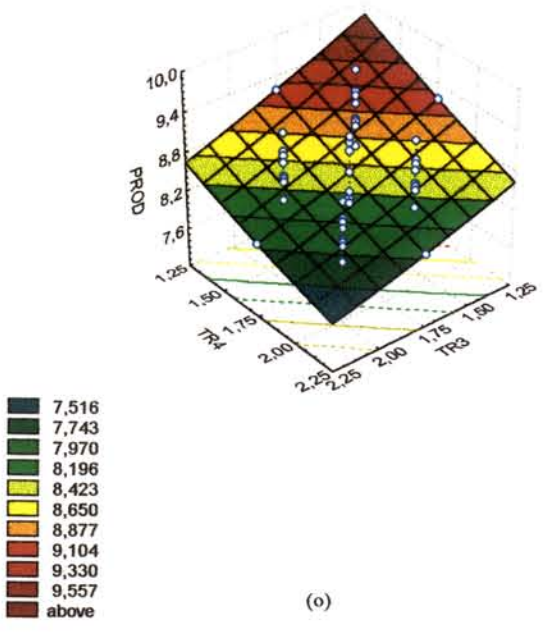
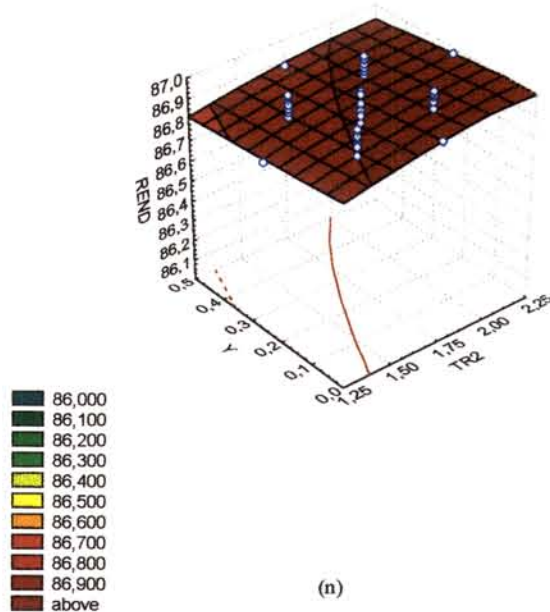
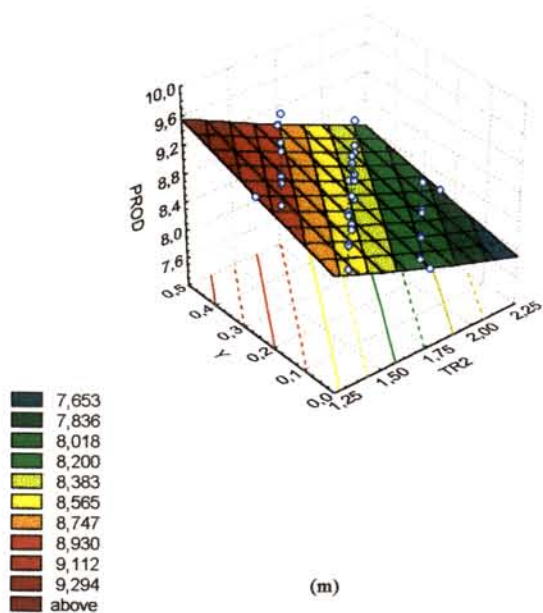


Figura 6.3: Superfícies de resposta da produtividade e do rendimento em função de m) e n) Y e tr_2 e o) e p) tr_4 e tr_3

