



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

MARCOS VINÍCIUS AQUINO LOPES

MODELAGEM, SIMULAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DE UM REATOR DESCONTÍNUO
HETEROGÊNEO PARA SÍNTESE ENZIMÁTICA DE BUTANOATO DE ETILA
CATALISADA POR NOVOZYM 435

FORTALEZA

2025

MARCOS VINÍCIUS AQUINO LOPES

MODELAGEM, SIMULAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DE UM REATOR DESCONTÍNUO
HETEROGÊNEO PARA SÍNTESE ENZIMÁTICA DE BUTANOATO DE ETILA
CATALISADA POR NOVOZYM 435

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Engenharia Química. Área de concentração: Processos químicos e bioquímicos.

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Rocha Barros Gonçalves.

Coorientador: Prof. Dr. Ítalo Waldimiro Lima de França.

FORTALEZA

2025

MARCOS VINÍCIUS AQUINO LOPES

MODELAGEM, SIMULAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DE UM REATOR DESCONTÍNUO
HETEROGÊNEO PARA SÍNTESE ENZIMÁTICA DE BUTANOATO DE ETILA
CATALISADA POR NOVOZYM 435

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Engenharia Química. Área de concentração: Processos químicos e bioquímicos.

Aprovada em: 21/02/2025.

BANCA EXAMINADORA

Profª. Dra. Luciana Rocha Barros Gonçalves (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Samuel Jorge Marques Cartaxo
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Bruno Marques Viegas
Universidade Federal do Pará (UFPA)

A Deus.

Aos meus pais, Eliseuda e Rômulo.

Ao amor da minha vida, Juliana Maria.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pelas oportunidades de crescimento profissional e espiritual dadas a mim, pela saúde e força concedidas para enfrentar os desafios da vida.

Aos meus pais, Eliseuda e Rômulo, por todo o carinho, cuidado e apoio prestados em minha caminhada acadêmica.

À minha amada, Juliana Maria, por ser meu pilar de sustentação nos momentos mais difíceis, por ser o meu maior exemplo de coragem e perseverança e, sobretudo, pelos momentos de alegria e felicidade compartilhados.

Ao meu padrinho, Fagner, por ser meu maior exemplo como estudante e profissional bem sucedido.

Aos meus avós, Toinha e Luiz Alberto, *in memoriam*, por sempre me encorajarem a perseguir os meus sonhos. As lembranças dos nossos momentos juntos viverão para sempre em meu coração.

À dona Rosa, por todo o carinho e cuidado, além dos momentos de descontração e alegria.

Ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará, por toda a infraestrutura disponibilizada para condução da pesquisa.

Aos professores Luciana e Ítalo, meus orientadores, por acreditarem no meu potencial para trabalhar em uma área de pesquisa na qual tenho bastante admiração, por todos os ensinamentos repassados e pela paciência nos diversos momentos de dúvidas.

Aos professores da banca do exame de conhecimentos gerais, Andréa e Samuel, por todas as sugestões valiosas oferecidas para enriquecimento desse trabalho.

Aos professores da banca do exame de defesa, Bruno e Samuel, por aceitarem o convite de participar e contribuir com esse trabalho.

Aos amigos e pesquisadores do Grupo de Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Biotecnológicos, GPBio, por me acolherem tão bem, por todos os momentos de trocas de conhecimento e de descontração.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“Desenvolver estratégias é o primeiro passo para transformar visão em realidade.” (Autor desconhecido, 2024).

RESUMO

O butanoato de etila é um aroma relevante nas indústrias química, farmacêutica, de alimentos e cosméticos. Sua produção por esterificação enzimática com biocatalisadores heterogêneos, como a Novozym 435, é uma alternativa promissora para melhoria do rendimento e redução do impacto ambiental de processos industriais, mas ainda possui limitações devido ao custo dos biocatalisadores e a restrições difusionais na velocidade de reação. Assim, buscou-se projetar um reator descontínuo heterogêneo através de modelagem, simulação e otimização da síntese de butanoato de etila por Novozym 435, tendo enfoque no aumento de escala do processo. Logo, diferentes modelos matemáticos foram propostos para o reator, analisando a relevância de restrições difusionais internas e externas, tendo os parâmetros cinéticos e as propriedades físicas do sistema reacional sido obtidos na literatura e através de correlações empíricas. O modelo de reator com melhor capacidade preditiva, escolhido a partir de ensaio de validação experimental, foi empregado em análise de sensibilidade para definir variáveis de processo e métricas de avaliação da performance e sustentabilidade do processo para a otimização multiobjetivo de sua operação, realizada para as configurações em batelada e batelada alimentada por ácido butírico e etanol, via análise da frente de Pareto. Para o aumento de escala, utilizou-se o critério de potência por volume constante. Além disso, os custos com insumos e o retorno financeiro da operação em escala piloto foram estimados. Desse modo, o modelo considerando limitações difusionais internas obteve erro percentual de 10,97% na estimativa do perfil de conversão da reação. Através de simulações do mesmo, observou-se que as variáveis concentração inicial de substratos e massa de biocatalisador foram mais relevantes para obtenção de altos valores de produtividade. Na otimização dos reatores, a operação em batelada se destacou, alcançando produtividade de éster de 1,13 g/h, do biocatalisador de 44,41 kg_p/kg_c.h e concentração de produto igual a 1,95 M utilizando 2,49 M de ácido butírico, 2,24 M de etanol e 1,16% de biocatalisador. No aumento de escala, a razão da potência por volume manteve-se igual a 173,70 W/m³, atingindo produtividade de éster de 9,26 kg/h em volume de 82 L. A análise de custos prévia reiterou a importância de se manter a estabilidade do biocatalisador por diversos ciclos operacionais, com foco na viabilidade do processo. Portanto, através da simulação e otimização da síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435, foi possível levantar dados relevantes para o projeto de um reator descontínuo heterogêneo, apresentando rendimento de produção superior em comparação com a literatura, além de geração inferior de resíduos.

Palavras-chave: esterificação; biocatalisadores; limitações difusionais; simulação numérica.

ABSTRACT

Ethyl butanoate is a relevant aroma compound in the chemical, pharmaceutical, food, and cosmetics industries. Its production via enzymatic esterification with heterogeneous biocatalysts, such as Novozym 435, is a promising alternative to improve yield and reduce the environmental impact of industrial processes. However, it still presents limitations due to the cost of biocatalysts and diffusional restrictions affecting the reaction rate. Thus, this study aimed to design a heterogeneous batch reactor through modeling, simulation, and optimization of ethyl butanoate synthesis using Novozym 435, focusing on process scale-up. Different mathematical models were proposed for the reactor, analyzing the relevance of internal and external diffusional limitations. The kinetic parameters and physical properties of the reaction system were obtained from the literature and empirical correlations. The reactor model with the best predictive capability, selected through an experimental validation test, was used in a sensitivity analysis to define process variables and performance and sustainability metrics. This served as the basis for the multi-objective optimization of the reactor operation, conducted for both batch and fed-batch configurations using butyric acid and ethanol, via Pareto front analysis. For scale-up, a constant power-to-volume ratio criterion was applied. Additionally, the costs of raw materials and the financial return of pilot-scale operation were estimated. The model considering internal diffusional limitations achieved a percentage error of 10.97% in estimating the reaction conversion profile. Simulations revealed that the initial substrate concentration and biocatalyst mass were the most relevant variables for achieving high productivity values. In the reactor optimization, the batch operation stood out, reaching an ester productivity of 1.13 g/h, a biocatalyst productivity of 44.41 kg_p/kg_c.h, and a product concentration of 1.95 M using 2.49 M butyric acid, 2.24 M ethanol, and 1.16% biocatalyst. During scale-up, the power-to-volume ratio remained at 173.70 W/m³, achieving an ester productivity of 9.26 kg/h in a volume of 82 L. The preliminary cost analysis reinforced the importance of maintaining biocatalyst stability over multiple operational cycles, focusing on process feasibility. Therefore, through simulation and optimization of the enzymatic synthesis of ethyl butanoate using Novozym 435, relevant data were obtained for designing a heterogeneous batch reactor, demonstrating higher production yields compared to the literature, as well as lower waste generation.

Keywords: esterification; biocatalysts; diffusional limitations; numerical simulation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Exemplos de moléculas de ésteres que apresentam aromas frutados empregados como aditivos de produtos manufaturados	30
Figura 2	– Estrutura proteica das enzimas	33
Figura 3	– Diagrama de coordenadas da reação enzimática descrita pela Equação 1	34
Figura 4	– Comparativo entre as energias de ativação na reação não catalisada ($\Delta G^{\ddagger}_{n\tilde{a}o\ cat}$) e na catalisada ($\Delta G^{\ddagger}_{cat}$)	34
Figura 5	– Etapas de uma reação enzimática: formação do complexo enzima-substrato e liberação do produto	36
Figura 6	– Efeito de inibidores (a) competitivos e (b) não-competitivos na cinética enzimática	37
Figura 7	– Técnicas empregadas na produção de enzimas imobilizadas	39
Figura 8	– Reações catalisadas por lipases	40
Figura 9	– Mecanismo Ping-Pong Bi-Bi representando a cinética da reação de esterificação	43
Figura 10	– Configurações de reatores utilizadas na síntese enzimática de ésteres	44
Figura 11	– Classes dos métodos de otimização	48
Figura 12	– Exemplo de frente de Pareto obtida através da otimização multiobjetivo formada pelas funções f_1 e f_2	50
Figura 13	– Representação do escopo do projeto de reator descontínuo heterogêneo para síntese enzimática de butanoato de etila catalisada por Novozym 435 (N435)	51
Figura 14	– Mecanismo da reação de esterificação catalisada por lipases de acordo com o modelo Ping-Pong Bi-Bi em que há inibição enzimática por ambos os substratos	52
Figura 15	– Sistema reacional de síntese enzimática de butanoato de etila catalisada por Novozym 435 (N435) em reator heterogêneo	54

Figura 16	– Condições iniciais e de contorno dos modelos (a) IDR e (b) EIDR dos reatores descontínuos heterogêneos	62
Figura 17	– Representação da discretização do domínio da partícula de biocatalisador constituindo a malha computacional para resolução dos balanços materiais dos reatores segundo os modelos (a) IDR e (b) EIDR	67
Figura 18	– Rotina de simulação da operação dos reatores descontínuos heterogêneos para síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)	72
Figura 19	– Etapas da otimização da operação dos reatores heterogêneos para síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)	81
Figura 20	– Configurações geométricas empregadas na construção do (a) tanque agitado com formato abaulado e do (b) impelidor Lightnin A310 para síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)	82
Figura 21	– (a) Influência do número de elementos da malha computacional na estimativa da conversão de ácido butírico (X) e (b) erro relativo percentual (ER) entre as estimativas dos diferentes tamanhos de malha	86
Figura 22	– Perfis de conversão (X) durante o tempo (t) de reação da síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435) estimados através do modelo EIDR em diferentes velocidades de movimentação das partículas de biocatalisador (U_p)	88
Figura 23	– Comparativo do perfil de conversão de ácido butírico (X) durante o tempo (t) da reação de síntese de butanoato de etila obtido experimentalmente com os estimados pelos modelos PH, IDR e EIDR .	90
Figura 24	– Distribuição da concentração do substrato limitante no raio da partícula de biocatalisador Novozym 435 (N435) ao longo do tempo da reação de síntese de butanoato de etila	91

Figura 25	– Distribuição do (a) fator de efetividade interno e do (b) módulo de Thiele observável ao longo do tempo da reação de síntese de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)	92
Figura 26	– Comparativo entre os perfis de conversão de ácido butírico obtidos experimentalmente nas condições de ausência (EXP-branco) e presença (EXP-ZLT) de peneiras moleculares do tipo zeólita 3A na síntese de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)	93
Figura 27	– Configuração do sistema reacional empregado nos experimentos de determinação do perfil de conversão de ácido butírico na síntese de butanoato de etila por Novozym 435	94
Figura 28	– Comparativo dos perfis de conversão de ácido butírico (X) durante o tempo (t) da reação de síntese de butanoato de etila obtidos experimentalmente, nas condições de ausência (EXP-branco) e presença (EXP-ZLT) de peneiras moleculares do tipo zeólita 3A, com os estimados pelos modelos IDR e IDR-EQ	95
Figura 29	– Conversão (X) avaliada ao variar o raio da partícula de biocatalisador (R_p), a concentração inicial de substratos ($C_{b,s}(0)$), a razão molar entre substratos (RM) e a carga de biocatalisador (E) na síntese enzimática de butanoato de etila	96
Figura 30	– Produtividade de butanoato de etila (P_p) avaliada ao variar o raio da partícula de biocatalisador (R_p), a concentração inicial de substratos ($C_{b,s}(0)$), a razão molar entre substratos (RM) e a carga de biocatalisador (E) na síntese enzimática de butanoato de etila	98
Figura 31	– Concentração final de butanoato de etila ($C_{b,p}$) avaliada ao variar o raio da partícula de biocatalisador (R_p), a concentração inicial de substratos ($C_{b,s}(0)$), a razão molar entre substratos (RM) e a carga de biocatalisador (E) na síntese enzimática de butanoato de etila	99
Figura 32	– Produtividade do biocatalisador (P_c) avaliada ao variar o raio da partícula de biocatalisador (R_p), a concentração inicial de substratos	100

	$(C_{b,s}(0))$, a razão molar entre substratos (RM) e a carga de biocatalisador (E) na síntese enzimática de butanoato de etila	
Figura 33	– Fator de efetividade médio no tempo (n_{IDR}) avaliado ao variar o raio da partícula de biocatalisador (R_p), a concentração inicial de substratos ($C_{b,s}(0)$), a razão molar entre substratos (RM) e a carga de biocatalisador (E) na síntese enzimática de butanoato de etila	101
Figura 34	– Fator ambiental (E_f) avaliado ao variar o raio da partícula de biocatalisador (R_p), a concentração inicial de substratos ($C_{b,s}(0)$), a razão molar entre substratos (RM) e a carga de biocatalisador (E) na síntese enzimática de butanoato de etila	102
Figura 35	– Frentes de Pareto estimadas a partir da otimização multiobjetivo da operação dos reatores heterogêneos para síntese enzimática de butanoato de etila operando em batelada (BR), batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR)	106
Figura 36	– Relações observadas entre as variáveis-resposta (a) $P_p \times C_{b,p}$, (b) $C_{b,p} \times P_c$ e (c) $P_p \times P_c$ nas frentes de Pareto estimadas a partir da otimização multiobjetivo da operação dos reatores batelada (BR), batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR) para síntese enzimática de butanoato de etila	107
Figura 37	– Determinação das soluções de compromisso entre as variáveis P_p e P_c através do método de <i>knee point</i> para os reatores (a) batelada (BR), (b) batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e (c) batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR) para síntese enzimática de butanoato de etila	109
Figura 38	– Comparativo entre a performance dos reatores heterogêneos na síntese enzimática de butanoato de etila operando em batelada (BR), batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR)	114

Figura 39	– Representação da diferença observada entre as configurações de reatores na massa de éster produzida ao final do tempo (t) da reação de esterificação do butanoato de etila por Novozym 435 (N435)	115
Figura 40	– Perfis de concentração na fase <i>bulk</i> ($C_{b,x}$) das substâncias envolvidas na síntese enzimática de butanoato de etila no tempo (t) estimados nas condições ótimas de operação dos reatores heterogêneos operando em (a) batelada (BR), (b) batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e (c) batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR)	117
Figura 41	– Perfis de conversão dos reatores descontínuos heterogêneos operando nas condições ótimas em batelada (BR), batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR) na síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N345) ..	119
Figura 42	– Comparativo da performance do reator operando em batelada (BR) com a condição de 1h de reação dos reatores batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR) na síntese enzimática de butanoato de etila	120
Figura 43	– Comparativo da performance otimizada do reator batelada heterogêneo (BR) com outros trabalhos na literatura para síntese enzimática de butanoato de etila	122
Figura 44	– Comportamento da potência (P) do impelidor lightning A310 em função do aumento de escala do volume (V) do biorreator batelada heterogêneo para síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)	124
Figura 45	– Comportamento do torque (T_q) do impelidor lightning A310 em função do aumento de escala do volume (V) do reator batelada heterogêneo para síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)	125
Figura 46	– Comportamento da taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) do impelidor lightning A310 em função do aumento de escala do volume (V) do reator batelada heterogêneo para síntese enzimática de butanoato de etila catalisada por Novozym 435 (N435)	126

Figura 47	– Comportamento da produtividade do éster (P_p) em função do aumento de escala do volume (V) do reator batelada heterogêneo para síntese enzimática de butanoato de etila catalisada por Novozym 435 (N435)	127
Figura 48	– Custos com insumos e retorno financeiro estimados na síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435) nas condições de operação ótimas do <i>knee point</i> (CO-kp) e dos pontos de maximização da produtividade do éster (CO-P _p) e da produtividade do biocatalisador (CO-P _c)	131
Figura 49	– Estimativa do saldo econômico da síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435) em 30 ciclos operacionais nas condições de operação ótimas do <i>knee point</i> (CO-kp) e dos pontos de maximização da produtividade do éster (CO-P _p) e da produtividade do biocatalisador (CO-P _c)	132
Figura A-1	– Representação da discretização de um domínio contínuo em pontos discretos igualmente espaçados	152
Figura A-2	– Representação da discretização do domínio da partícula de biocatalisador para o modelo IDR.....	153
Figura A-3	– Representação da discretização do domínio da partícula de biocatalisador para o modelo IDR considerando o ponto imaginário em $r = 0$	154
Figura A-4	– Representação da discretização do domínio da partícula de biocatalisador para o modelo EIDR	156

