

MODELAGEM MATEMÁTICA DO PROCESSO DE FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA: EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE SUBSTRATO, CÉLULAS E TEMPERATURA NOS PARÂMETROS CINÉTICOS

KP ELIODÓRIO¹, AG BOVOLINI¹, LG CARNEIRO¹, GCG CUNHA¹,
TO BASSO¹, R GIUDICI¹

¹ Universidade de São Paulo, Escola Politécnica, Departamento de Engenharia Química
E-mail para contato: kevypontes@usp.br

RESUMO – *O objetivo deste projeto foi o desenvolvimento de um modelo matemático para o processo de fermentação alcoólica em um biorreator em batelada, considerando-se os efeitos térmicos (T), da concentração inicial de células (X_0) e substrato (S_0) nos parâmetros cinéticos do processo em condições que simulem a produção de etanol 1G no Brasil. Um procedimento experimental do tipo Box-Behnken foi realizado. Para cada ensaio foi realizada a estimativa dos cinco principais parâmetros cinéticos do modelo, em que foi possível obter ajustes satisfatórios para as condições estudadas. Após a estimativa, os parâmetros levantados foram corelacionados com as variáveis de entrada do planejamento experimental. Esses modelos para os parâmetros cinéticos complementam a literatura por considerar o efeito de variáveis importantes do processo nos modelos tradicionais.*

1. INTRODUÇÃO

O interesse em produção de bioetanol tem crescido, tendo como principal motivo reduzir os problemas ocasionados pela excessiva produção de gases de efeito estufa. Neste cenário, o Brasil se destaca como segundo maior produtor de etanol do mundo e conta com um processo robusto e bem estabelecido (Eliodório et al., 2019).

O bioetanol é majoritariamente produzido por *Saccharomyces cerevisiae* (Eliodório et al., 2019). O processo faz uso do metabolismo da levedura que converte os açúcares para sua multiplicação celular. Os principais produtos metabólicos são o etanol e o gás carbônico (CO_2), que fazem parte do metabolismo energético em anaerobiose, gerando energia necessária para a manutenção de viabilidade e produção de mais células (Rivera et al., 2017).

Entretanto, o processo de fermentação com esses microorganismos requer conhecimento das características cinéticas do crescimento celular e produção de etanol para operação eficiente e efetiva na indústria. Diversos trabalhos são reportados na literatura sobre modelagem de processo

de fermentação alcoólica de açúcares, no entanto, muitos desses modelos não são válidos para condições amplas de processo que simulem adequadamente as condições industriais. Desta forma, este projeto visa o desenvolvimento de um modelo matemático para a fermentação alcoólica em um biorreator em regime descontínuo, considerando-se as principais variáveis de processo (temperatura, concentração celular e concentração de substrato) e seu efeito nos parâmetros cinéticos em condições que simulem a produção de etanol no Brasil.

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1. Planejamento Experimental

O planejamento experimental foi baseado no design experimental Box-Behnken. Os pontos experimentais foram escolhidos de maneira que fosse possível estimar de maneira eficiente os parâmetros de um modelo de segunda ordem, permitindo avaliar o efeito individual de cada variável e as interações de segunda ordem entre essas variáveis. Cada experimento corresponde a cinética para aquelas condições. As saídas do planejamento são os parâmetros cinéticos, que serão função da temperatura (T), da concentração inicial de células (X_0) e da concentração inicial de substrato (S_0). A concentração de substrato utilizada foi expressa na forma de açúcares redutores totais (ART). Os valores selecionados para estudo foram baseados nas condições industriais brasileiras, como alta densidade celular e temperaturas altas (Raghavendran et al., 2017) . O design experimental e os valores para cada variável são apresentados na Figura 1. O ponto central foi realizado em triplicata, totalizando 15 experimentos cinéticos.