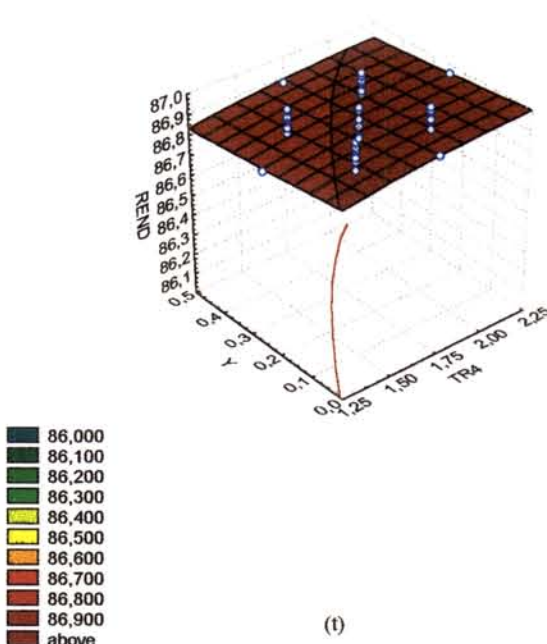
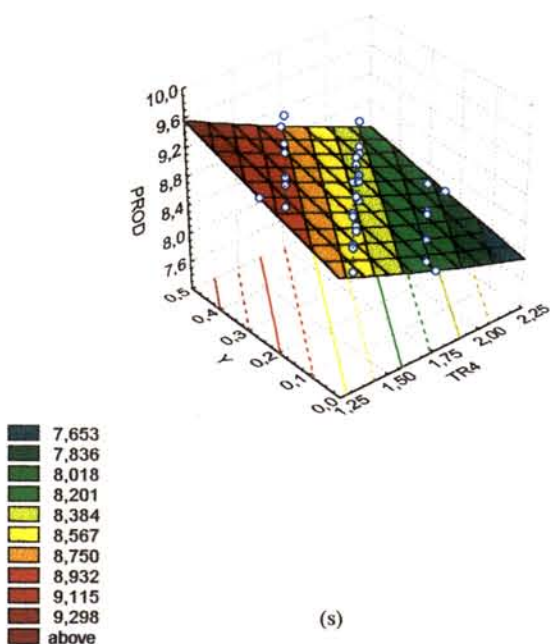
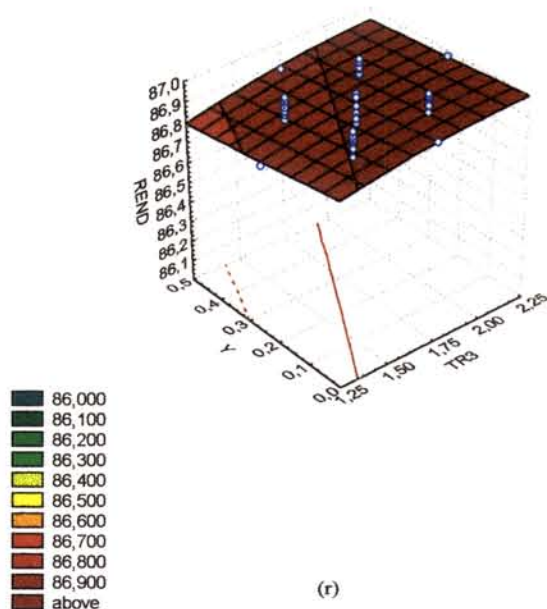
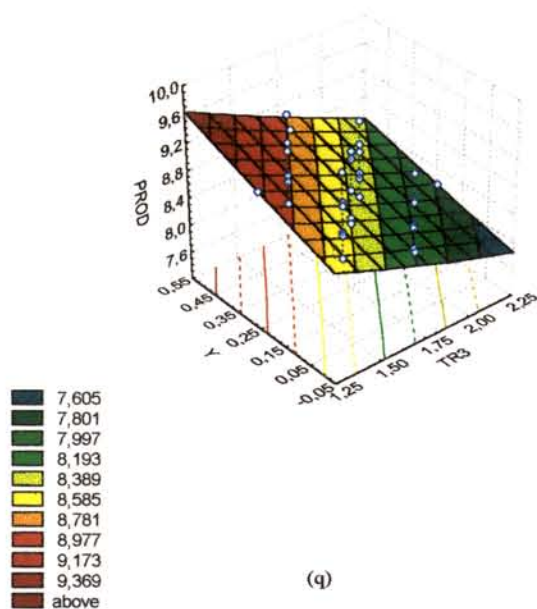