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Parâmetros cinéticos do modelo Ping-Pong Bi-Bi com inibição por ambos os substratos da síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)	53
Tabela 2	– Hipóteses simplificadoras adotadas na elaboração dos modelos dos reatores descontínuos heterogêneos	54
Tabela 3	– Balanços materiais do reator heterogêneo operando em batelada de acordo com o modelo pseudo homogêneo (PH)	56
Tabela 4	– Balanços materiais do reator heterogêneo operando em batelada considerando restrições difusionais internas (IDR)	58
Tabela 5	– Balanços materiais do reator heterogêneo operando em batelada alimentada considerando restrições difusionais internas (IDR) para o caso em que há alimentação de etanol	59
Tabela 6	– Balanços materiais do reator heterogêneo operando em batelada considerando restrições difusionais externas e internas (EIDR)	61
Tabela 7	– Propriedades do biocatalisador heterogêneo Novozym 435 (N435)	64
Tabela 8	– Propriedades das substâncias envolvidas na esterificação enzimática do butanoato de etila catalisada por Novozym 435 (N435)	65
Tabela 9	– Sistemas de equações diferenciais ordinárias (EDO's utilizadas para resolução numérica dos balanços materiais dos reatores heterogêneos e simulação das diferentes configurações avaliadas	69
Tabela 10	– Variáveis resposta utilizadas na análise de sensibilidade do reator batelada heterogêneo	76
Tabela 11	– Modelos matemáticos para otimização das funções de único objetivo das diferentes configurações de reatores descontínuos heterogêneos avaliadas na síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)	78
Tabela 12	– Modelos matemáticos para otimização das funções multiobjetivo das diferentes configurações de reatores descontínuos heterogêneos	79

	avaliadas na síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)	
Tabela 13	– Constantes experimentais do impelidor Lightning A310 utilizadas no aumento de escala da síntese enzimática de butanoato de etila catalisada por Novozym 435 (N435)	84
Tabela 14	– Números de Biot estimados para os componentes químicos envolvidos na reação de síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)	88
Tabela 15	– Parâmetros estatísticos de avaliação da capacidade preditiva dos modelos PH, IDR e EIDR de reatores descontínuos heterogêneos	91
Tabela 16	– Parâmetros estatísticos de avaliação da capacidade preditiva dos modelos IDR e IDR-EQ de reatores descontínuos heterogêneos	95
Tabela 17	– Condições ótimas de operação e variáveis-resposta obtidas na otimização das funções de único objetivo dos reatores heterogêneos na síntese enzimática de butanoato de etila operando em batelada (BR), batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR)	104
Tabela 18	– Condições ótimas de operação, variáveis-resposta e demais métricas de processo estimadas para as soluções de compromisso entre as variáveis-resposta P_p , P_c através do método de <i>knee point</i> para os reatores heterogêneos na síntese enzimática de butanoato de etila operando em batelada (BR), batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e batelada alimenta com etanol (Fs2-FBR)	111
Tabela 19	– Dados obtidos com fabricantes para estimativa do custo por quilo de insumos empregados na síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)	128
Tabela 20	– Quantidade de insumos requerida por batelada para síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435) nas condições de operação ótimas do <i>knee point</i> (CO-kp) e dos pontos de maximização da produtividade do éster (CO- P_p) e da produtividade do biocatalisador (CO- P_c)	129

Tabela 21	– Estimativa de custos com insumos por batelada para síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435) nas condições de operação ótimas do <i>knee point</i> (CO-kp) e dos pontos de maximização da produtividade do éster (CO-P _p) e da produtividade do biocatalisador (CO-P _c)	129
Tabela 22	– Quantidade produzida por batelada e retorno financeiro estimado na síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435) nas condições de operação ótimas do <i>knee point</i> (CO-kp) e dos pontos de maximização da produtividade do éster (CO-P _p) e da produtividade do biocatalisador (CO-P _c)	130

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAGR	Taxa composta de crescimento anual
CALB	Lipase B de <i>Candida antarctica</i>
N435	Novozym 435
EC	<i>Enzyme Commission</i>
STR	Reator de tanque agitado
PBR	Reator de leito empacotado
FBR	Reator de leito fluidizado
PH	Modelo de reator enzimático heterogêneo que considera ausência de limitações difusionais
IDR	Modelo de reator enzimático heterogêneo que considera apenas limitações difusionais internas
EIDR	Modelo de reator enzimático heterogêneo que considera limitações difusionais externas e internas
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
EDP	Equação diferencial parcial
EDO	Equação diferencial ordinária
BR	Operação em batelada
Fs1-FBR	Operação em batelada alimentada com ácido butírico
Fs2-FBR	Operação em batelada alimentada com etanol
CO-kp	Condição de operação ótima do reator batelada heterogêneo na solução de compromisso ideal estabelecida no <i>knee point</i>
CO-P _p	Condição de operação ótima do reator batelada heterogêneo no ponto de maximização da produtividade do butanoato de etila
CO-P _c	Condição de operação ótima do reator batelada heterogêneo no ponto de maximização da produtividade do biocatalisador Novozym 435
P.A.	Substância química com grau de purificação para análise
P.S.	Substância química com grau de purificação para síntese
EXP-branco	Ensaio de síntese de butanoato de etila por Novozym 435 na ausência de peneiras moleculares do tipo zeólita 3A
EXP-ZLT	Ensaio de síntese de butanoato de etila por Novozym 435 na presença de peneiras moleculares do tipo zeólita 3A

RMSE	Raiz do erro quadrático médio
rRMSE	Raiz do erro quadrático médio relativo

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
R\$	Real
E	Representação da enzima em um mecanismo de reação química
S	Representação do substrato em um mecanismo de reação química
P	Representação do produto em um mecanismo de reação química
$N_{b,x}$	Número de mols da substância x na fase <i>bulk</i> do biorreator heterogêneo (mol)
t	Tempo de reação (h)
n_p	Número de partículas de biocatalisador heterogêneo
A	Área da superfície externa da partícula de biocatalisador heterogêneo (m ²)
$D_{e,x}$	Difusividade efetiva da substância x em hexano no interior da partícula de biocatalisador heterogêneo (m ² /s)
C_x	Concentração molar da substância x no interior da partícula de biocatalisador heterogêneo (mol/m ³)
r	Raio da partícula de biocatalisador heterogêneo (m)
R	Raio externo da partícula de biocatalisador heterogêneo (m)
$C_{b,x}$	Concentração molar da substância x na fase <i>bulk</i> do biorreator heterogêneo (mol/m ³)
V_c	Volume de biocatalisador heterogêneo (m ³)
V_b	Volume da fase <i>bulk</i> do biorreator heterogêneo (m ³)
π	Número Pi
v	Velocidade de reação (mol/m ³ .s)
$s1$	Subscrito representando o ácido butírico
$s2$	Subscrito representando o etanol
p	Subscrito representando o butanoato de etila
w	Subscrito representando a água
hx	Subscrito representando o hexano
c	Subscrito representando o biocatalisador heterogêneo
$F_{0,x}$	Vazão molar de alimentação da substância x na fase <i>bulk</i> do biorreator heterogêneo (mol/s)

$C_{0,x}$	Concentração molar da substância x na alimentação do biorreator heterogêneo (mol/m ³)
v_0	Vazão volumétrica da corrente de alimentação do biorreator heterogêneo (m ³ /s)
$k_{f,x}$	Coefficiente de transferência de massa convectivo da substância x (m/s)
$C_{s,x}$	Concentração molar da substância x na superfície externa da partícula de biocatalisador heterogêneo (mol/m ³)
$C_{b,x}(0)$	Concentração molar inicial da substância x na fase <i>bulk</i> do biorreator heterogêneo (mol/m ³)
E_0	Concentração molar de enzima no biocatalisador heterogêneo (mol/m ^{3c})
k_{cat}	Constante catalítica do modelo cinético Ping-Pong Bi-Bi (s ⁻¹)
K_{ms1}	Constante de Michaelis-Menten do modelo cinético Ping-Pong Bi-Bi para o ácido butírico (mol/m ³)
K_{ms2}	Constante de Michaelis-Menten do modelo cinético Ping-Pong Bi-Bi para o etanol (mol/m ³)
K_{is1}	Constante de inibição do modelo cinético Ping-Pong Bi-Bi para o ácido butírico (mol/m ³)
K_{is2}	Constante de inibição do modelo cinético Ping-Pong Bi-Bi para o etanol
m_w	Massa de água produzida ao final da reação de esterificação (mg)
v_r	Relação entre os coeficientes estequiométricos do butanoato de etila e da água
M_x	Massa molar do componente x do meio reacional (g/mol)
m_{zlt}	Massa de peneira molecular do tipo zeólita 3A (mg)
τ	Tortuosidade da partícula de biocatalisador heterogêneo (adimensional)
ε	Porosidade da partícula de biocatalisador heterogêneo (adimensional)
ρ_c	Massa específica do biocatalisador heterogêneo (kg/m ³)
$D_{x,hx}$	Difusividade da substância x no solvente hexano (m ² /s)
$V_{b,x}$	Volume molar da substância x no ponto normal de ebulição (m ³ /mol)
ρ_{hx}	Massa específica do solvente hexano (kg/m ³)
μ_{hx}	Viscosidade dinâmica do solvente hexano (Pa.s)
T	Temperatura do meio reacional (°C)
$V_{c,x}$	Volume crítico da substância x (m ³ /mol)
N_{Sh}	Número de Sherwood (adimensional)

$N_{Re,p}$	Número de Reynolds da partícula de biocatalisador heterogêneo (adimensional)
N_{Sc}	Número de Schmidt (adimensional)
d_p	Diâmetro da partícula de biocatalisador heterogêneo (m)
U_p	Velocidade de partículas de biocatalisador heterogêneo em relação ao líquido em agitação (m/s)
n	Número de pontos discretos no domínio de simulação computacional
C_x^i	Concentração molar da substância x referente ao ponto discreto i (mol/m ³)
Δr	Espaçamento entre pontos discretos (m)
r^i	Raio da partícula de biocatalisador heterogêneo referente ao ponto discreto i (m)
v^i	Velocidade da reação referente aos valores de concentração de substratos no ponto discreto i (mol/m ³ .s)
Δt	Passo de tempo (s)
n_{ts}	Número de passos de tempo
ER	Erro relativo percentual (%)
X^i	Conversão de ácido butírico estimada computacionalmente para o tamanho de malha i (%)
R_p	Raio da partícula de biocatalisador heterogêneo (m)
RM	Razão molar entre substratos (adimensional)
E	Conteúdo de biocatalisador heterogêneo (%)
X	Conversão da reação (%)
P_p	Produtividade de butanoato de etila (kg _p /h)
$C_{b,p}$	Concentração final de butanoato de etila (M)
P_c	Produtividade do biocatalisador heterogêneo (kg _p /kg _c .h)
n_{IDR}	Fator de efetividade médio temporal (%)
E_f	Fator ambiental (kg _r /kg _p)
m_x	Massa do componente x do meio reacional (kg)
$f_{obj,Pp}$	Função objetivo de maximização da produtividade de butanoato de etila
$f_{obj,Cb,p}$	Função objetivo de maximização da concentração final de butanoato de etila
$f_{obj,Pc}$	Função objetivo de maximização da produtividade do biocatalisador

f_{multi_obj}	Função multiobjetivo de maximização da produtividade de butanoato de etila, da concentração final do éster e da produtividade do biocatalisador
P_n	Peso do objetivo de otimização
D	Diâmetro do impelidor (m)
T	Diâmetro do tanque agitado (m)
H	Altura de líquido no tanque agitado (m)
C	Altura do impelidor (m)
W_d	Largura dos defletores (m)
N	Velocidade de agitação do impelidor (RPM)
N_{js}	Velocidade de mínima suspensão completa (RPM)
N_{Re}	Número de Reynolds do escoamento em tanque agitado (adimensional)
Z	Constante do modelo de Greenville, Mak e Brown (2015)
N_p	Número de potência do impelidor (adimensional)
X_V	Fração volumétrica de sólidos em relação ao líquido presentes no tanque agitado (adimensional)
$\Delta\rho$	Diferença entre as massas específicas dos sólidos e do líquido presentes no tanque agitado (kg/m ³)
P	Potência do impelidor (W)
T_q	Torque do impelidor (J)
γ	Taxa de cisalhamento (s ⁻¹)
A	Constante experimental relacionada com a taxa de cisalhamento gerada pelo impelidor (adimensional)
U_T	Velocidade da ponta do impelidor (m/s)
ΔG°	Varição da energia livre de Gibbs padrão (J)
ΔG^{\ddagger}	Energia de ativação (J)
$\Delta G^{\ddagger}_{não\ cat}$	Energia de ativação para uma reação não catalisada (J)
$\Delta G^{\ddagger}_{cat}$	Energia de ativação para uma reação catalisada (J)
ΔG_B	Energia de ligação (J)
K_{eq}	Constante de equilíbrio químico (adimensional)
C_s	Concentração molar de substrato (mol/m ³)
$C_{s,eq}$	Concentração molar de substrato no equilíbrio químico (mol/m ³)
$C_{p,eq}$	Concentração molar de produto no equilíbrio químico (mol/m ³)
R	Constante ideal dos gases (J/mol.K)

k	Constante cinética de reação química (s^{-1})
k_b	Constante de Boltzmann (J/K)
h	Constante de Planck (J/s)
K_m	Constante de Michaelis-Menten (mol/m^3)
v_{max}	Velocidade máxima de uma reação enzimática ($mol/m^3.s$)
N_{Bi}	Número de Biot (adimensional)
C_{NaOH}	Concentração molar da solução de NaOH (M)
f	Fator de padronização da solução de NaOH (adimensional)
V_{NaOH}	Volume da solução de NaOH utilizado na neutralização do ácido butírico (mL)
V_A	Volume de amostra presente no Erlenmeyer (mL)
X_{eq}	Conversão do equilíbrio químico (%)
$C_{x,eq}$	Concentração molar da substância x no equilíbrio químico (mol/m^3)
n_{pe}	Número de pontos experimentais
X_{exp}	Conversão de ácido butírico obtida experimentalmente (%)
X_{calc}	Conversão estimada pelos modelos de reatores descontínuos heterogêneos (%)
Φ	Módulo de Thiele observável (adimensional)
v_{obs}	Velocidade de reação observável ($mol/m^3.s$)
n'_{IDR}	Fator de efetividade interno (%)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	27
2	OBJETIVOS	29
2.1	Objetivo geral	29
2.2	Objetivos específicos	29
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	30
3.1	Ésteres: componentes de aromas e fragrâncias	30
3.2	Enzimas: catalisadores biológicos	32
3.2.1	<i>Estrutura, funcionamento e definições termodinâmicas</i>	32
3.2.2	<i>Cinética enzimática</i>	36
3.2.3	<i>Imobilização de enzimas</i>	38
3.3	Lipases: catalisadores para síntese de ésteres	39
3.4	Engenharia da reação de síntese enzimática de ésteres	41
3.5	Engenharia do reator para síntese enzimática de ésteres	43
3.6	Modelagem, simulação e otimização de processos enzimáticos	46
4	MODELOS MATEMÁTICOS	51
4.1	Modelo cinético da reação de esterificação	51
4.2	Modelagem dos reatores descontínuos heterogêneos	53
4.2.1	<i>Balancos materiais do modelo pseudo homogêneo do reator (PH)</i>	55
4.2.2	<i>Balancos materiais do modelo do reator considerando restrições difusionais internas (IDR)</i>	56
4.2.3	<i>Balancos materiais do modelo do reator considerando restrições difusionais externas e internas (EIDR)</i>	60
4.2.3	<i>Condições iniciais e de contorno</i>	61
4.3	Remoção de água do sistema reacional	62
5	MÉTODOS	64
5.1	Determinação de propriedades do sistema reacional	64
5.2	Implementação da rotina de simulação dos reatores descontínuos heterogêneos	66
5.3	Influência de limitações difusionais externas na reação de esterificação	72
5.4	Validação do modelo do reator batelada heterogêneo	73
5.5	Análise de sensibilidade das variáveis de processo	75

5.6	Otimização multiobjetivo da operação dos reatores descontínuos heterogêneos	77
5.7	Aumento de escala do processo	81
5.8	Análise de custos com insumos na produção em escala piloto	84
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
6.1	Convergência de malha para simulação dos reatores heterogêneos	86
6.2	Influência de limitações difusionais externas na reação de esterificação	87
6.3	Validação do modelo do reator batelada heterogêneo	89
6.4	Análise de sensibilidade das variáveis de processo	95
6.5	Otimização multiobjetivo da operação dos reatores descontínuos heterogêneos	103
6.6	Aumento de escala do processo	123
6.7	Análise de custos com insumos na produção em escala piloto	128
7	CONCLUSÃO	133
8	PRODUTOS DA DISSERTAÇÃO	134
	REFERÊNCIAS	135
	APÊNDICE A – DISCRETIZAÇÃO DAS EQUAÇÕES DIFERENCIAIS PARCIAIS (EDP's) PELO MÉTODO DE DIFERENÇAS FINITAS	153

1 INTRODUÇÃO

Os ésteres constituem um grupo de aditivos químicos de grande relevância para as indústrias de alimentos, química, farmacêutica e de cosméticos. Dentre os ésteres aromatizantes empregados na indústria, o butanoato de etila se destaca por ser bastante versátil, possuindo aroma frutado, geralmente descrito como de abacaxi, maracujá e morango. Na indústria de alimentos, as aplicações para o butanoato de etila englobam desde bebidas a produtos de panificação, além de laticínios e doces (BERGER, 2009; DEVI; RADHIKA; BHARGAVI, 2017; GROSSO; FERREIRA-DIAS; PIRES-CABRAL, 2013; XU; MIHAZUL; LI, 2020).

Dessa forma, seu mercado global é projetado para alcançar o valor de 133,33 milhões de dólares em 2030, a uma taxa composta anual de crescimento (CAGR) de 4,2% (24 CHEMICAL RESEARCH, 2024). Isso reforça a importância da produção do butanoato de etila no cenário internacional e sua crescente demanda, instigando a indústria a investigar e desenvolver tecnologias mais eficientes de fabricação, de modo a reduzir custos com a produção do butanoato de etila, que contemplem as tendências de sustentabilidade globais, mitigando o impacto ambiental associado a essa atividade.