A	B			
	Fator	- 1	0	+ 1
$\begin{bmatrix} \pm 1 & \pm 1 & 0 \\ \pm 1 & 0 & \pm 1 \\ 0 & \pm 1 & \pm 1 \\ 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$	Temperatura (°C)	28	31	34
	Concentração de células (g/L)	25	37,5	50
	Concentração de substrato (g/L)	20	60	100

Figura 1 – Design experimental Box-Behnken (A) e valores dos fatores estudados (B)

2.2. Microorganismo, meio de cultura e análise de metabólitos

Os inóculos para os estudos cinéticos foram preparados em meio adaptado baseado em YP (10 g extrato de levedura.L⁻¹, 20 g peptona.L⁻¹) contendo 100 g de sacarose.L⁻¹, em que foram adicionados uma alíquota de 1 mL de tubos criogênicos contendo a linhagem industrial PE-2. O meio utilizado nas cinéticas foi melaço proveniente de indústria sucroalcooleira, diluído de acordo com a concentração estabelecida para o ensaio. A concentração dos metabólitos principais (sacarose, glicose, frutose, glicerol e etanol) foi determinada usando cromatografia líquida de alta-performance (HPLC) com detector de índice de refração utilizando uma coluna de exclusão de íons HPX-87C, isocraticamente eluída a 85°C com água ultra pura em vazão de 0.6 mL.min⁻¹. A massa seca celular foi determinada pelo método gravimétrico secando as amostras em estufa a temperatura de 80°C até massa constante.

2.3. Modelagem Matemática

A modelagem matemática do processo de fermentação alcóolica foi realizada utilizando os balanços de massa (Eq. 1-3) dos principais componentes. S, X e P representam a concentração (kg.m^{-3}) de substrato, células e etanol, respectivamente. Nessas equações, r_x , r_p , r_s são as taxas específicas de produção e consumo ($\text{kg.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$) de cada componente (Rivera et al., 2017).

$$\frac{\partial X}{\partial t} = r_x = \mu_{max} \frac{S}{K_s + S} \exp(-K_i S) (1 - \frac{X}{X_m})^m (1 - \frac{P}{P_m})^n X \quad (1)$$

$$\frac{\partial P}{\partial t} = r_p = Y_{p/x} r_x + m_p X \quad (2)$$

$$\frac{\partial S}{\partial t} = r_s = \frac{r_x}{Y_{x/s}} + m_x X \quad (3)$$

Os parâmetros de inibição (K_i , K_s , m e n), consumo para manutenção (m_x) e crescimento não associado ao crescimento (m_p) foram fixados e adaptados de Rivera et al. (2017) ($K_s=3.1$, $K_i=0.003$, m=1, n=1.5, $m_p=0.05$ e $m_x=0.15$). Cinco parâmetros foram estimados para cada ensaio (μ_{max} , X_{max} , P_{max} , $Y_{x/s}$ e $Y_{p/x}$) utilizando o software matemático MATLAB® e a função *lqsnonlin* (método “*trust-region reflective*”), que minimizou a soma do erro quadrado relativo ao máximo experimental ($X_{e_{max}}$, $S_{e_{max}}$, $P_{e_{max}}$) entre valores experimentais (X_e , S_e , P_e) e do modelo (X_n , S_n , P_n) (Eq. 4) para cada ensaio independente. Esses parâmetros são X_{max} , a concentração de biomassa quando o crescimento celular cessa (kg.m^{-3}); $Y_{p/x}$, o rendimento do produto baseado no crescimento celular (kg.kg^{-1}); $Y_{x/s}$, o rendimento entre célula e substrato (kg.kg^{-1}); μ_{max} , a máxima velocidade específica de crescimento (h^{-1}); P_{max} , a concentração de produto quando o crescimento celular cessa (kg.m^{-3}).

$$E(\theta) = \sum_{n=1}^{np} \left[\frac{(X_n - X_{e_n})^2}{X_{e_{max}}^2} + \frac{(S_n - S_{e_n})^2}{S_{e_{max}}^2} + \frac{(P_n - P_{e_n})^2}{P_{e_{max}}^2} \right] \quad (4)$$

A Figura 2 apresenta dois dos ensaios cinéticos realizados, bem como o modelo ajustado. As cinéticas em alta concentração celular realizadas foram caracterizadas pelo rápido consumo do substrato que tiveram a duração de 1.5 e 3 horas de duração, a baixa produção de células e rendimentos altos em etanol, condições semelhantes às obtidas industrialmente (Raghavendran et al., 2017).