Figura 6.3: Superfícies de resposta da produtividade e do rendimento em função de q) e r) Y e tr_3 e s) e t) Y e tr_4

7 Conclusões

O modelo matemático desenvolvido através de balanços de massa e equações cinéticas forneceu importantes informações sobre o comportamento do processo no estado estacionário e dinâmico. A utilização de um modelo matemático intrínseco permite trabalhar com alta concentração celular, ou estudar sua variação dentro de amplas faixas. Além disto é uma ferramenta para a seleção de variáveis importantes ao processo, bem como otimização do mesmo.

A metodologia baseada na teoria de PLACKETT-BURMAN (1946) foi muito importante para estabelecer previamente as variáveis mais relevantes para a otimização do rendimento e produtividade do processo. As variáveis de maior influência no rendimento foram as temperaturas das 3 últimas dornas e para a produtividade as temperaturas das duas últimas dornas, os quatro tempos de residência e a distribuição de alimentação do mosto entre a primeira e a segunda dorna de fermentação. Tanto o rendimento como a produtividade são afetados negativamente pelo incremento de temperatura. O aumento do tempo de residência nas dornas provoca também uma diminuição da produtividade, porém o incremento de alimentação de mosto ao segundo reator afeta positivamente a produtividade.

O método de planejamento experimental fatorial e análise de superfície de resposta mostrou-se útil na otimização do processo. Através dele estabeleceu-se as condições de operação para obter elevada produtividade sem prejuízos do rendimento. Trabalhando-se com temperatura da primeira dorna em 34°C, na segunda de 32°C, na terceira e na quarta de 30°C, com uma distribuição de alimentação de mosto de 50% entre a primeira e a segunda dorna, com uma concentração de células no reciclo de 90 kg/m³ e com tempos de residência de cada reator de 1,25h (totalizando 5 horas) obtem-se um rendimento de 86,28% (99,1% de conversão) e uma produtividade de 12,06 g/l.h, o que corresponde a um ganho de 48,16% em relação ao processo não otimizado para esta resposta. Além de se estabelecer as condições ótimas de operação é possível também prever as respostas em termos de rendimento e produtividade frente a alguma perturbação no sistema. Isto é muito interessante não só para melhorar o conhecimento do processo, prevendo o que pode ocorrer, como também para fornecer informações muito úteis a trabalhos futuros como estratégia de controle operacional.

8 Sugestões para Trabalhos Futuros

- Devido as controvérsias sobre a concentração de etanol intracelular é importante realizar um estudo mais sistemático deste parâmetro ao longo das diferentes dornas, para que o mesmo possa ser utilizado com mais segurança num estudo análogo ao que foi desenvolvido neste trabalho.

- Usar a metodologia estabelecida neste trabalho com os expoentes dos termos de inibição pelo etanol e pelas células, bem como a concentração máxima de células, uma vez que eles tenham sido obtidos experimentalmente nas mesmas condições de tipo de substrato, cepa do microrganismo e faixa de temperatura de trabalho que foram usadas na determinação dos demais parâmetros cinéticos (K_s , $\mu_{\text{máx}}$, K_d , $P_{\text{máx}}$).

- Avaliar a influência da distribuição de alimentação do mosto entre o primeiro, o segundo e o terceiro reator.