Dentre os métodos de fabricação de ésteres empregados na indústria, a reação de esterificação catalisada por ácido sulfúrico, em fase líquido-líquido, é a técnica comercial mais popular. Todavia, ela está associada a vários riscos ambientais, pois gera grandes quantidades de resíduos tóxicos, requerendo também o uso adicional de compostos básicos para neutralização do ácido forte, tendo em vista que o catalisador é solúvel em uma ampla variedade de meios reacionais orgânicos. Dessa forma, a aplicação de catalisadores sólidos na catálise heterogênea, como resinas de troca iônica, apresenta vantagens em relação a sua separação e recuperação. No entanto, esses catalisadores possuem limitações de transferência de massa, o que resulta em baixos rendimentos de produto, além de serem mais caros (GUPTA; PAUL, 2014; KHAN *et al.*, 2021; ZIARANI *et al.*, 2012).

Nesse contexto, a aplicação de lipases imobilizadas como biocatalisadores heterogêneos surge como uma alternativa promissora para produção de ésteres aromatizantes, por unir os benefícios das enzimas, como eficiência catalítica, alta seletividade e atuação em condições operacionais brandas, com o aprimoramento de sua estabilidade e capacidade de recuperação e reutilização em diversos ciclos operacionais (DATTA; CHRISTENA; RAJARAM, 2012; REIS *et al.*, 2019; REMONATTO *et al.*, 2022; SHELDON; WOODLEY, 2017; SOUZA *et al.*, 2017). Nesse aspecto, a Novozym 435, lipase B de *Candida antarctica* (CALB) adsorvida em resina macroporosa composta pelo copolímero de polimetacrilato-

divinilbenzeno (Lewatit VP OC 1600), possui destaque pela alta atividade catalítica observada em reações de esterificação, sendo o biocatalisador heterogêneo mais utilizado em aplicações acadêmicas (MARTINS *et al.*, 2014; SALVI; KAMBLE; YADAV, 2017).

Apesar das vantagens citadas, vários desafios ainda surgem na substituição das rotas produtivas de butanoato de etila existentes, principalmente relacionados ao alto custo dos biocatalisadores e a limitações de transferência de massa, o que proporciona baixo retorno econômico (POURZOLFAGHAR *et al.*, 2016). Para tornar o uso do biocatalisador favorável economicamente, é importante conhecer como as características do processo influenciam em métricas apropriadas para avaliação de sua performance, tais como rendimento de reação, concentração final de produto e produtividade do biocatalisador, além de métricas ambientais, devido à motivação para tornar os novos processos mais sustentáveis (WOODLEY, 2019).

A utilização apropriada do biocatalisador também está relacionada com a configuração do reator, que pode favorecer a eficiência e viabilidade do processo (MENESES *et al.*, 2019; TAMBORINI *et al.*, 2018). Assim, o reator batelada agitado, embora apresente custo mais elevado que demais configurações devido à necessidade de tempos de parada e maior capacidade volumétrica para obtenção de altos rendimentos, apresenta vantagens por possuir uma operação simples e adaptável, em que pode-se controlar a taxa de adição ou remoção de substâncias do meio reacional que promovam efeitos inibitórios na atividade do biocatalisador, além de requerer poucos equipamentos auxiliares e promover maior homogeneidade ao sistema através da agitação mecânica (BASSO; SERBAN, 2019; GOMES; TEIXEIRA; BELO; 2011; JUNG *et al.*, 2017; FEKHAR; ZSINKA; MISKOLCZI, 2020; SHARUDDIN *et al.*, 2016).

Dada a extensa quantidade de condições a serem analisadas no projeto de sistemas para biossíntese de ésteres, o uso de modelagem e simulação computacional torna-se imprescindível no desenvolvimento de processos para atender requisitos de rentabilidade e sustentabilidade, além de reduzir tempo e recursos de projeto (WOODLEY, 2019). Ademais, relações não-lineares complexas entre variáveis de processo e métricas de performance podem ser elucidadas com auxílio de técnicas computacionais. Desse modo, modelos matemáticos que correlacionam velocidades de reação e fenômenos de transferência de massa, além da dinâmica do biorreator, associados a algoritmos de resolução e otimização computacionais são capazes de agilizar a busca por condições operacionais ótimas e o posterior aumento de escala de equipamentos para atuação em plantas industriais (CVETKOVIC, 2017; WANG *et al.*, 2020).

Portanto, através do emprego de modelagem, simulação e otimização, buscou-se desenvolver o projeto de um reator descontínuo heterogêneo para síntese enzimática de butanoato de etila catalisada por Novozym 435, visando ampliação de escala da produção.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver projeto de um reator descontínuo heterogêneo para síntese enzimática de butanoato de etila catalisada pela lipase Novozym 435 empregando modelagem, simulação e otimização, com foco na ampliação de escala.

2.2 Objetivos específicos

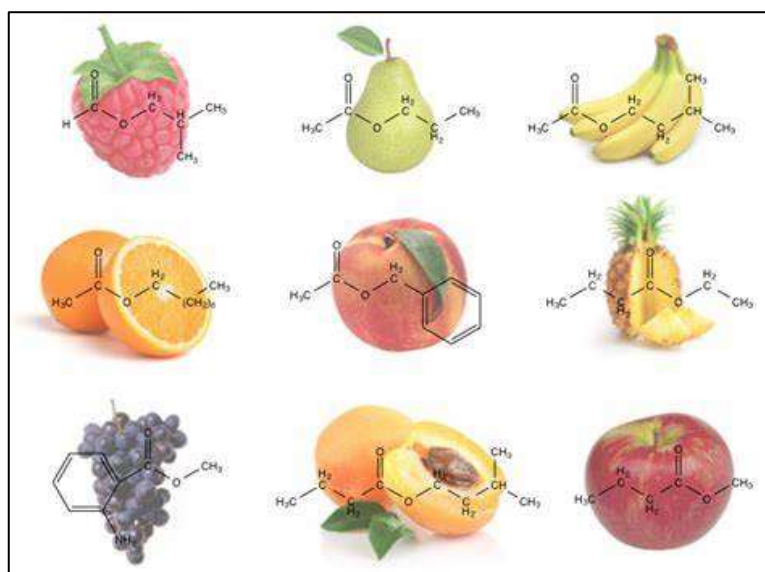
- Levantar dados na literatura sobre a cinética de reação da Novozym 435 para síntese enzimática de butanoato de etila pela esterificação de ácido butírico e etanol;
- Estabelecer as equações de projeto do reator descontínuo heterogêneo, nas configurações batelada e batelada alimentada, considerando limitações difusionais internas e externas na velocidade de reação do biocatalisador Novozym 435;
- Determinar propriedades físicas dos componentes do sistema reacional pertinentes para a resolução das equações de projeto do reator descontínuo heterogêneo;
- Desenvolver rotina de simulação da operação do reator descontínuo heterogêneo em linguagem de programação Python;
- Definir o modelo de reator descontínuo heterogêneo mais adequado para predição do comportamento da reação de síntese do butanoato de etila através de validação experimental;
- Realizar análise de sensibilidade da performance do reator descontínuo heterogêneo para definição de variáveis de processo e métricas para otimização das configurações do reator operando em batelada, batelada alimentada com ácido butírico e batelada alimentada com etanol;
- Realizar o aumento de escala da configuração do reator descontínuo heterogêneo com o melhor desempenho frente às métricas de avaliação do processo a partir das condições ótimas estabelecidas, estimando o custo com insumos e o retorno financeiro em escala piloto de produção.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Ésteres: componentes de aromas e fragrâncias

Ésteres são substâncias químicas comumente derivadas de ácidos e álcoois a partir de uma reação de esterificação. Na indústria de produtos manufaturados, esses compostos desempenham um importante papel como aditivos em formulações de alimentos e bebidas, produtos farmacêuticos, cosméticos, e de higiene pessoal. Isso ocorre pelo fato de os ésteres conferirem atributos organolépticos de aroma agradáveis, como aromas frutados (Figura 1), florais e de amêndoas (AKACHA; GARGOURI, 2015; BADGUJAR; PAI; BHANAGE, 2016; BHAVSAR; YADAV, 2018; BRITO *et al.*, 2020; GAO *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2014; TODERO *et al.*, 2015). Nesse sentido, o butanoato de etila é um aditivo de aroma amplamente utilizado em diversas indústrias, devido ao seu aroma frutado intenso, semelhante ao de abacaxi e outras frutas tropicais. Sua alta volatilidade e pureza sensorial o diferenciam de outros ésteres, promovendo um perfil aromático marcante inclusive em baixas concentrações (XU; MIHAZUL; LI, 2020).

Figura 1 – Exemplos de moléculas de ésteres que apresentam aromas frutados empregados como aditivos de produtos manufaturados



Fonte: Anderson (2023).

O mercado de aromas e fragrâncias se destaca quanto ao seu valor econômico em

comparação com os demais aditivos químicos. Esse segmento foi avaliado em 27,5 bilhões de dólares em 2023, com o setor de alimentos e bebidas obtendo a maior cota de mercado, cerca de 88%. A projeção é de crescimento, de 28,72 bilhões de dólares em 2024 para 42,27 bilhões de dólares em 2032, apresentando uma CAGR de 5% (FORTUNE BUSINESS INSIGHTS, 2024). O intenso crescimento desse mercado multibilionário é bastante atrativo para investimentos, acompanhando uma alta demanda para produção de aromas, exigindo do setor industrial processos mais eficientes, que apresentem altos rendimentos e menor geração de resíduos (KOVALENKO *et al.*, 2021).

Apesar disso, ainda existe uma diferença significativa entre práticas industriais e soluções tecnológicas otimizadas (KHAN *et al.*, 2021). A fabricação de ésteres pode ocorrer a partir de sua extração de fontes naturais, como frutas, e de maneira sintética, através de reações de síntese orgânica (LAROCK; ROZHKOV, 2018). Algumas técnicas utilizadas para obtenção de ésteres de fontes naturais são a destilação fracionada, a extração líquido-líquido, a extração por fluido supercrítico e a adsorção. Essas técnicas possuem em comum o fato de apresentarem custo elevado e baixo rendimento, além de depender da sazonalidade de cultivo de vegetais fontes de ésteres (APPS; TOCK, 2005; CARROLL; DESAI; ATSUMI, 2016; DEVI; RADHIKA; BHARGAVI, 2017; NADAR; RAO; RATHOD, 2018; SAFFARIONPOUR; OTTENS, 2017).

Desse modo, a maioria dos ésteres aromatizantes é fabricada por rotas químicas (AKACHA; GARGOURI, 2015). A reação de esterificação entre ácidos carboxílicos e álcoois é a rota química mais indicada para produção de ésteres, por obter como produtos da reação apenas o éster de interesse e a água como subproduto, diferentemente de outras reações, como a transesterificação, o que simplifica as etapas futuras de purificação de produtos (NIETO *et al.*, 2022). No entanto, a esterificação é uma reação controlada termodinamicamente e o deslocamento do equilíbrio da reação para a formação do éster faz-se necessário para que o rendimento de produção não seja comprometido. Para isso, pode-se manter um dos reagentes em excesso, preferencialmente o álcool, ou realizar a remoção contínua da água do meio reacional (KHAN *et al.*, 2021).

Existem diversas práticas industriais para a fabricação de ésteres por esterificação, incluindo métodos não catalíticos (térmicos) e através de catálise em fase homogênea ou heterogênea. No entanto, a rota química apresenta diversas desvantagens, como o uso de produtos químicos e catalisadores perigosos, solventes tóxicos, condições extremas de pressão e temperatura, longos tempos de reação, falta de seletividade pelo substrato e remoção de coprodutos da reação, fatores estes que reduzem a eficiência do processo de fabricação dos

aromas, além de desagradarem o público consumidor, que se preocupa com os impactos que substâncias tóxicas podem causar na saúde humana (KHAN; RATHOD, 2015; MANAN *et al.*, 2016, MOHAMAD *et al.*, 2015, SILVA *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2015).

Dessa forma, há um grande interesse por parte de pesquisadores e do setor industrial em substituir a rota química de produção de ésteres por processos biotecnológicos, especialmente pelo processo enzimático que utiliza lipases para catálise da reação de esterificação. Essa biocatálise oferece vários benefícios, como alta seletividade e especificidade, altos rendimentos em condições reacionais brandas de pressão e temperatura, além de redução na formação de coprodutos da reação, podendo diminuir, assim, os custos com a operação industrial (FERRAZ *et al.*, 2015; GARLAPATI *et al.*, 2013; KUO *et al.*, 2014; STENCEL; LEADBEATER, 2014). Apesar desses benefícios, a utilização de lipases solúveis em processos industriais implica em altos gastos com catalisadores, por possuírem desvantagens como formação de aglomerados na presença de solventes orgânicos e baixa estabilidade a pH e temperatura, incapacitando sua reutilização (ILMI *et al.*, 2016; THANGARAJ; SOLOMON, 2019).

Nesse contexto, o emprego de lipases imobilizadas torna-se mais vantajoso por aprimorar a tolerância das enzimas a pH e temperatura, além de melhorar sua estabilidade mecânica e facilitar as etapas de recuperação do biocatalisador, permitindo sua reutilização em diversos ciclos operacionais (DATTA; CHRISTENA; RAJARAM, 2012; REIS *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2017). Assim, diversos trabalhos objetivando o uso de lipases imobilizadas na produção de ésteres utilizados como aromas vêm sendo produzidos com o intuito de compreender os fatores que influenciam a reação de esterificação e levantar dados sobre os parâmetros de processo para dimensionamento de equipamentos para aplicações industriais (SÁ *et al.*, 2017).

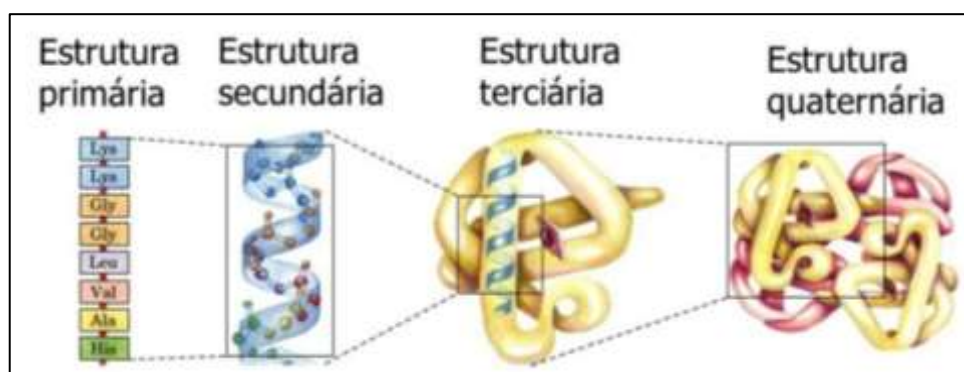
3.2 Enzimas: catalisadores biológicos

3.2.1 Estrutura, funcionamento e definições termodinâmicas

Enzimas são, majoritariamente, proteínas globulares especializadas. No contexto de biocatalisadores, apresentam alto grau de especificidade com seus substratos, evitando vias reacionais indesejáveis, aceleram as reações químicas e atuam em soluções aquosas em condições suaves de temperatura e pH, o que torna o processo, do ponto de vista operacional, mais econômico e seguro (NELSON; COX, 2014). A estrutura proteica de uma enzima,

observada na Figura 2, é determinada pela sequência de aminoácidos que a compõe (estrutura primária), assim como sua conformação (estruturas secundária, terciária e, caso possua, quaternária) (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009). Os diferentes grupamentos presentes na composição das enzimas são os principais responsáveis pela sua alta especificidade.

Figura 2 – Estrutura proteica das enzimas



Fonte: Brainly (2023).

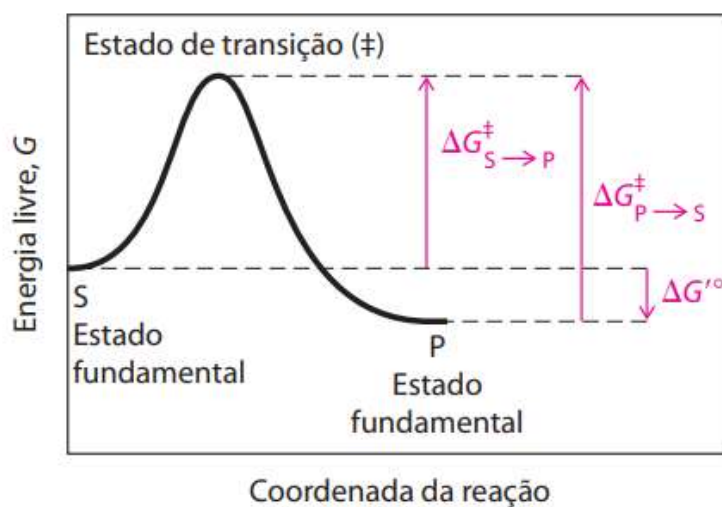
A atuação de uma enzima como catalisador consiste em aumentar a velocidade da reação bioquímica conduzida, não influenciando em seu equilíbrio (NELSON; COX, 2014). Uma reação enzimática simples pode ser descrita pela Equação 1:



Em que E , S e P representam a enzima, o substrato e o produto, respectivamente. A Figura 3 apresenta um diagrama de coordenadas da reação, ilustrando a variação da energia livre de Gibbs no decorrer da reação exemplificada.

Os estados energéticos de partida tanto para a reação direta quanto para a inversa são definidos como estados fundamentais e o equilíbrio entre S e P é descrito pela sua diferença. O sinal da variação da energia livre de Gibbs padrão ($\Delta G'^{\circ}$) indica se a reação é exergônica (espontânea) ou endergônica (não espontânea). Essa informação indica para qual lado o equilíbrio da reação é favorecido.