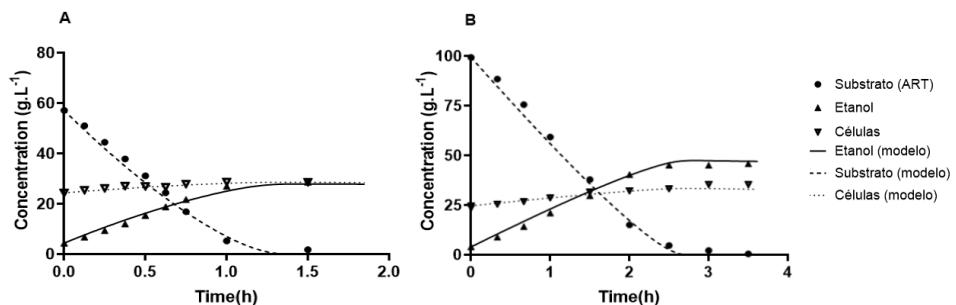


Figura 2 – Resultados para 2 ensaios cinéticos: (A) $T=28^\circ\text{C}$, $S_0=60\text{ g.L}^{-1}$ e $X_0=25\text{ g.L}^{-1}$; (B) $T=31^\circ\text{C}$, $S_0=100\text{ g.L}^{-1}$ e $X_0=25\text{ g.L}^{-1}$

2.4. Modelos para os parâmetros cinéticos em função das variáveis de entrada

Com os parâmetros estimados pelo MATLAB® e utilizando-se o software de análise estatística MiniTab®, foi possível a obtenção das equações de regressão para as variáveis não codificadas μ_{max} (Eq. 5), $Y_{p/x}$ (Eq. 6) e $Y_{x/s}$ (Eq. 7) com R^2 de 0.9610, 0.9641 e 0.8968, respectivamente. As regressões não permitiram a correlação de P_{max} , X_{max} com as variáveis de entrada. Utilizando o diagrama de Pareto de efeitos padronizados fornecido pelo MiniTab® foi possível verificar as variáveis e as interações significativas para descrição dos parâmetros cinéticos.

$$\mu_{max} = -6.56 - 0.00421So - 0.1625Xo - 0.000055So^2 - 0.0129T^2 + 0.004492TXo \quad (5)$$

$$Y_{p/x} = 1374 + 1.694T^2 - 0.331TXo \quad (6)$$

$$Y_{x/s} = -6.558 + 0.00348So - 0.02714Xo - 0.000017So^2 - 0.007805T^2 + 0.000870TXo \quad (7)$$

3. CONCLUSÃO

A modelagem cinética foi apresentada para a fermentação alcoólica em condições amplas de processo, permitindo a descrição adequada de ensaios que simulam a indústria de etanol 1G no Brasil. As características principais simuladas foram as altas temperaturas, concentrações de substrato e células, bem como a utilização de melaço industrial e microorganismo industrial (PE-2). Os parâmetros cinéticos foram correlacionados com as variáveis de entrada do design experimental Box-Behnken. Os modelos para os parâmetros cinéticos fornecem um complemento à literatura, incluindo não apenas o efeito da temperatura, mas o efeito da concentração de substrato e células.

4. REFERÊNCIAS

- Eliodório, K. P., Cunha G. C. G., Muller, C., Lucaroni, A. C., Giudici, R., Walker, G. W., Alves-Junior, S. L., Basso, T. O.. Advances in yeast alcoholic fermentations for the production of bioethanol, beer and wine. Em: Advances in Applied Microbiology. Elsevier, 2019.
- Rivera, E. C.; Yamakawa, C. K.; Saad, M. B. W.; Atala, D. I. P.; Ambrosio, W. B.; Bonomi, A.; Nolasco, J. J.; Rossel, C. E. V. Effect of temperature on sugarcane ethanol fermentation: Kinetic modeling and validation under very-high-gravity fermentation conditions. Biochemical Engineering Journal, v. 119, p. 42-51, 2017.
- Raghavendran, V.; Basso, T. P.; Da Silva, J. B.; Basso, L. C.; Gombert, A. K. A simple scaled down system to mimic the industrial production of first generation fuel ethanol in Brazil. Antonie van Leeuwenhoek, v. 110 (7), p. 971-983, 2017.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processos 2019/08393-8 e 2015/50684-9), CNPq (processo 309444/2016-0) e CAPES (código de financiamento 01).