9 Referências Bibliográficas

- 01- ABRAHAM, B.; KLAUSHOFER, H. Ethanol production from Jerusalem artichoke by *K. marxianus*: influence of culture parameters on seed yeast quality. **Yeast**, Perugia, special issue 5, p. 187-191, apr., 1989.
- 02- ALVES, J. G. L. F. **Estudo da influência da temperatura na cinética de crescimento anaeróbico de *Saccharomyces cerevisiae***. Campinas, 1996. 69p. Tese (Mestre em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- 03- ANDRIETTA, S.R.; STUPIELLO, J.P. Simulação e modelagem para processos de fermentação alcoólica (II) contínua. **Stab Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 9, n. 1/2, p. 45-51, set./dez., 1990.
- 04- ANDRIETTA, S.R. **Modelagem, simulação e controle de fermentação alcoólica contínua em escala industrial**. Campinas, 1994. 178p. Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- 05- ANDRIETTA, S.R.; MAUGERI F.F. Optimum design of a continuous fermentation unit of an industrial plant for alcohol production. In: Galindo, E.; Ramirez, O. T., eds. **Advances in bioprocess engineering**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994. p. 47-52.
- 06- BAILEY, J. E.; OLLIS, D. F. **Biochemical engineering fundamentals**. 2. ed. New York: McGraw-Hill International Editions, 1986. 984p.
- 07- BAZUA, C. D.; WILKE, C. R. Ethanol effects on the kinetics of a continuous fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology and Bioengineering Symposium**, New York, v. 7, p. 105-118, 1977.
- 08- BEAVEN, M. J.; CHARPENTIER, C.; ROSE, A. H. Production and tolerance of ethanol in relation to phospholipid fatty-acyl composition in *Saccharomyces cerevisiae* NCYC 431. **Journal of General Microbiology**, London, v. 128, n. 7, p. 1447-1455, july, 1982.

- 09- BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for experimenters**. New York: Editora Wiley, 1978. 652 p.
- 10- BOWMAN, L.; GEIGER, E. Optimization of fermentation conditions for alcohol production. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 26, n. 12, p. 1492-1497, dec., 1984.
- 11- CARIOCA, J. O. B.; SELVAM, P. V.; ROCHA, E. S. Análise e perspectivas de processos de fermentação alcoólica. In: SEMINÁRIO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSAS, 2. 1985, Fortaleza. **Anais**. p. 198-213.
- 12- CARVALHO, B. S.; ALVES, J. G. L. F.; MAUGERI-FILHO, F. Modelagem de fermentação alcoólica em função da temperatura. In: **Simpósio Nacional de Fermentações**, 11. 1996, São Carlos. **Anais**. Universidade Federal de São Carlos, 1996, v. 2. p. 658-663.
- 13- CHEN, S. L. Optimization of batch alcoholic fermentation of glucose syrup substrate. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 23, n. 8, p. 1827-1836, aug., 1981.
- 14- CORDENUNSI, B. R.; DA SILVA, R. S. F.; SRIVASTAVA, K. C.; FABRE-SANCHES, S.; PERRE, M. A. Mathematical model for the alcoholic fermentation in batch culture: comparison between complete and incomplete factorial (3^3) designs. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v.2, p. 1-12, 1985.
- 15- CYSEWSKI, G. R.; WILKE, C. R. Rapid ethanol fermentations using vacuum and cell recycle. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v.19, n. 8, p. 1125-1143, aug., 1977.
- 16- CYSEWSKI, G. R.; WILKE, C. R. Process design and economic studies of alternative fermentatin methods for the production of ethanol. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 20, n. 9, p. 1421-1444, sept., 1978.
- 17- DALE, M. C.; CHEN, C.; OKOS, M. R. Cell growth and death rates as factors in the long-term performance, modeling, and design of immobilized cell reactors. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 36, n. 10, p. 983-992, dec. 5, 1990.