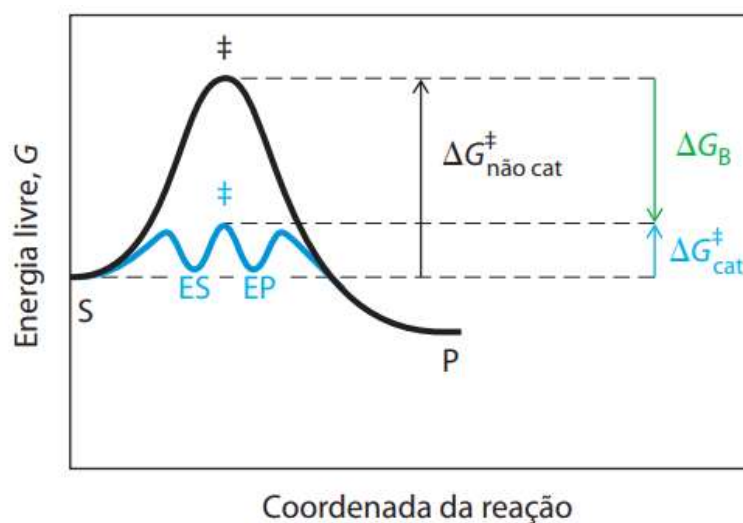
Figura 3 – Diagrama de coordenadas da reação enzimática descrita pela Equação 1



Fonte: Nelson e Cox (2014).

Para que a reação ocorra, independentemente do sentido, é necessário que as espécies envolvidas alcancem o pico da curva de energia, denominado de estado de transição, sendo a variação entre a energia desse ponto e a do estado fundamental definida como energia de ativação (ΔG^{\ddagger}). Este parâmetro é inversamente proporcional a velocidade da reação. Fatores como pressão e temperatura contribuem para o atingimento desse ponto no sistema reacional. Os catalisadores, no entanto, reduzem a energia de ativação da reação (Figura 4).

Figura 4 – Comparativo entre as energias de ativação na reação não catalisada ($\Delta G_{\text{não cat}}^{\ddagger}$) e na catalisada ($\Delta G_{\text{cat}}^{\ddagger}$)



Fonte: Nelson e Cox (2014).

De acordo com a primeira lei da termodinâmica, a energia se conserva. Portanto, as enzimas suprem a energia restante para alcançar o estado de transição através das forças intermoleculares, interações fracas e não covalentes com o substrato, oriundas da estabilização da estrutura conformacional da enzima, sendo capazes de liberar pequenas quantidades de energia livre, conduzindo a catálise. A essa energia, dá-se o nome de energia de ligação (ΔG_B). Essas interações também são responsáveis pela alta especificidade desses biocatalisadores (LI; HEAD-GORDON, 2020; NELSON; COX, 2014).

Sendo assim, observa-se que o equilíbrio da reação está intimamente relacionado com a variação da energia livre de Gibbs padrão, enquanto a velocidade da reação está com a energia de ativação. Uma reação em equilíbrio de S gerando P , em condições padrão, pode ser descrita através de uma constante de equilíbrio (K_{eq}), sendo definida como a razão das concentrações do produto, $C_{p,eq}$, e do substrato, $C_{s,eq}$, como mostrado na Equação 2.

$$K_{eq} = \frac{C_{p,eq}}{C_{s,eq}} \quad (2)$$

Termodinamicamente, a relação entre K_{eq} e $\Delta G'^{\circ}$ pode ser descrita pela Equação 3:

$$\Delta G'^{\circ} = -RT \cdot \ln K_{eq} \quad (3)$$

Em que R é a constante dos gases e T é a temperatura absoluta. Dessa equação, infere-se que quanto mais negativo o valor de $\Delta G'^{\circ}$, maior será o valor de K'_{eq} , refletindo em um equilíbrio de reação favorável para formação de produto.

A velocidade de uma reação (v), seguindo uma cinética simples de primeira ordem, pode ser determinada a partir das concentrações dos reagentes e de uma constante de velocidade (k), como na Equação 4.

$$v = kC_s \quad (4)$$

De acordo com a teoria do estado de transição, a constante de velocidade pode ser correlacionada com a energia de ativação pela Equação 5.

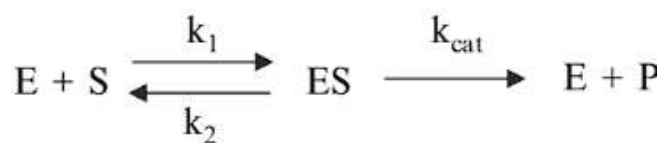
$$k = \frac{k_b T}{h} \cdot \exp\left(\frac{-\Delta G^\ddagger}{RT}\right) \quad (5)$$

Em que k_b é a constante de Boltzmann e h é a constante de Planck. Dessa forma, observa-se que k tem relação exponencial inversa com ΔG^\ddagger , logo, reações que requerem maior energia de ativação apresentam velocidades menores.

3.2.2 Cinética enzimática

A cinética enzimática trata da análise quantitativa de todos os fatores que determinam o potencial catalítico de uma enzima. Seu estudo é relevante para a construção de modelos moleculares para previsão do comportamento de uma enzima em determinadas condições e, do ponto de vista tecnológico, permite a formulação de modelos cinéticos necessários para o dimensionamento e a avaliação da performance de um reator (ILLANES, 2008). A Figura 5 representa as etapas de uma reação enzimática simples de conversão do substrato S no produto P através da formação do complexo enzima-substrato ES , em que k_1 , k_2 e k_{cat} são as constantes cinéticas de cada etapa.

Figura 5 – Etapas de uma reação enzimática: formação do complexo enzima-substrato e liberação do produto



Fonte: Illanes (2008).

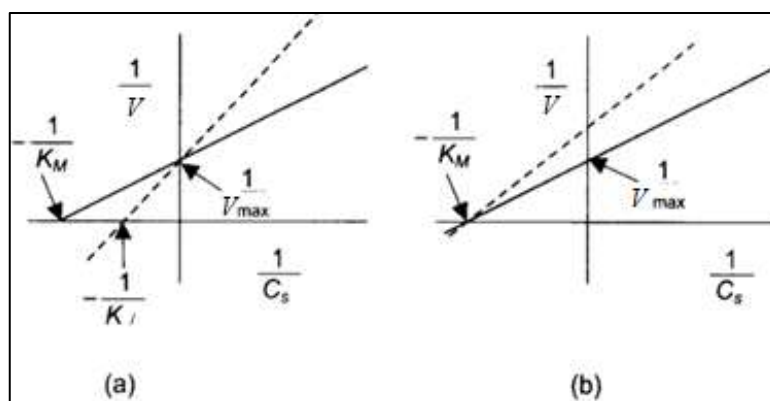
A Equação 6, proposta por Henri, descreve a velocidade da reação em um sistema enzimático, em que os parâmetros K_m e v_{max} são parâmetros cinéticos determinados experimentalmente, sendo v_{max} o produto entre a concentração inicial de enzima (E_0) e a constante de velocidade da etapa de liberação do produto e da enzima livre (k_{cat}).

$$v = \frac{v_{max} C_s}{K_m + C_s} \quad (6)$$

Sua derivação pode ser obtida a partir de duas abordagens: a de Michaelis-Menten (equilíbrio rápido) ou a de Briggs-Haldane (estado pseudo-estacionário). Substancialmente, as duas abordagens diferem na definição de K_m , que é igual à constante de dissociação (k_2/k_1) para a primeira e, na segunda, também é considerada a constante de velocidade da etapa de liberação do produto e da enzima livre ($k_2 + k_{cat} / k_1$), em que k_1 e k_2 são as constantes de velocidade direta e inversa da formação do complexo enzima-substrato, respectivamente (DUTTA, 2008).

Nos sistemas enzimáticos industriais, a maioria das reações é influenciada por efeitos de inibição de produto e/ou substrato, sendo a cinética de inibição enzimática bastante relevante para o dimensionamento dos equipamentos, tendo em vista que o inibidor é uma substância capaz de reduzir o potencial catalítico das enzimas (DEODHAR *et al.*, 2020). Os inibidores podem ser classificados como competitivos, ligando-se ao sítio ativo da enzima por apresentar uma forte semelhança estrutural com o substrato, não-competitivos, podendo se ligar tanto ao sítio ativo como em outra região da enzima, e mistos, sendo uma combinação dos dois (RING; WRIGHTON; MOHUTSKY, 2021; WALDROP, 2021). A Figura 6 apresenta o efeito dos diferentes tipos de inibidores nos parâmetros cinéticos através do gráfico de Lineweaver-Burk, ressaltando o efeito da redução da velocidade da reação.

Figura 6 – Efeito de inibidores (a) competitivos e (b) não-competitivos na cinética enzimática



Fonte: Adaptado de Illanes (2008).

Além das concentrações de enzima, substratos e inibidores, fatores ambientais também impactam o potencial catalítico das enzimas, sendo o pH e a temperatura os mais relevantes. Pelo fato de as proteínas constituintes das enzimas serem polímeros conectados por diversos tipos de interações moleculares, espera-se que o pH apresente efeito significativo na estabilidade e consequente atividade das enzimas. Alterações no pH da solução implicam em

uma modificação das cargas de toda a estrutura proteica, portanto, é de fundamental importância conhecer o efeito do pH na atividade enzimática e a condição operacional mais otimizada para realização da catálise (SHARIF, 2024; WANG *et al.*, 2024).

Com relação à influência da temperatura em sistemas enzimáticos, observam-se efeitos contrários. O aumento da temperatura tem relação direta tanto com a velocidade da reação como com o equilíbrio químico, como visto anteriormente nas Equações 3 e 5, porém, também promove uma maior taxa de desativação da enzima, favorecendo o fenômeno de desnaturação enzimática, tratando-se da perda da estabilidade da estrutura conformacional proteica (ARCUS *et al.*, 2020; CAO; WANG, 2016).

3.2.3 Imobilização de enzimas

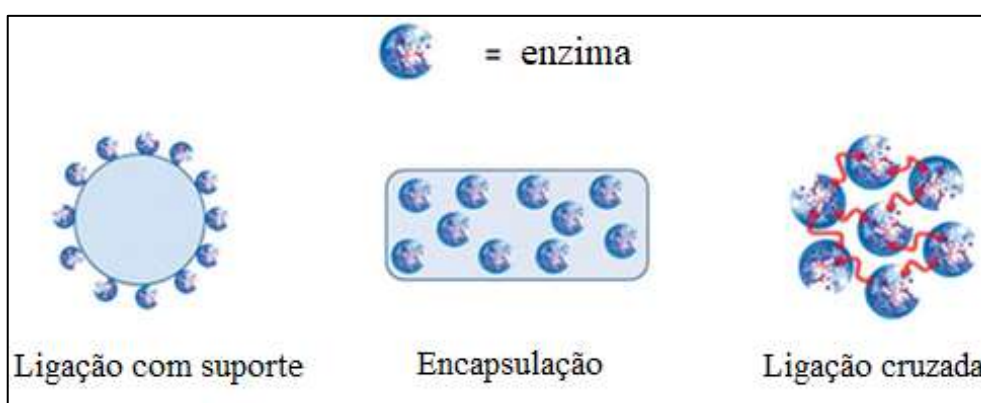
Há uma grande demanda para que os processos desenvolvidos pela indústria química atendam aos princípios da química verde, como redução da geração de resíduos, projeto de sistemas eficientes energeticamente, utilização de substâncias químicas mais seguras, dentre outros, o que promove intensa pesquisa e desenvolvimento na área de biocatálise (SHELDON, 2012; POLLARD; WOODLEY, 2007; WOODLEY, 2008; SHELDON; WOODLEY, 2017; SHELDON; BRADY, 2019). O emprego de enzimas em processos industriais encontra empecilhos principalmente com relação à estabilidade operacional e à reutilização desses catalisadores. Assim, a imobilização de enzimas se tornou uma ferramenta poderosa na fabricação de biocatalisadores heterogêneos aptos para atuar nos sistemas industriais (SHELDON; VAN PELT, 2013).

O custo operacional das enzimas implica na necessidade de reutilizá-las para que o processo apresente viabilidade econômica, porém, a utilização de enzimas livres dificulta sua recuperação. Nesse contexto, a imobilização de enzimas em suportes sólidos facilita essa operação, além de possibilitar o aprimoramento da estabilidade térmica, mecânica e operacional do biocatalizador elaborado. Com uma performance melhorada e garantindo um maior reuso, obtém-se uma maior produtividade do catalisador, relacionada com a massa de produto obtida por massa de catalisador empregada (SÁ *et al.*, 2017; SHELDON; VAN PELT, 2013).

Existem diferentes técnicas de imobilização de enzimas (Figura 7), sendo geralmente agrupadas em três grupos: ligação com o suporte, encapsulação e ligação cruzada de agregados ou cristais enzimáticos. A técnica de ligação com o suporte utiliza de interações físicas, iônicas ou covalentes entre a estrutura da enzima e a matriz do suporte para realizar a imobilização. Interações físicas são mais fracas do que iônicas ou covalentes, no entanto, existe

a possibilidade de reutilização do suporte à medida que há redução da atividade do catalisador. O encapsulamento consiste em aprisionar as enzimas em uma matriz polimérica e se diferencia da primeira técnica pelo fato de a enzima estar presente durante a fabricação do suporte. Por fim, métodos envolvendo ligações cruzadas são empregados para preparar micropartículas sem material de suporte, tendo em vista que sua presença dilui a atividade enzimática, reduzindo o rendimento e a produtividade do biocatalisador (MAGHRABY *et al.*, 2023; RODRIGUES *et al.*, 2021).

Figura 7 – Técnicas empregadas na produção de enzimas imobilizadas

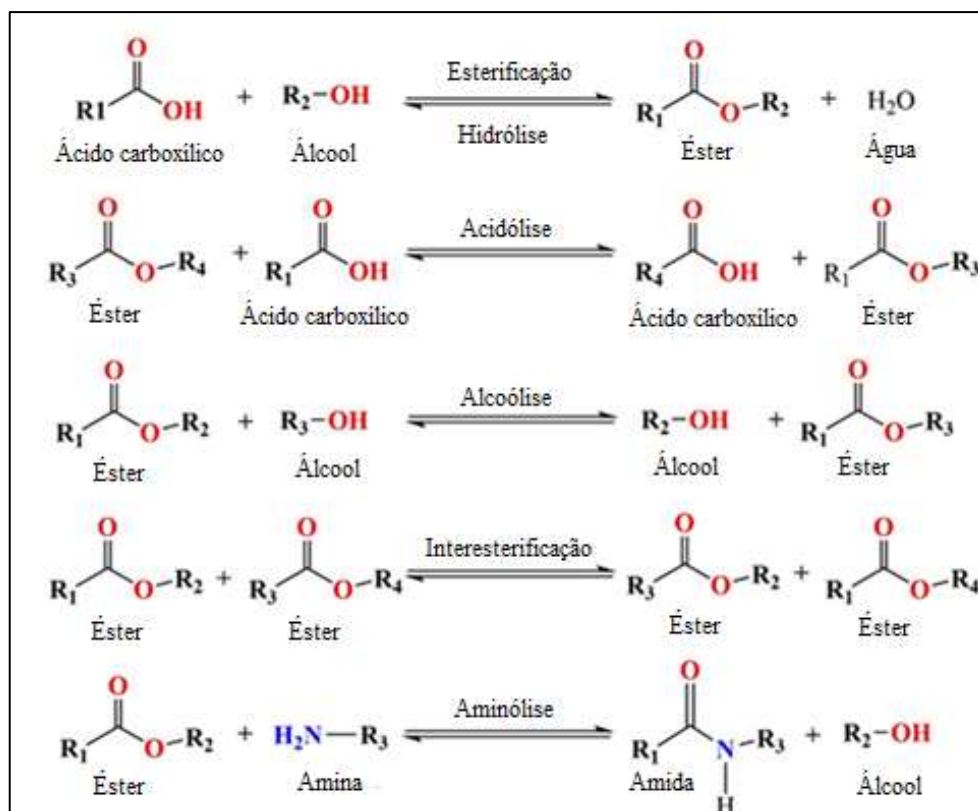


Fonte: Adaptado de Sheldon e van Pelt (2013).

3.3 Lipases: catalisadores para síntese de ésteres

As lipases (EC 3.1.1.3), pertencentes a classe de hidrolases, estão entre as enzimas mais amplamente discutidas em estudos abordando a ação enzimática, se diferenciando por sua enantiosseletividade, alta estabilidade e ampla variedade de substratos (POURZOLFAGHAR *et al.*, 2016; XU; MINHAZUL; LI, 2020). Esses biocatalisadores são reconhecidos por catalisarem a hidrólise de triglicerídeos em ácidos graxos e glicerol, mas também apresentam a capacidade de conduzir diversas reações (Figura 8), como esterificação, transesterificação, interesterificação e transferência de grupos alquil para outros nucleófilos, como aminas e tióis (HOANG; MATSUDA, 2016; HORCHANI *et al.*, 2010; MENDES; CASTRO; GIORDANO, 2014; NARWAL *et al.*, 2016; PALUDO *et al.*, 2015; TOMKE; RATHOD, 2015).

Figura 8 – Reações catalisadas por lipases



Fonte: Adaptado de Remonatto *et al.* (2022).

As lipases apresentam um mecanismo conformacional denominado de ativação interfacial, no qual o sítio catalítico da enzima é coberto por uma estrutura polipeptídica (“tampa”) que promove o seu isolamento do meio reacional na ausência de uma superfície lipofílica, como os substratos (DONG *et al.*, 2024; RABBANI *et al.*, 2023). Além disso, o caminho percorrido por lipases em reações químicas é fortemente dependente da quantidade de água presente no meio reacional, realizando a síntese ou a hidrólise de compostos orgânicos (KHAN *et al.*, 2021).

A fabricação de lipases se dá, principalmente, a partir de fungos, sendo as empresas Novozymes, DuPont e Roche as mais relevantes na comercialização dessas enzimas, tanto na forma livre como imobilizadas (GUPTA *et al.*, 2015). Os objetivos principais da produção de lipases imobilizadas consistem em obter biocatalisadores enzimáticos insolúveis, aumentar sua estabilidade operacional, possibilitar a recuperação e reutilização, além da automatização de processos operando em regime contínuo, e minimizar a inibição alostérica dessas enzimas (SHELDON; BASSO; BRADY, 2021).

Na produção de ésteres, lipases de três espécies do gênero *Candida* são as mais frequentemente empregadas em estudos acadêmicos (XU; MINHAZUL; LI, 2020). Quanto aos

suportes de imobilização, os mais comumente aplicados são partículas esféricas macroporosas, como a resina comercial Lewatit VP OC 1600, composta por polímero de polimetacrilato entrecruzado com divinilbenzeno, utilizada no preparo do biocatalisador heterogêneo Novozym 435 a partir da adsorção de CALB. Esse biocatalisador comercial possui bastante destaque por sua alta eficiência catalítica na síntese de ésteres, apresentando área superficial de 130 m²/g, tamanho de partícula variando de 315 a 1000 μm e diâmetro de poro igual a 150 Å (MARTINS *et al.*, 2014; SÁ *et al.*, 2017; SALVI; KAMBLE; YADAV, 2017).

Apesar dos benefícios existentes no emprego de lipases imobilizadas comerciais, esse método de síntese de compostos orgânicos é considerado dispendioso devido ao alto custo do material de suporte e à complexidade do processo de imobilização enzimática. Ademais, o custo efetivo do processo industrial também é implicado ao considerar a perda da atividade do biocatalisador após seu uso em diversos ciclos operacionais (KHAN *et al.*, 2021).

3.4 Engenharia da reação de síntese enzimática de ésteres

A engenharia da reação consiste no estudo dos diversos fatores que influenciam no curso de uma reação. Para a realização de esterificação por enzimas lipases imobilizadas, faz-se necessário compreender como a atividade catalítica pode ser afetada pelos parâmetros de processo e a otimização destes é importante para se obter altos rendimentos. Dentre as principais variáveis que influenciam a esterificação enzimática, pode-se destacar: razão molar entre substratos, tipo e quantidade de enzima, temperatura, tempo de reação, presença ou ausência de sistema de agitação no reator, velocidade de agitação e uso de solventes orgânicos (GENG *et al.*, 2012; PAROUL *et al.*, 2012; STENCEL; LEADBEATER, 2014).

O emprego de lipases imobilizadas na síntese de ésteres apresenta diversas vantagens, como aumento de atividade, especificidade e seletividade, ganho de estabilidade mecânica, facilidade na separação, recuperação e posterior reuso do biocatalisador por estar conectado a uma matriz sólida (BANSODE; RATHOD, 2014; DHAKE *et al.*, 2011; KUO *et al.*, 2014; NARWAL *et al.*, 2016). No entanto, o suporte de imobilização pode impactar diretamente na reação, tendo em vista os efeitos de restrição difusionais que podem restringir a atividade das enzimas. Limitações difusionais podem ser mitigadas ao aumentar a velocidade de agitação do sistema, mobilizando a camada estagnada do meio reacional aderida à superfície externa do biocatalisador heterogêneo (COROVIC *et al.*, 2020), bem como utilizando suportes de imobilização macroporosos, facilitando o processo de difusão intraparticular (BOUDRANT; WOODLEY; FERNANDEZ-LAFUENTE, 2020; HOSNEY *et al.*, 2019; ZOU *et al.*, 2019).

A quantidade de biocatalisador empregado em um processo está diretamente relacionada com o custo e, conseqüentemente, sua viabilidade técnica e econômica, apresentando uma relação inversamente proporcional à sua produtividade (SÁ *et al.*, 2017). Assim, quanto mais eficiente o biocatalisador atuar nas condições de reação impostas, menor será seu custo operacional.

Outro fator que impacta na velocidade da reação é a concentração de substratos empregado no processo. Em reações de esterificação, a razão molar entre os substratos, ácido e álcool, é determinante para obtenção de altas conversões. Quando a concentração de ácido está alta, há perda de atividade enzimática devido à desnaturação da enzima, por estar em condições baixas de pH. Dessa forma, busca-se trabalhar com concentrações maiores de álcool. No entanto, um grande aumento na concentração desse substrato também pode impactar negativamente na conversão, pois o caráter hidrofílico do álcool pode ocasionar alterações conformacionais na lipase por interagir com a camada de água presente em sua estrutura com a função de estabilizá-la (BADGUJAR; BHANAGE, 2015; GUMEL; ANNUAR, 2016; SHINDE; YADAV, 2014; WANG *et al.*, 2015).

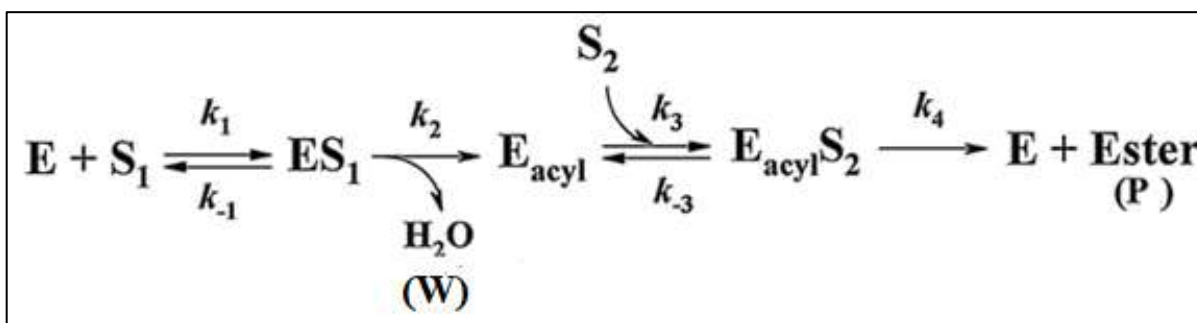
Ainda sobre as substâncias envolvidas na reação de esterificação, sabe-se que a água formada pode deslocar o equilíbrio da reação para hidrólise dos ésteres produzidos, logo, para se obter altos rendimentos, este coproduto da esterificação deve ser removido do meio reacional. Uma forma de remover a água durante a operação do reator consiste em empregar peneiras moleculares com características hidrofílicas, impedindo o deslocamento do equilíbrio para hidrólise (SHARMA *et al.*, 2011). Além disso, outra forma de favorecer o equilíbrio para formação do éster consiste em utilizar solventes orgânicos, como hexano e heptano, ademais, seu emprego também pode aumentar a solubilidade dos substratos da reação, porém, pode afetar negativamente nos custos da operação de separação e representar um risco por presença de resíduos perigosos no produto final (AKACHA; GARGOURI, 2015; PATEL *et al.*, 2015; SÁ *et al.*, 2017).

Como discutido anteriormente, a temperatura é um fator crucial para a biocatálise, pois apresenta relação diretamente proporcional com a velocidade de reação, embora cause desativação do biocatalisador com o tempo. A temperatura também influencia na viscosidade da mistura reacional e reduz limitações envolvendo fenômenos de transferência de massa, o que é vantajoso para sistemas heterogêneos (SÁ *et al.*, 2017).

A maioria dos fatores apresentados pode ser correlacionada por um modelo cinético apropriado. Diversos mecanismos são capazes de explicar reações de esterificação catalisadas por lipases, sendo o Ping-Pong Bi-Bi o mais usual (KUO *et al.*, 2014). Esse mecanismo

considera que há a formação de um complexo enzima-substrato com um único substrato, formando o primeiro produto e outra espécie reativa da lipase, que se complexa com o segundo substrato, liberando o segundo produto da reação e a espécie reativa original. Uma representação desse mecanismo pode ser vista na Figura 9.

Figura 9 – Mecanismo Ping-Pong Bi-Bi representando a cinética da reação de esterificação



Fonte: Adaptado de Foukis *et al.* (2018).

Da mesma forma que é necessário compreender como as variáveis de processo podem influenciar em uma reação de esterificação enzimática, definir métricas apropriadas para avaliar a performance dessa reação também é de fundamental importância no desenvolvimento de processos biotecnológicos industriais. Embora o critério de conversão seja bastante aplicado na literatura, essa métrica não considera o tempo de reação, a quantidade de biocatalisador empregada ou o volume do reator, podendo ocasionar o superdimensionamento desses parâmetros caso a conversão seja empregada como objetivo de otimização.

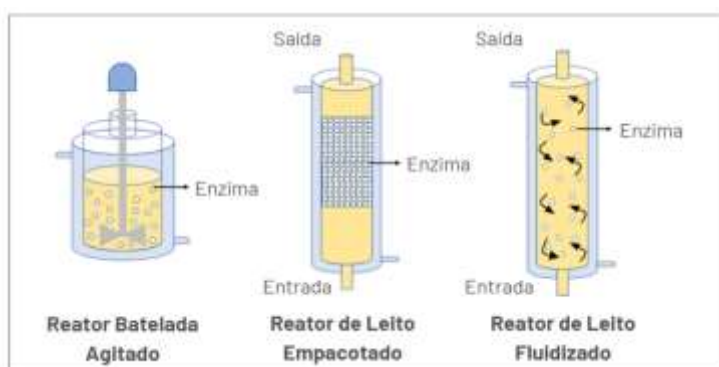
Assim, para comparar a performance de diferentes processos, é relevante considerar a produtividade ou o rendimento espaço-temporal do processo catalítico, expresso em unidades de massa de produto por volume de reator e tempo, sendo a métrica mais eficiente ao se buscar a intensificação de processos (BUDZAKI *et al.*, 2018; GUAJARDO; SCHREBLER; MARÍA, 2019; MATTE *et al.*, 2016). Ademais, a concentração final de produto, a produtividade do biocatalisador, que pondera a massa demandada no processo, bem como critérios de avaliação de sustentabilidade, como o fator ambiental, relacionando a massa de resíduos gerada com a de produto obtida, devem ser empregados para guiar o desenvolvimento necessário para a engenharia de reação dos bioprocessos (SHELDON; WOODLEY, 2018; WOODLEY, 2019).

3.5 Engenharia do reator para síntese enzimática de ésteres

A engenharia do reator é um campo de estudo dedicado ao projeto, modelagem, otimização e operação de reatores químicos, objetivando maximizar a eficiência de reações químicas em escala industrial. Avaliar a engenharia do reator é de fundamental importância no desenvolvimento de processos, tendo em vista que o uso de configurações de reatores e condições operacionais viáveis é crucial para obter altos rendimentos de reação e, conseqüentemente, o retorno financeiro desejável (REMONATTO *et al.*, 2022).

Dessa forma, os reatores mais empregados em reações de síntese orgânica catalisada por lipases imobilizadas, Figura 10, são os reatores de tanque agitado (STR), de leito empacotado (PBR) e de leito fluidizado (FBR), operando em regime batelada, semibatelada ou contínuo (MENESES *et al.*, 2020). O sistema de um STR é constituído por um tanque equipado com um agitador mecânico, empregado para melhorar a eficiência da mistura reacional (PAULA *et al.*, 2015). Pela facilidade de operá-lo e por apresentar baixo custo, o STR em regime batelada é o tipo de configuração mais reportado na literatura, sendo utilizado em estudos preliminares, na definição de condições operacionais e na geração de dados cinéticos (NORIEGA *et al.*, 2020; REMONATTO *et al.*, 2022). No entanto, em escala industrial, essa configuração apresenta limitações relacionadas ao grande volume requerido para obtenção de altos rendimentos de produção, além de necessitar de tempos de parada para descarga, recuperação de biocatalisador, limpeza e recarga do reator (FEKHAR; ZSINKA; MISKOLCZI, 2020; SHARUDDIN *et al.*, 2016).

Figura 10 – Configurações de reatores utilizadas na síntese enzimática de ésteres



Fonte: Adaptado de Remonatto *et al.* (2022).

Apesar disso, por apresentar agitação mecânica, o STR operando em batelada oferece baixos gradientes de concentração de substratos e temperatura no meio reacional, favorecendo fenômenos de transferência de massa e calor, o que pode reduzir o efeito de

restrições difusionais na velocidade de reação em sistemas heterogêneos, como os que utilizam lipases imobilizadas. Ademais, o STR é altamente indicado para conduzir reações em que o biocatalisador pode ser inibido por produtos ou subprodutos, inclusive em processos controlados pelo equilíbrio químico, como na esterificação (BÔAS *et al.*, 2018). Além disso, é possível configurar esse reator em batelada alimentada, podendo intensificar a atividade de enzimas que apresentem inibição por substratos através da adição gradual e controlada destes no volume reacional (GOMES; TEIXEIRA; BELO, 2011; JUNG *et al.*, 2017).

Nesse sentido, Meneses *et al.* (2019) propuseram o uso de um reator operando em batelada alimentada para fabricação de butanoato de benzila por esterificação direta catalisada por Novozym 435. A estratégia melhorou a performance do biocatalisador, reduzindo a inibição de sua atividade pela concentração de ácido, o que facilitou a conversão do éster, superando as desvantagens relacionadas ao excesso de álcool. Dessa forma, a atividade da Novozym 435 foi mantida por vários ciclos de esterificação.

O reator de leito empacotado (PBR) é o mais empregado para condução de reações com lipases imobilizadas em regime contínuo (ZHONG *et al.*, 2020). Essa configuração de reator pode ser facilmente construída e escalonada para operar em plantas industriais, tendo a vantagem de reutilização dos biocatalisadores, pois estes compõem uma coluna empacotada que permanece fixa no reator ao fim do processo (GUAJARDO; SHREBLER; MARÍA, 2019). Ademais, dada a ausência de agitação mecânica, a desativação de biocatalisadores por efeitos de cisalhamento é significativamente inferior em um PBR comparado a um STR (GUPTA *et al.*, 2020; ROBLES-MEDINA *et al.*, 2009). A capacidade volumétrica requerida inferior em relação ao reator batelada também é um atrativo para escolha desse tipo de equipamento.

Apesar das vantagens apresentadas, a queda de pressão é um dos desafios de empregar um PBR, embora o aumento no tamanho das partículas para redução da compactação do leito seja uma alternativa para reduzi-la e, conseqüentemente, a potência de bombeamento requerida para o processo. Em reações de esterificação catalisadas por biocatalisadores heterogêneos, o PBR pode apresentar limitações quanto à presença de restrições difusionais externas e internas, o que ocasiona redução de produtividade, além de serem intensificadas pelo aumento no tamanho das partículas para controlar a queda de pressão, reduzindo a difusão intraparticular e resultando em velocidades de reação mais lentas (GUPTA *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2011).

Comparado ao PBR, o reator de leito fluidizado (FBR) é menos susceptível a compactação do leito, pois as partículas de biocatalisador são mantidas em movimentação devido ao bombeamento de um fluido pelo reator (AGUIEIRAS; CAVALCANTI-OLIVEIRA;

FREIRE, 2015; LORENZONI *et al.*, 2015; MATTE *et al.*, 2016). O emprego dessa configuração oferece fácil operação, além de favorecer a transferência de massa através da turbulência gerada pela vazão de alimentação, sendo alta o suficiente para promover a suspensão das partículas de biocatalisador (WANG *et al.*, 2019). O maior desafio do uso do FBR em sistemas industriais está no aumento de escala, em vista da dificuldade de homogeneizar grandes volumes de reatores sem agitação mecânica, sendo recomendado para processos que requerem baixa velocidade de reação e curtos tempos de residência (POPPE *et al.*, 2015; REMONATTO *et al.*, 2022).

3.6 Modelagem, simulação e otimização de processos enzimáticos

A modelagem e simulação de processos é uma abordagem de grande valor para engenheiros por fornecer suporte no desenvolvimento de bioprocessos, além de possibilitar uma compreensão aprofundada das variáveis que influenciam a performance de um processo industrial, permitindo a solução de problemas de forma ágil, o monitoramento de desempenho *on-line* e a otimização em tempo real através de métodos computacionais (TUFVESSON *et al.*, 2013). Nesse sentido, modelos para simulação de processos podem ser utilizados para desenvolver plantas industriais completas, calcular balanços de massa e energia, ampliar a escala de equipamentos, determinar custos de capital e operação, e, acima de tudo, analisar a viabilidade econômica do sistema proposto (DEROSE *et al.*, 2019).

Assim, estudos realizados com modelos de processos são importantíssimos, pois demonstram a utilidade de avaliar a performance de processos escolhendo diferentes tipos de reatores ou configurações operacionais. A maioria dos modelos podem ser classificados como mecanísticos, pois são construídos assumindo certos mecanismos reacionais. Ademais, ao considerar o projeto de reatores, balanços de massa também são incluídos, diferenciando as configurações de equipamentos, podendo operar em batelada, semibatelada ou de forma contínua. Limitações a transferência de massa também são relevantes e devem ser incluídas na modelagem, especialmente ao tratar de sistemas contendo enzimas imobilizadas ou meios bifásicos (SIN; WOODLEY; GERNAEY, 2009).

Em termos gerais, a modelagem de processos enzimáticos pode ser empregada para três objetivos: análise da cinética, do processo e projeto de sistemas industriais. Na análise da cinética da enzima, o modelo, baseado em um mecanismo reacional, é usado para estimar parâmetros cinéticos e a velocidade de reação do biocatalisador investigado, resultante da combinação de diversas variáveis, como pH, temperatura, concentração e razão molar de

substratos, além do tipo de solvente utilizado. Na análise do processo, o modelo validado é utilizado para avaliar diversas condições e configurações do processo através de simulação para previsão de sua performance, além de verificar como variáveis e modos de operação podem influenciá-la. Para o projeto de sistemas, o modelo é empregado no dimensionamento de operações unitárias, visando atender dado rendimento e capacidade produtiva, analisando o custo e retorno financeiro associado (SIN; WOODLEY; GERNAEY, 2009).