- 18- D'AMORE, T.; STEWART, G. G. Ethanol tolerance of yeast. **Enzyme and Microbial Technology**, Stoneham, v. 9, n. 6, p. 322-330, june, 1987.
- 19- DASARI, G.; KESHAVERZ, E.; CONNOR, M. A.; PAMMENT, N. B. A reliable method for detecting the intracellular acumulation of fermentation products: application to intracellular ethanol analysis. **Biotechnology Letters**, Kew, v. 7, n. 8, p. 541-546, aug., 1985.
- 20- DAVIES K. W. Design of experiments for predictive microbial modeling. **Journal of Industrial Microbiology**, Amsterdam, v. 12, n. 3-5, p. 295-300, 1993.
- 21- DOMBEK, K. M.; INGRAM, L. O. Determination of the intracellular concentration of ethanol in *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation. **Applied and environmental Microbiology**, Washington D. C., v. 51, n. 1, p. 197-200, jan., 1986.
- 22- DOURADO, A.; GOMA, G.; ALBUQUERQUE, U.; SEVELY, Y. Modeling and static optimization of the ethanol production in a cascade reactor. I. Modeling. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 29, n. 2, p. 187-194, feb. 5, 1987.
- 23- DU PONT QUALITY MANAGEMENT SERVICES. **Strategy of experimentation planning and analyzing efficient experiments**. Wilmington, 1988.
- 24- FINGUERUT, J.; CÉSAR, A. R. P.; LEIMER, K. H.; ROSSEL, C. E. V. Fermentação contínua em múltiplos estágios. **Stab Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 10, n. 3, p. 41-42, jan./fev., 1992.
- 25- GHOSE, T. K.; TYAGI, R. D. Rapid ethanol fermentation of cellulose hydrolysate. II. Product and substrate inhibition and optimization of fermentor design. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 21, n. 8, p. 1401-1420, aug., 1979b.
- 26- JARZEBSKI, A. B.; MALINOWSKI, J. J.; GOMA, G. Modeling of the ethanol fermentation at high yeast concentration. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 34, n. 9, p. 1225-1230, nov., 1989.

- 27- JU, L. K.; HO, C. S. Correlation of volume fractions with cell concentrations in fermentation media. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 32, n. 1, p. 95-99, june 20, 1988.
- 28- KHURI, A. I.; CORNELL, J. A. **Responses Surfaces - Designs and Analyses**. New York: ASQC Quality Press, 1987. 405p.
- 29- MILAGRES, M. F. A.; LACIS, L. S. Efficient screening of process variables in *Penicillium janthinellum* fermentations. **Biotechnology Letters**, Kew, v. 13, n. 2, p. 113-118, jan 22, 1991.
- 30- LAFFORGUE, C.; MALINOWSKI, J.; GOMA, G. High yeast concentration in continuous fermentation with cell recycle obtained by tangencial microfiltration. **Biotechnology Letters**, Kew, v. 9, n. 5, p. 347-352, 1987.
- 31- LEE, J. M.; POLLARD, J. F.; COULMAN, G. A. Ethanol fermentation with cell recycling: computer simulation. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 25, n. 2, p. 497-511, feb., 1983.
- 32- LEGMANN, R.; MARGALITH, P. Ethanol formation by hybrid yeast. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 23, n. 3/4, p. 198-202, jan., 1986.
- 33- LEVENSPIEL, O. The Monod equation: a revisit and a generalization to product inhibition situations. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 22, n. 8, p. 1671-1687, aug., 1980.
- 34- LUONG, J. H. T. Kinetics of ethanol inhibition in alcohol fermentation. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 27, n. 3, p. 285, mar., 1985.
- 35- MAIA, A. B. R. A.; NELSON, D. L. Application of gravitational sedimentation to efficient cellular recycling in continuous alcoholic fermentation. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 41, n. 3, p. 361-369, feb. 5, 1993.
- 36- MAIORELLA, B. L.; BLANCH, H. W.; WILKE, C. R. Economic evaluation of alternative ethanol fermentation processes. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 26, n. 9, p.1003-1025, dec., 1984.