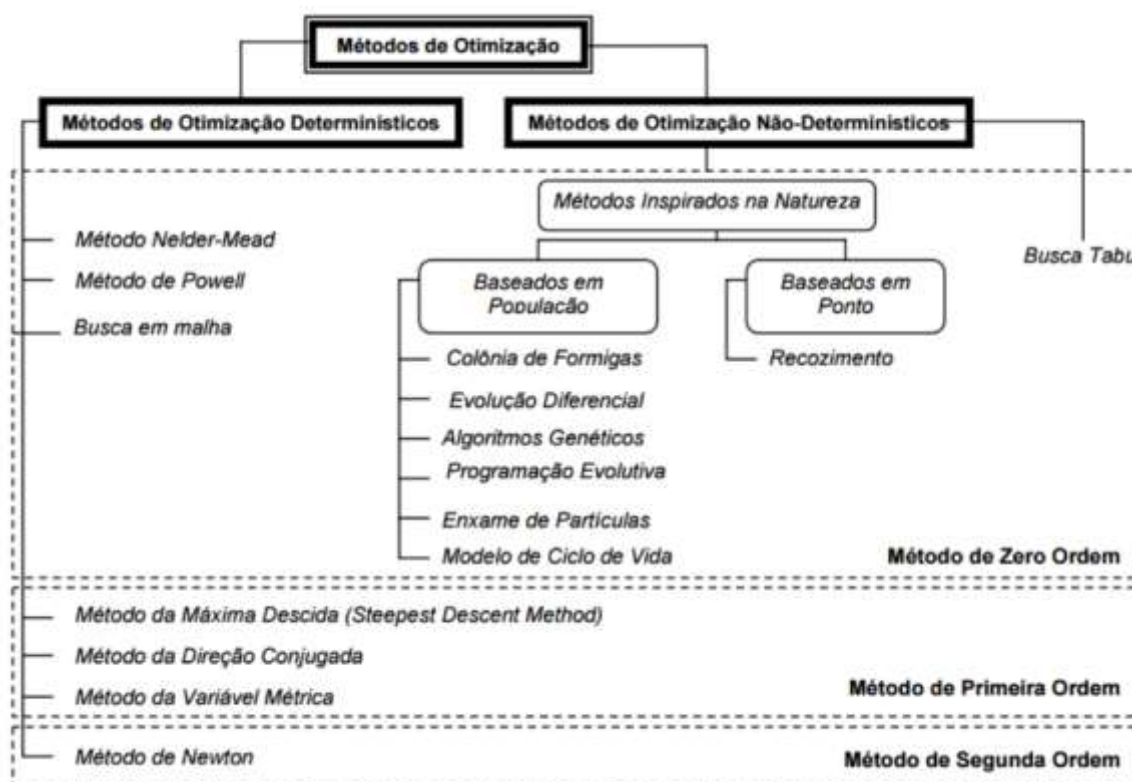
Dentre as técnicas utilizadas na análise de processos através de modelagem e simulação, pode-se destacar a análise de sensibilidade, que consiste em um método de investigação da viabilidade de um projeto ao prever diferentes resultados de saída e mensurar o impacto ocasionado em sua performance pela mudança no valor de variáveis de processo ou parâmetros econômicos (TOWLER; GAVIN, 2013). A análise de sensibilidade aplicada à biocatálise pode auxiliar na otimização e identificação de rotas de produção viáveis economicamente e ambientalmente sustentáveis (CHEN; WANG, 2024).

A otimização de parâmetros em bioprocessos, para melhoria de indicadores de produção, eficiência energética e sustentabilidade, promove agilidade ao processo de pesquisa e desenvolvimento, o que torna a busca por condições operacionais ótimas bastante rápida, reduzindo o tempo de lançamento de produtos para o mercado (CHEN; WANG, 2024). No entanto, na maioria dos trabalhos sobre processos biotecnológicos, principalmente na temática de esterificação enzimática, a busca por condições ótimas através da manipulação das variáveis de processo é feita por tentativa e erro, bem como aplicando métodos de superfície de resposta, utilizando técnicas de delineamento experimental, o que acaba sendo bastante custoso e restringe o problema de otimização à verificação de uma quantidade pequena de variáveis (GUT, 2021; LOPES-FERNANDEZ *et al.*, 2022; MONTEIRO *et al.*, 2019; MULAY; RATHOD, 2022).

Dessa forma, a utilização de algoritmos de otimização (programação matemática) associados a modelos de simulação de processos oferece vantagens na definição de condições ótimas de processos enzimáticos, por possibilitar uma maior área de busca e permitir incorporar mais variáveis de decisão ao problema de otimização, obtendo resultados precisos em menor tempo e utilizando menos recursos. Para isso, inicialmente é preciso definir o problema a ser otimizado, as variáveis independentes, os objetivos, podendo existir mais de um, e as limitações do sistema. Em seguida, é realizada a tradução do problema para equações, inequações e variáveis para construção de um modelo. Ademais, tem-se a resolução do modelo proposto utilizando algoritmos apropriados para o tipo de problema (GUT, 2021).

A escolha por um algoritmo de otimização se dá pelas características do problema a ser resolvido. Para modelos bem estruturados, métodos determinísticos são mais indicados, pois garantem encontrar a solução ótima aplicando regras matemáticas bem definidas, como derivadas e gradientes, de modo a direcionar a busca pela solução. Quando o problema de otimização é complexo, não estruturado e apresenta muitas variáveis, métodos heurísticos ou não-determinísticos são empregados. Estes são baseados em aproximações e regras empíricas que exploram e avaliam múltiplas possibilidades de forma flexível, no entanto, gastam mais tempo para alcançar convergência. A Figura 11 apresenta algoritmos para as classes de métodos de otimização discutidas.

Figura 11 – Classes dos métodos de otimização



Fonte: Borges (2008).

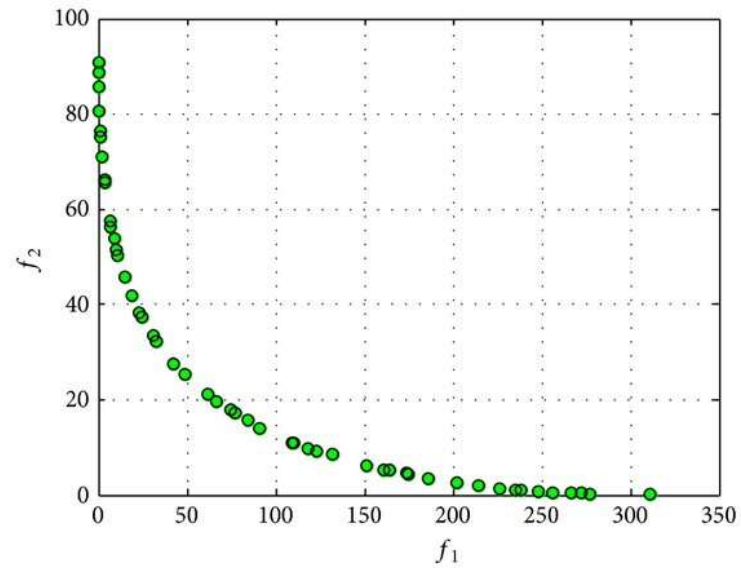
Dentro da classe de métodos heurísticos, o algoritmo de evolução diferencial se destaca como um dos mais populares por resolver uma ampla variedade de problemas complexos de otimização, incluindo aplicações em engenharia química (LIU *et al.*, 2022; ZIELINSKI *et al.*, 2025). A evolução diferencial é um importante ramo dos métodos baseados em população, inspirados nos princípios da evolução biológica. Esse algoritmo apresenta como características a utilização de poucos parâmetros de controle, a alta capacidade de busca e a

rápida taxa de convergência (XU; MENG, 2025). Seu funcionamento ocorre através de quatro etapas principais: inicialização, em que uma população de vetores candidatos à solução é gerada aleatoriamente, com cada vetor representando um conjunto de parâmetros da função objetivo que está sendo otimizada; mutação, na qual um vetor mutante é gerado para cada vetor da população através da combinação linear de três vetores aleatórios distintos, permitindo a exploração do espaço de busca; recombinação, onde um novo vetor candidato é gerado a partir do vetor mutante e do vetor original; e seleção, em que ocorre a comparação do vetor candidato com o original para escolha do que apresentar o menor valor da função objetivo de minimização, sendo este mantido na próxima geração (STORN; PRICE, 1997).

Na literatura, outra problemática observada na proposição de rotas enzimáticas de fabricação consiste na otimização de sistemas empregando funções de único objetivo, geralmente utilizando a conversão ou a produtividade do bioprocessamento como variáveis dependentes. No entanto, na indústria, muitas soluções requerem o alcance de mais de um critério para conquistar viabilidade e competitividade comercial (KULA; SAYAR, 2019). A otimização do rendimento de um processo não reflete diretamente no atingimento do melhor resultado possível, pois o uso de um único objetivo pode ocasionar o agravamento de outras métricas de performance. Assim, a tomada de decisão requer a ponderação de várias métricas, a fim de selecionar a condição de operação ótima (CHEN; WANG, 2024). Desse modo, a utilização de esquemas de otimização multiobjetivo possibilita inferir mais informação sobre o comportamento ótimo de processos em comparação com esquemas de único objetivo (KULA; SAYAR, 2019).

Nesse sentido, a análise da frente de Pareto é bastante empregada em problemas envolvendo múltiplos objetivos de otimização, permitindo visualizar a existência de comportamentos contraditórios entre os objetivos (*trade-offs*), em que a maximização de um promove a minimização de outro (GUT, 2021). Na Figura 12, observa-se um exemplo de frente de Pareto obtida a partir da otimização de uma função multiobjetivo formada pelos objetivos individuais f_1 e f_2 , em que os pontos verdes representam o conjunto de soluções ótimas calculadas variando a prioridade de um objetivo em relação ao outro no cálculo da solução. Também é observado que não existe solução para minimização de ambos os objetivos, devido ao *trade-off* apresentado entre as métricas do processo.

Figura 12 – Exemplo de frente de Pareto obtida através da otimização multiobjetivo formada pelas funções f_1 e f_2

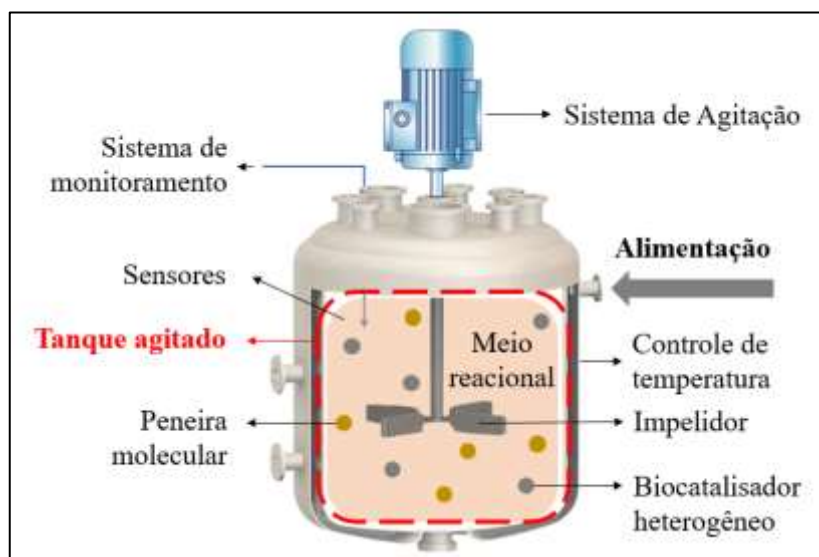


Fonte: Augusto, Bennis e Caro (2014).

4 MODELOS MATEMÁTICOS

O projeto do reator descontínuo heterogêneo para síntese enzimática de butanoato de etila, catalisada por Novozym 435 (N435), teve enfoque no tanque agitado, considerando os diversos componentes que constituem um equipamento industrial. A representação do escopo do projeto pode ser visualizada na Figura 13. Neste item, os modelos matemáticos representativos da cinética enzimática e dos fenômenos de transferência de massa envolvidos na reação de síntese do éster são apresentados.

Figura 13 – Representação do escopo do projeto de reator descontínuo heterogêneo para síntese enzimática de butanoato de etila catalisada por Novozym 435 (N435)



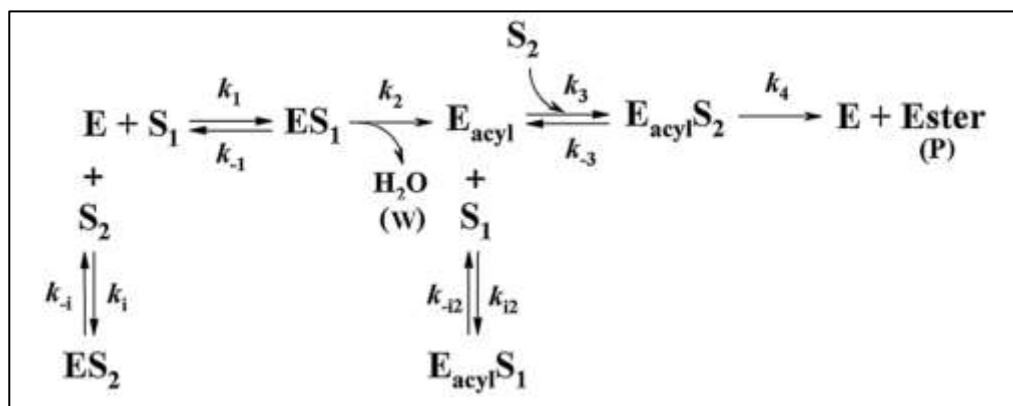
Fonte: Adaptado de Greatwall (2024).

4.1 Modelo cinético da reação de esterificação

A esterificação é uma reação controlada termodinamicamente e o deslocamento do equilíbrio da reação para a formação do éster pode ser realizado mantendo um dos reagentes em excesso, preferencialmente o álcool, ou através da remoção contínua da água do meio reacional (KHAN *et al.*, 2021). O modelo Ping-Pong Bi-Bi é usualmente empregado para descrever o comportamento cinético em reações de esterificação catalisadas por lipases, nas quais podem apresentar inibição de atividade por ambos os substratos (ILLANES; WILSON; VERA, 2013). O mecanismo da reação, que apresenta como substratos um ácido carboxílico

(s1) e um álcool (s2), gerando como produtos o éster de interesse (p) e a água (w), e a relação para cálculo da velocidade de reação, segundo esse modelo, podem ser observados na Figura 14 e na Equação 7, respectivamente.

Figura 14 – Mecanismo da reação de esterificação catalisada por lipases de acordo com o modelo Ping-Pong Bi-Bi em que há inibição enzimática por ambos os substratos



Fonte: Adaptado de Foukis *et al.* (2018)

$$v = \frac{E_0 k_{cat} C_{s1} C_{s2}}{K_{ms1} C_{s2} \left(1 + \frac{C_{s2}}{K_{is2}}\right) + K_{ms2} C_{s1} \left(1 + \frac{C_{s1}}{K_{is1}}\right) + C_{s1} C_{s2}} \quad (7)$$

Em que v é a velocidade de reação, E_0 é a concentração de enzima no biocatalisador heterogêneo, C_{s1} e C_{s2} são as concentrações do ácido e do álcool, respectivamente, k_{cat} , K_{ms1} e K_{ms2} são as constantes do modelo cinético e K_{is1} e K_{is2} são as constantes de inibição da atividade enzimática atreladas ao ácido e ao álcool, respectivamente.

Para representação da cinética da reação de esterificação do butanoato de etila por N435, os parâmetros cinéticos do modelo Ping-Pong Bi-Bi, apresentados na Tabela 1, foram obtidos a partir do trabalho de Foukis *et al.* (2018). Neste, a síntese do éster de estudo foi conduzida a partir de ácido butírico e etanol, utilizando hexano como solvente, a 40°C, em uma faixa de concentração dos substratos de 0,1 a 2,5 M. Durante a reação de esterificação conduzida em seu trabalho, o teor de água no meio reacional permaneceu inferior a 0,01 %_{v/v}, sendo esta removida continuamente através de sistema de membrana de pervaporação.

Tabela 1 – Parâmetros cinéticos do modelo Ping-Pong Bi-Bi com inibição por ambos os substratos da síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)

Parâmetro cinético	Valor
E_0 (mol/L _{cat})	5,51E-3
k_{cat} (s ⁻¹)	77,69
K_{ms1} (M)	0,54
K_{ms2} (M)	0,12
K_{is1} (M)	0,42
K_{is2} (M)	0,35

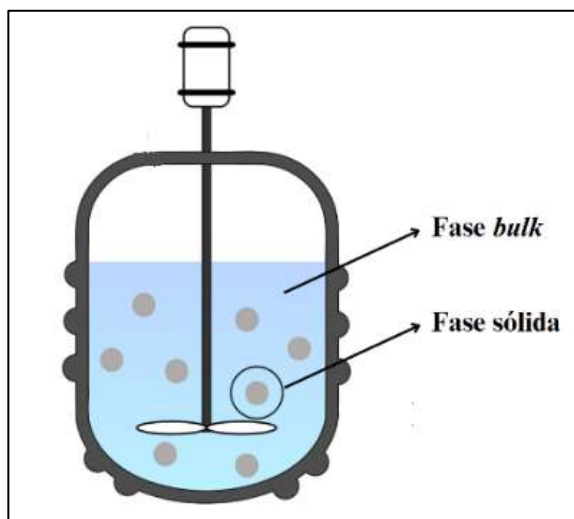
Fonte: Adaptado de Foukis *et al.* (2018)

4.2 Modelagem dos reatores descontínuos heterogêneos

Para modelar a síntese enzimática de butanoato de etila por N435 em diferentes configurações de reatores descontínuos, o sistema reacional foi considerado heterogêneo, sendo constituído pela fase *bulk* e pela fase sólida, como ilustrado na Figura 15. A fase *bulk* é composta pelo solvente hexano e pelos substratos, ácido butírico e etanol, e produtos, butanoato de etila e água, dissolvidos. A fase sólida é representada pelo volume da matriz sólida porosa do suporte de imobilização das lipases.

Assim, diferentes modelos de reatores heterogêneos operando em batelada foram elaborados. O primeiro modelo considerou que a produção do éster não apresenta limitações difusionais, sendo denominado de pseudo homogêneo (PH), o segundo considerou que há limitação apenas por restrições difusionais internas (IDR), decorrentes da difusão intraparticular das substâncias na matriz porosa do biocatalisador, enquanto o terceiro também considerou restrições difusionais externas (EIDR), adicionando o efeito da velocidade de agitação no fenômeno de transferência de massa. A modelagem prosseguiu com o equacionamento dos balanços materiais das substâncias envolvidas na reação de esterificação, admitindo-se as hipóteses simplificadoras listadas na Tabela 2 para cada modelo elaborado.

Figura 15 – Sistema reacional de síntese enzimática de butanoato de etila catalisada por Novozym 435 (N435) em reator heterogêneo



Fonte: Adaptado de PNGWING (2024).

Tabela 2 – Hipóteses simplificadoras adotadas na elaboração dos modelos dos reatores descontínuos heterogêneos (continua)

Hipótese	Modelo PH	Modelo IDR	Modelo EIDR
A síntese enzimática de butanoato de etila ocorre em regime transiente.	✓	✓	✓
As substâncias químicas encontram-se diluídas em solvente.	✓	✓	✓
Efeitos de restrição difusional foram negligenciados	✓		
Efeitos de restrição difusional interna foram considerados.		✓	✓
A concentração das substâncias na superfície das partículas de biocatalisador é igual a sua concentração na fase <i>bulk</i> .		✓	
O transporte de material ocorre predominantemente por difusão entre as fases <i>bulk</i> e sólida e é modelado pela primeira lei de Fick.		✓	
Efeitos de restrição difusional externa foram considerados.			✓
A concentração das substâncias na superfície das partículas de biocatalisador é diferente da sua concentração na fase <i>bulk</i> .			✓
O transporte de material ocorre predominantemente por convecção entre as fases <i>bulk</i> e sólida e é moderado pelo coeficiente de transferência de massa convectivo.			✓

Tabela 2 – Hipóteses simplificadoras adotadas na elaboração dos modelos dos reatores descontínuos heterogêneos (conclusão)

Hipótese	Modelo PH	Modelo IDR	Modelo EIDR
A geometria das partículas de biocatalisador heterogêneo é esférica.		✓	✓
O fenômeno de difusão intraparticular é unidimensional ao longo do raio.		✓	✓
A água produzida pela reação de esterificação é removida continuamente do sistema, tornando sua concentração na fase <i>bulk</i> nula durante o processo.	✓	✓	✓

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.1 Balanços materiais do modelo pseudo homogêneo do reator (PH)

O modelo pseudo homogêneo do reator descontínuo negligencia restrições difusionais na síntese de butanoato de etila pelo biocatalisador heterogêneo N435, ou seja, a velocidade da reação de esterificação é a etapa limitante do processo. Dessa forma, os balanços materiais do reator operando em batelada são representados pela Equação 8, em que a variação da concentração das substâncias na fase *bulk* ($C_{b,x}$) em relação ao tempo é proporcional à velocidade de reação (v), possuindo valor negativo para o balanço dos reagentes e positivo para o dos produtos (RAMLI; AMIN, 2016).

$$\frac{dC_{b,x}}{dt} = \pm v \quad (8)$$

Desse modo, o sistema de equações do modelo pseudo homogêneo, observado na Tabela 3, é composto pela Equação 8 para cada substância participante da reação de síntese de butanoato de etila catalisada por N435, excetuando-se a água, pois esta é removida do meio reacional continuamente.

Tabela 3 – Balanços materiais do reator heterogêneo operando em batelada de acordo com o modelo pseudo homogêneo (PH)

Componente	Equação
Ácido butírico (s1)	$\frac{dC_{b,s1}}{dt} = -v$
Etanol (s2)	$\frac{dC_{b,s2}}{dt} = -v$
Butanoato de etila (p)	$\frac{dC_{b,p}}{dt} = +v$

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.2 Balanços materiais do modelo do reator considerando restrições difusionais internas (IDR)

Os balanços materiais do modelo do reator considerando restrições difusionais internas incorporam o efeito da difusão intraparticular das substâncias envolvidas na síntese de butanoato de etila na matriz sólida do biocatalisador N435 em comparação com o modelo pseudo homogêneo. Na fase *bulk* do reator heterogêneo operando em batelada, a variação no tempo do número de mols das substâncias envolvidas na reação de esterificação é proporcional ao fluxo difusivo de material na superfície das partículas de biocatalisador, sendo modelado pela primeira lei de Fick, conforme a Equação 9 (GONÇALVES *et al.*, 2007; VALENCIA *et al.*, 2010).

$$\frac{\partial N_{b,x}}{\partial t} = -n_p A D_{e,x} \left. \frac{\partial C_x}{\partial r} \right|_{r=R} \quad (9)$$

Em que $\frac{\partial N_{b,x}}{\partial t}$ é a variação do número de mols da substância x na fase *bulk* no tempo, n_p é o número de partículas de biocatalisador, A é a área superficial da partícula, $D_{e,x}$ é a difusividade efetiva da substância x em hexano e $\left. \frac{\partial C_x}{\partial r} \right|_{r=R}$ é o gradiente de concentração na superfície da partícula.

Colocando a concentração da substância x na fase *bulk* ($C_{b,x}$) em evidência (Equação 10), assumindo o volume da fase *bulk* constante e definindo o número de partículas de biocatalisador como a divisão entre o volume de biocatalisador (V_c) e o volume de uma única partícula (Equação 11), tem-se a Equação 12.

$$V_b \frac{\partial C_{b,x}}{\partial t} = -n_p 4\pi R^2 D_{e,x} \frac{\partial C_x}{\partial r} \Big|_{r=R} \quad (10)$$

$$n_p = \frac{V_c}{(4/3)\pi R^3} \quad (11)$$

$$\frac{\partial C_{b,x}}{\partial t} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,x} \frac{\partial C_x}{\partial r} \Big|_{r=R} \quad (12)$$

Em que R é o raio da partícula e V_b é o volume da fase *bulk*.

Na fase sólida, a variação no tempo da concentração da substância x ocorre devido ao fenômeno de difusão reativa, em que as substâncias difundem na matriz porosa do biocatalisador enquanto reagem através da catálise enzimática para formação do produto. A Equação 13 modela esse fenômeno em coordenadas esféricas na dimensão do raio da partícula de biocatalisador (r), em que o primeiro termo do lado direito representa a difusão e o segundo a velocidade de reação (v), sendo negativa para o balanço dos reagentes e positiva para o dos produtos (GONÇALVES *et al.*, 2007; VALENCIA *et al.*, 2010).

$$\frac{\partial C_x}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 D_{e,x} \frac{\partial C_x}{\partial r} \right) \pm v \quad (13)$$

Aplicando a regra da cadeia no termo difusivo da Equação 13 e considerando que $D_{e,x}$ não varia com o raio da partícula de biocatalisador, obtém-se uma representação mais usual desta através da Equação 14.

$$\frac{\partial C_x}{\partial t} = D_{e,x} \left(\frac{2}{r} \frac{\partial C_x}{\partial r} + \frac{\partial^2 C_x}{\partial r^2} \right) \pm v \quad (14)$$

Assim, o equacionamento do reator heterogêneo operando em batelada, considerando apenas restrição difusional interna, é composto pelo sistema formado pelas Equações 12 e 14 para cada substância presente na síntese de butanoato de etila, com exceção da água. O sistema de equações do reator batelada pode ser visto na Tabela 4.

Tabela 4 – Balanços materiais do reator heterogêneo operando em batelada considerando restrições difusionais internas (IDR)

Fase	Componente	Equação
<i>Bulk</i>	Ácido butírico (s1)	$\frac{\partial C_{b,s1}}{\partial t} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,s1} \frac{\partial C_{s1}}{\partial r} \Big _{r=R}$
	Etanol (s2)	$\frac{\partial C_{b,s2}}{\partial t} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,s2} \frac{\partial C_{s2}}{\partial r} \Big _{r=R}$
	Butanoato de etila (p)	$\frac{\partial C_{b,p}}{\partial t} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,p} \frac{\partial C_p}{\partial r} \Big _{r=R}$
Sólida	Ácido butírico (s1)	$\frac{\partial C_{s1}}{\partial t} = D_{e,s1} \left(\frac{2}{r} \frac{\partial C_{s1}}{\partial r} + \frac{\partial^2 C_{s1}}{\partial r^2} \right) - v$
	Etanol (s2)	$\frac{\partial C_{s2}}{\partial t} = D_{e,s2} \left(\frac{2}{r} \frac{\partial C_{s2}}{\partial r} + \frac{\partial^2 C_{s2}}{\partial r^2} \right) - v$
	Butanoato de etila (p)	$\frac{\partial C_p}{\partial t} = D_{e,p} \left(\frac{2}{r} \frac{\partial C_p}{\partial r} + \frac{\partial^2 C_p}{\partial r^2} \right) + v$

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para o equacionamento do reator operando em batelada alimentada, é preciso considerar a corrente de alimentação e, portanto, a variação da concentração das substâncias no sistema reacional. Desse modo, à Equação 9, é adicionado o termo de vazão molar de alimentação dos reagentes ($F_{0,x}$), representado na Equação 15.

$$\frac{\partial N_{b,x}}{\partial t} = -n_p A D_{e,x} \frac{\partial C_x}{\partial r} \Big|_{r=R} + F_{0,x} \quad (15)$$

Colocando $C_{b,x}$ em evidência novamente, aplicando a regra da cadeia no primeiro termo dessa equação e realizando as devidas substituições, obtém-se a Equação 16.

$$V_b \frac{\partial C_{b,x}}{\partial t} + C_{b,x} \frac{\partial V_b}{\partial t} = -\frac{3V_c}{R} D_{e,x} \frac{\partial C_x}{\partial r} \Big|_{r=R} + C_{0,x} v_0 \quad (16)$$

Em que $C_{0,x}$ é a concentração da substância x e v_0 é a vazão volumétrica na corrente de alimentação.

Considerando que o reator é alimentado a uma vazão volumétrica constante, o seu

volume varia conforme a Equação 17.

$$\frac{dV_b}{dt} = v_0 \quad (17)$$

Logo, substituindo a Equação 17 na Equação 16 e rearranjando a segunda, obtém-se a Equação 18, utilizada para o balanço das substâncias alimentadas no reator.

$$\frac{\partial C_{b,x}}{\partial t} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,x} \frac{\partial C_x}{\partial r} \Big|_{r=R} + \frac{v_0}{V_b} (C_{0,x} - C_{b,x}) \quad (18)$$

Quando não há alimentação de x , $C_{0,x}$ é igual a zero e a Equação 18 se torna a Equação 19.

$$\frac{\partial C_{b,x}}{\partial t} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,x} \frac{\partial C_x}{\partial r} \Big|_{r=R} - \frac{v_0}{V_b} C_{b,x} \quad (19)$$

Desse modo, as Equações 14, 18 e 19 compõem o sistema do reator batelada alimentada heterogêneo, sendo a segunda utilizada para o reagente ou reagentes alimentados no reator e a terceira para o reagente não alimentado e o produto butanoato de etila. A Tabela 5 resume o sistema de equações do reator batelada alimentada para o caso em que há alimentação apenas de etanol.

Tabela 5 – Balanços materiais do reator heterogêneo operando em batelada alimentada considerando restrições difusionais internas (IDR) para o caso em que há alimentação de etanol (continua)

Fase	Componente	Equação
<i>Bulk</i>	Ácido butírico (s1)	$\frac{\partial C_{b,s1}}{\partial t} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,s1} \frac{\partial C_{s1}}{\partial r} \Big _{r=R} - \frac{v_0}{V_b} C_{b,s1}$
	Etanol (s2)	$\frac{\partial C_{b,s2}}{\partial t} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,s2} \frac{\partial C_{s2}}{\partial r} \Big _{r=R} + \frac{v_0}{V_b} (C_{0,s2} - C_{b,s2})$
	Butanoato de etila (p)	$\frac{\partial C_{b,p}}{\partial t} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,p} \frac{\partial C_p}{\partial r} \Big _{r=R} - \frac{v_0}{V_b} C_{b,p}$
<i>Sólida</i>	Ácido butírico (s1)	$\frac{\partial C_{s1}}{\partial t} = D_{e,s1} \left(\frac{2}{r} \frac{\partial C_{s1}}{\partial r} + \frac{\partial^2 C_{s1}}{\partial r^2} \right) - v$

Tabela 5 – Balanços materiais do reator heterogêneo operando em batelada alimentada considerando restrições difusionais internas (IDR) para o caso em que há alimentação de etanol (conclusão)

Fase	Componente	Equação
Sólida	Etanol (s2)	$\frac{\partial C_{s2}}{\partial t} = D_{e,s2} \left(\frac{2}{r} \frac{\partial C_{s2}}{\partial r} + \frac{\partial^2 C_{s2}}{\partial r^2} \right) - v$
	Butanoato de etila (p)	$\frac{\partial C_p}{\partial t} = D_{e,p} \left(\frac{2}{r} \frac{\partial C_p}{\partial r} + \frac{\partial^2 C_p}{\partial r^2} \right) + v$

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.3 Balanços materiais do modelo do reator considerando restrições difusionais externas e internas (EIDR)

Ao considerar restrições difusionais externas, assumiu-se que há uma camada estagnada de solvente na superfície das partículas de biocatalisador. Desse modo, o fenômeno de transferência de material entre as fases ocorre predominantemente por convecção, devido à diferença entre as concentrações da substância x na fase *bulk* e na superfície da partícula. Assim, os balanços materiais da fase *bulk* para o reator batelada pelo modelo EIDR assumem a forma da Equação 20 (XIU; JIANG; LI, 2000).

$$\frac{dC_{b,x}}{dt} = -\frac{3V_c}{RV_b} k_{f,x} (C_{b,x} - C_{s,x}) \quad (20)$$

Em que $k_{f,x}$ e $C_{s,x}$ são, respectivamente, o coeficiente de transferência de massa convectivo e a concentração na superfície da partícula de biocatalisador da substância x . Na fase sólida, os balanços materiais permanecem da mesma forma que foram apresentados no item 4.2.2. Logo, as Equações 14 e 20, empregadas para cada substância envolvida na síntese enzimática de butanoato de etila, compõem o modelo do reator batelada heterogêneo considerando ambos os efeitos de restrição difusional externa e interna (Tabela 6).

Tabela 6 – Balanços materiais do reator heterogêneo operando em batelada considerando restrições difusionais externas e internas (EIDR)

Fase	Componente	Equação
<i>Bulk</i>	Ácido butírico (s1)	$\frac{dC_{b,s1}}{dt} = -\frac{3V_c}{RV_b} k_{f,s1} (C_{b,s1} - C_{s,s1})$
	Etanol (s2)	$\frac{dC_{b,s2}}{dt} = -\frac{3V_c}{RV_b} k_{f,s2} (C_{b,s2} - C_{s,s2})$
	Butanoato de etila (p)	$\frac{dC_{b,p}}{dt} = -\frac{3V_c}{RV_b} k_{f,p} (C_{b,p} - C_{s,p})$
Sólida	Ácido butírico (s1)	$\frac{\partial C_{s1}}{\partial t} = D_{e,s1} \left(\frac{2}{r} \frac{\partial C_{s1}}{\partial r} + \frac{\partial^2 C_{s1}}{\partial r^2} \right) - v$
	Etanol (s2)	$\frac{\partial C_{s2}}{\partial t} = D_{e,s2} \left(\frac{2}{r} \frac{\partial C_{s2}}{\partial r} + \frac{\partial^2 C_{s2}}{\partial r^2} \right) - v$
	Butanoato de etila (p)	$\frac{\partial C_p}{\partial t} = D_{e,p} \left(\frac{2}{r} \frac{\partial C_p}{\partial r} + \frac{\partial^2 C_p}{\partial r^2} \right) + v$

Fonte: Elaborado pelo autor.