- 37- MAIORELLA, B. L.; BLANCH, H. W.; WILKE, C. R. Alcohol production and recovery.
In: FLECHTER, A., **Advances in biochemical engineering**. Heidelberg: Spring Verlag,
1981. v. 20, p. 41-73.
- 38- MARCHETTI, R.; GUERZONI, M. E. Study on the effects of selected mineral nutrients and
interactions on the yeast fermentation performance. Use of an experimental design.
Cerevisia and Biotechnology, Aartselaar, v. 16, n. 1, p. 24-33, 1991.
- 39- MAUGERI - FILHO, F. **Modelagem da fermentação alcoólica com alta densidade
celular**. relatório científico final/Projeto FAPESP; 92/4961-7, Campinas:
FEA/UNICAMP, 1995. 36 p.
- 40- MILANESE-RUBILAR, A. A.; MAUGERI, F. Modelling alcohol and viability in a cascade
reactor with immobilized cells. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 79-
84, jan./mar., 1990.
- 41-MONBOUQUETE, H. G. Models for high cell density bioreactors must consider biomass
volume fraction: cell recycle example. **Biotechnology and Bioengineering**, New York,
v. 29, n. 9, p. 1075-1080, june, 1987.
- 42- MONBOUQUETE, H. G. Modeling high-biomass-density cell recycle fermentors.
Biotechnology and Bioengineering, New York, v. 39, n. 5, p. 498-503, mar 5, 1992.
- 43- MONOD, J. The growth of bacterial culture. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto,
v. 3, p. 371-394, 1949.
- 44- MOULIN, G.; BOZE, H.; GALZY, P. Inhibition of alcoholic fermentation by substrate and
ethanol. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 22, n. 11, p. 2375-
2381, dec., 1980.
- 45- NAGODAWITHANA, T. W.; STEINKRAUS, K. H. Influence of the rate of ethanol
production and accumulation on the viability of *Saccharomyces cerevisiae* in "rapid
fermentation". **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D. C., v. 31,
n. 2, p. 158-162, feb., 1976.

- 46- NAVARRO, J. M. Fermentation alcoolique: influence des conditions de culture sur l'inhibition par l'ethanol. **Cellular and Molecular Biology**, Oxford, v. 26, n. 2, p. 241-246, 1980.
- 47- NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. Campinas: Editora da Unicamp, 1995. 299 p.
- 48- PANCHAL, C. J.; STEWART, G. G. The effect of osmotic pressure on the production and excretion of the ethanol and glycerol by a brewing yeast strain. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 86, n. 5, p. 207-210, 1980.
- 49- PLACKETT, R. L.; BURMAN, J. P. The design of optimum multifactorial experiments. **Biometrika**, v. 33, p. 305-325, 1946.
- 50- RODRIGUES, M. I.; ANDRIETTA, S. R.; MAUGERI, F. F. Simulação da produtividade e rendimento em fermentação alcoólica contínua, para reatores operando em condições ideais e não-ideais de mistura. **Stab Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 10, n. 5, p. 35-41, maio/jun., 1992.
- 51- RODRIGUES, M. I. **Modelagem, simulação e controle de um processo contínuo de purificação de enzimas**. Campinas, 1993. 208p. Tese (doutor em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- 52- SÁ-CORREIA, I.; VAN UDEN, N. Ethanol induced death of *Saccharomyces cerevisiae* at low and intermediate growth temperatures. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 28, n. 2, p. 301-303, feb., 1986.
- 53- SINCLAIR, C. G.; KRISTIANSEN, B. **Fermentation Kinetics and Modelling**. New York: Taylor & Francis, 1987. 113p. (Open University Press Biotechnology Series).
- 54- SIQUEIRA, M. A. Proposta de otimização para destilarias autônomas. **Stab Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 11, n. 5, p. 33-38, maio/jun., 1993.
- 55- THATIPAMALA, R.; ROHANI, S.; HILL, G.A. Effects of high product and substrate inhibition on the kinetics in biomass and product yields during ethanol batch fermentation. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 40, n. 2, p. 289-297, june, 1992.

- 56- VAN UDEN, N. Ethanol toxicity and ethanol tolerance in yeasts. **Annual Reports on Fermentation Processes**, New York, v. 8, p. 11-58, 1985.
- 57- VIGIÉ, P.; GOMA, G.; RENAUD, P. Y.; CHAMILOTHORIS, G.; DAHHOU, B.; POURCIEL, J. B. Adaptative predictive control of a multistage fermentation process. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v.35, n. 3, p. 217-223, feb., 1990.
- 58- ZARPELON, F.; ANDRIETTA, S.R. Fermentação contínua para a produção de álcool. **Stab Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.10, n. 4, p. 23-28, 1992.