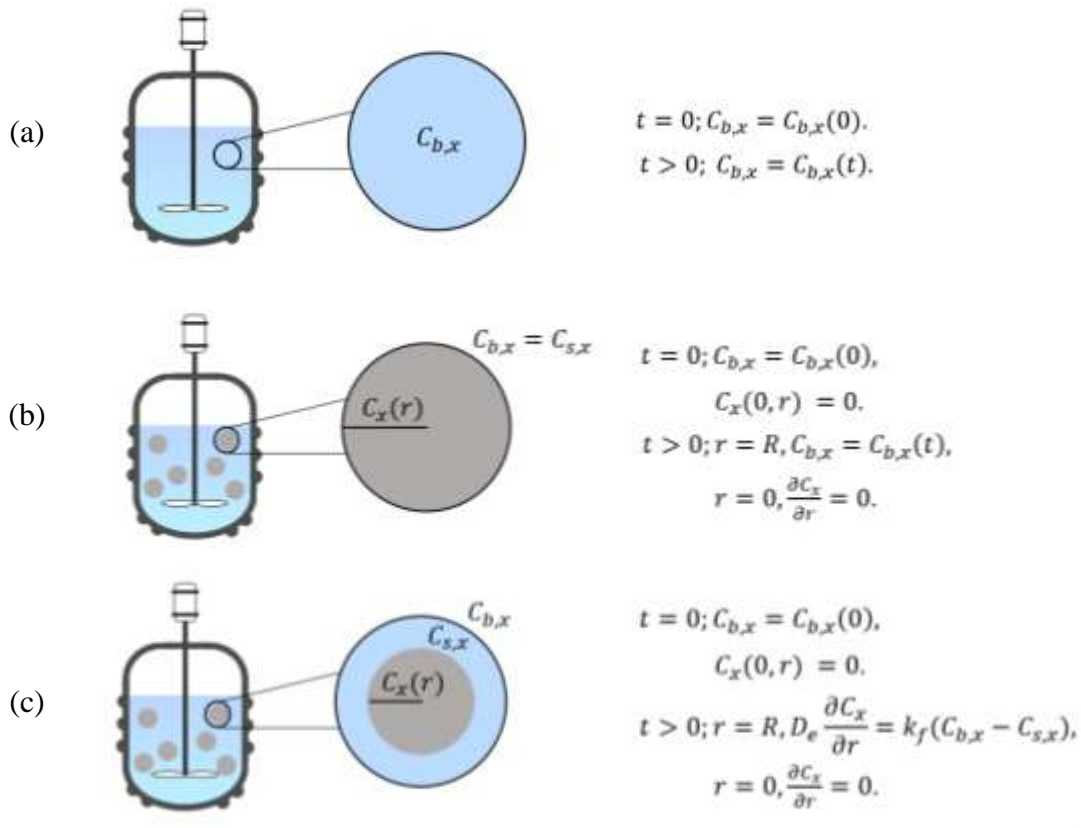
4.2.4 Condições iniciais e de contorno

Para resolução dos balanços materiais dos reatores heterogêneos, as condições iniciais e de contorno dos sistemas de equações diferenciais foram definidas, de acordo com Gonçalves *et al.* (2007) e Valencia *et al.* (2010), sendo representadas na Figura 16. Em ambos os modelos, no instante de tempo $t = 0$, a concentração das substâncias na fase *bulk* ($C_{b,x}$) é equivalente às concentrações iniciais de ácido butírico e etanol adicionadas ao reator ($C_{b,s1}(0)$ e $C_{b,s2}(0)$, respectivamente) e a de produto butanoato de etila é igual a zero ($C_{b,p}(0) = 0$). Nos modelos que consideram restrições difusionais, a concentração das substâncias ao longo do raio da partícula de biocatalisador é igual a zero ($C_x(0, r) = 0$). Ademais, no caso do reator batelada alimentada, o volume inicial ($V_b(0)$) foi definido como 50% do volume do reator batelada.

Para o modelo IDR, em $t > 0$, a concentração das substâncias na superfície do biocatalisador ($r = R$) é atualizada conforme os substratos são consumidos e o produto é gerado na fase *bulk* ($C_{s,x} = C_{b,x}(t)$), enquanto para o modelo EIDR, a concentração na superfície é determinada a partir do fluxo de material entre as fases, sendo equivalente ao fluxo das substâncias por convecção (XIU; JIANG; LI, 2000). Para ambos os modelos, em $r = 0$, foi

definida uma condição de simetria ($\frac{\partial C_x}{\partial r} = 0$), em que o fluxo de material no centro da partícula é nulo.

Figura 16 - Condições iniciais e de contorno dos modelos (a) PH, (b) IDR e (c) EIDR dos reatores descontínuos heterogêneos



Fonte: Adaptado de PNGWING (2024).

Legenda: $C_{b,x}$, $C_{s,x}$ e C_x são as concentrações da substância x na fase *bulk*, na superfície da partícula de biocatalisador e na fase sólida, ao longo do raio da partícula (r).

4.3 Remoção de água do sistema reacional

A remoção de água durante a reação de esterificação é uma estratégia a ser adotada para realizar o deslocamento do equilíbrio no sentido de formação do éster, nesse caso, o produto de interesse. Visto que os parâmetros cinéticos estimados por Foukis *et al.* (2018) foram obtidos em condições de ausência de água no meio reacional, para garantir que os valores estimados de velocidade de reação sejam coerentes, adotou-se, para fins de simulação da síntese enzimática de butanoato de etila, a remoção de água do sistema através do emprego de peneiras moleculares do tipo zeólita 3A, através de separação por adsorção.

Para estimativa da quantidade de peneira molecular necessária para adsorção completa da água produzida na esterificação do butanoato de etila, prosseguiu-se com a determinação da massa de água gerada através da estequiometria da reação, conforme a Equação 21.

$$m_w = C_{b,p} * V * \vartheta_r * M_w \quad (21)$$

Em que m_w é a massa de água obtida ao final da reação, $C_{b,p}$ é a concentração final de butanoato de etila, V_b é o volume da fase *bulk*, ϑ_r é a relação entre os coeficientes estequiométricos do butanoato de etila e da água, igual a 1, e M_w é a massa molar da água. Assim, a massa de peneira molecular, m_{zlt} , foi determinada pela Equação 22 a partir de sua capacidade de adsorção, reportada por fabricante de zeólita 3A, equivalente a 20 %_{m/m} (ALFA CHEMISTRY, 2024).

$$m_{zlt} = \frac{m_w}{20} * 100 \quad (22)$$

5 MÉTODOS

As propriedades das substâncias envolvidas na síntese enzimática de butanoato de etila por N435, necessárias para representação física do sistema modelado, foram estimadas através de correlações empíricas para resolução dos balanços materiais dos reatores. Com isso, métodos numéricos foram empregados para resolução das equações de forma computacional. Ademais, a capacidade preditiva dos modelos de reatores heterogêneos foi avaliada para posterior aplicação na análise de sensibilidade dos parâmetros de processo, na otimização da operação do reator descontínuo e em sua ampliação de escala.

5.1 Determinação de propriedades do sistema reacional

As propriedades do biocatalisador heterogêneo (N435) e do solvente hexano, além das difusividades efetivas e dos coeficientes de transferência de massa convectivos das substâncias envolvidas na reação de esterificação do butanoato de etila foram determinadas. A massa específica, o raio da partícula e a porosidade do suporte da N435, a resina macroporosa Lewatit VP OC 1600, foram obtidos com o próprio fabricante (LANXESS, 2024). A tortuosidade da matriz sólida do biocatalisador foi estimada pelo modelo de Bruggeman (1935), apresentado na Equação 23, que considera a saturação dos poros do sólido com o solvente.

$$\tau = \varepsilon^{-1/2} \quad (23)$$

Em que τ é a tortuosidade e ε é a porosidade do suporte da N435. Essa equação é especificada para geometrias esféricas, assim como o biocatalisador empregado. As informações obtidas da N435 foram resumidas na Tabela 7.

Tabela 7 – Propriedades do biocatalisador heterogêneo Novozym 435 (N435)

Propriedade	Valor
ρ_c (kg/m ³)	1070*
R (mm)	0,31*
ε (adimensional)	0,52*
τ (adimensional)	1,39

Fonte: *Lanxess (2024).

Para estimar as difusividades das substâncias em hexano ($D_{x,hx}$), foi empregado o método de Siddiqi e Lucas (1986), apropriado para aplicações envolvendo solventes orgânicos. Estas foram calculadas pela Equação 24 a partir dos volumes molares das substâncias ($V_{b,x}$) e do solvente ($V_{b,hx}$), da viscosidade do hexano (μ_{hx}) e da temperatura do meio reacional (T).

$$\frac{D_{x,hx}\mu_{hx}}{T} = 9,89E - 8\mu_{hx}^{0,093} \left(\frac{V_{b,hx}^{0,265}}{V_{b,x}^{0,45}} \right) \quad (24)$$

Os volumes molares foram obtidos através da correlação de Tyn e Calus (1975), Equação 25, a partir dos volumes críticos ($V_{c,x}$) do ácido butírico, do etanol, do butanoato de etila e do hexano, informados em Poling, Prausnitz e O'Connell (2001). As propriedades do hexano, massa específica ($\rho_{hx} = 641,03 \text{ kg/m}^3$) e viscosidade ($\mu_{hx} = 0,26 \text{ mPa.s}$), foram determinadas na temperatura de 40 °C e na pressão de 1,0 bar a partir da plataforma de propriedades termofísicas de sistemas fluidos do NIST (*National Institute of Standards and Technology*).

$$V_{b,x} = 0,248V_{c,x}^{1,048} \quad (25)$$

Com isso, as difusividades efetivas das substâncias ($D_{e,x}$) na matriz porosa da N435 foram calculadas a partir da Equação 26 (FOGLER, 2020). Os dados obtidos foram apresentados na Tabela 8.

$$D_{e,x} = \frac{\varepsilon D_{x,hx}}{\tau} \quad (26)$$

Tabela 8 – Propriedades das substâncias envolvidas na esterificação enzimática do butanoato de etila catalisada por Novozym 435 (N435)

Propriedade	Ácido butírico	Etanol	Butanoato de etila	Hexano
$V_{c,x}$ (cm ³ /mol)	292,00*	167,00*	421,00*	368,00*
$V_{b,x}$ (cm ³ /mol)	95,10	52,95	139,54	121,19
$D_{x,hx}$ (cm ² /s)	4,86E-5	6,32E-5	4,09E-5	-
$D_{e,x}$ (cm ² /s)	1,83E-5	2,38E-5	1,54E-5	-

Fonte: *Poling, Prausnitz e O'Connell (2001).

Os coeficientes de transferência de massa convectivos ($k_{f,x}$) foram estimados a partir de correlação experimental entre os números adimensionais de Sherwood (N_{Sh}), Reynolds ($N_{Re,p}$) e Schmidt (N_{Sc}), calculados pelas Equações 27, 28 e 29, respectivamente. A correlação da Equação 30 é válida para a condição em que há suspensão das partículas sólidas em tanques agitados e $N_{Re,p} < 10^3$ (DORAN, 2013).

$$N_{Sh} = \frac{k_{f,x} d_p}{D_{x,hx}} \quad (27)$$

$$N_{Re,p} = \frac{\rho_{hx} U_p d_p}{\mu_{hx}} \quad (28)$$

$$N_{Sc} = \frac{\mu_{hx}}{\rho_{hx} D_{x,hx}} \quad (29)$$

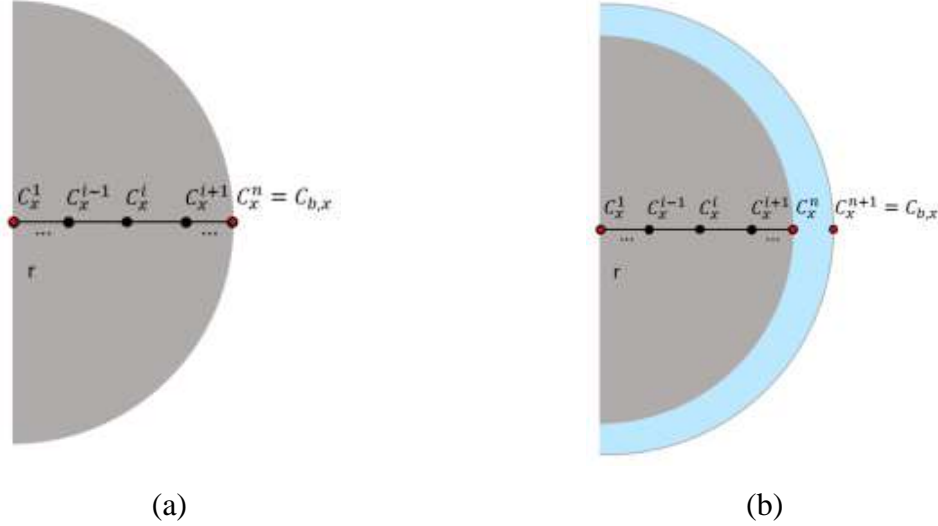
$$N_{Sh} = 2 + 0,6 N_{Re,p}^{0,5} N_{Sc}^{0,33} \quad (30)$$

Em que d_p é o diâmetro da partícula de biocatalisador e U_p é a velocidade das partículas em relação ao líquido em agitação.

5.2 Implementação da rotina de simulação dos reatores descontínuos heterogêneos

A resolução das equações diferenciais constituintes dos diferentes modelos de reatores descontínuos heterogêneos foi implementada computacionalmente por meio de métodos numéricos. O método de diferenças finitas foi aplicado para discretização dos termos espaciais dos balanços materiais dos modelos de reatores que consideram restrições difusionais, IDR e EIDR. Dessa forma, as equações diferenciais parciais (EDP's) foram transformadas em sistemas de equações diferenciais ordinárias (EDO's) em relação ao tempo para posterior resolução numérica, técnica denominada como método das linhas (LINGE; LANGTANGEN, 2020). A discretização do raio da partícula de biocatalisador para esses modelos pode ser visualizada na Figura 17.

Figura 17 – Representação da discretização do domínio da partícula de biocatalisador constituindo a malha computacional para resolução dos balanços materiais dos reatores segundo os modelos (a) IDR e (b) EIDR



Fonte: Elaborado pelo autor.

Assim, para o modelo IDR, os balanços da fase *bulk* para o reator batelada (Equação 12), ao empregar o esquema de diferenças regressivas de primeira ordem no termo espacial ($\frac{\partial C_x}{\partial r} |_{r=R}$), assumiram a forma da Equação 31.

$$\frac{dC_x^n}{dt} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,x} \frac{(C_x^n - C_x^{n-1})}{\Delta r} \quad (31)$$

Em que n é o número de pontos discretos, C_x^n é a concentração da substância x na superfície da partícula, que, para o modelo IDR, é igual à concentração na fase *bulk* ($C_{b,x}$), e Δr é o espaçamento entre os pontos.

Do mesmo modo, as Equações 18 e 19 da fase *bulk* do reator batelada alimentada assumiram as formas das Equações 32 e 33, respectivamente, sendo a primeira utilizada para as substâncias alimentadas e a segunda para as não alimentadas no reator e o produto da reação.

$$\frac{dC_x^n}{dt} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,x} \frac{(C_x^n - C_x^{n-1})}{\Delta r} + \frac{v_0}{V_b} (C_{0,x} - C_x^n) \quad (32)$$

$$\frac{dC_x^n}{dt} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,x} \frac{(C_x^n - C_x^{n-1})}{\Delta r} - \frac{v_0}{V_b} C_x^n \quad (33)$$

Os demais pontos internos do domínio representam a fase sólida dos reatores batelada e batelada alimentada e são calculados pela Equação 34, derivada da Equação 14 em que foram utilizados os esquemas de diferenças centrais de primeira e segunda ordem no termo difusivo.

$$\frac{dC_x^i}{dt} = D_{e,x} \left[\frac{(C_x^{i+1} - C_x^{i-1}))}{r^i \Delta r} + \frac{(C_x^{i+1} - 2C_x^i + C_x^{i-1}))}{\Delta r^2} \right] \pm v^i \quad (34)$$

Em que C_x^i é a concentração no ponto i , sendo C_x^{i+1} e C_x^{i-1} os valores de concentração dos pontos posterior e anterior a este na dimensão do raio do biocatalisador, r^i é o valor do raio no ponto i e v^i é a velocidade de reação calculada a partir das concentrações dos substratos no ponto i .

No centro da partícula ($r = 0$), uma condição de simetria foi especificada, assim, o fluxo de material nesse ponto é nulo. Logo, a Equação 34 é reescrita para atender a essa especificação, obtendo-se a Equação 35 (CHAPRA; CANALE, 2016).

$$\frac{dC_x^1}{dt} = 2D_{e,x} \frac{(C_x^2 - C_x^1)}{\Delta r^2} \pm v^1 \quad (35)$$

Em que C_x^1 é a concentração no ponto em que $r = 0$ e v^1 é a velocidade de reação estimada nesse ponto.

Diferentemente do modelo IDR, no EIDR, a concentração das substâncias na fase *bulk* não é igual à da superfície da partícula de biocatalisador. Desse modo, foi necessário adicionar mais um ponto discreto para representar a concentração na superfície externa da camada de líquido estagnada na partícula (C_x^{n+1}). Sendo assim, o consumo e a geração das substâncias na fase *bulk* é calculado pela Equação 36.

$$\frac{dC_x^{n+1}}{dt} = -\frac{3V_c}{RV_b} k_{f,x} (C_x^{n+1} - C_x^n) \quad (36)$$

Nos demais pontos do domínio, as concentrações também são calculadas pela Equação 34, com exceção dos pontos em $r = 0$ e $r = R$, pois os fluxos foram definidos nessas regiões de contorno, logo, são empregadas as Equações 35 e 37, respectivamente, para

estimativa das concentrações nesses pontos (CHAPRA; CANALE, 2016).

$$\frac{dC_x^n}{dt} = 2[k_{f,x}(C_x^{n+1} - C_x^n) \left(\frac{1}{R} + \frac{1}{\Delta r}\right) + D_{e,x} \frac{(C_x^{n-1} - C_x^n)}{\Delta r^2}] \pm v^n \quad (37)$$

Desse modo, as EDO's apresentadas foram utilizadas para resolução numérica dos balanços materiais dos reatores heterogêneos. Através da Tabela 9, é possível visualizar a composição dos sistemas de equações discretizadas empregados para a simulação dos diferentes modelos de reatores.

Tabela 9 – Sistemas de equações diferenciais ordinárias (EDO's) utilizadas para resolução numérica dos balanços materiais dos reatores heterogêneos e simulação das diferentes configurações avaliadas (continua)

Reator (modelo)	Equação
Batelada (PH)	Fase <i>bulk</i> : $\frac{dC_{b,x}}{dt} = \pm v$
Batelada (IDR)	Fase <i>bulk</i> (em $r = R$): $\frac{dC_x^n}{dt} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,x} \frac{(C_x^n - C_x^{n-1})}{\Delta r}$ Fase sólida (pontos internos): $\frac{dC_x^i}{dt} = D_{e,x} \left[\frac{(C_x^{i+1} - C_x^{i-1})}{r^i \Delta r} + \frac{(C_x^{i+1} - 2C_x^i + C_x^{i-1})}{\Delta r^2} \right] \pm v^i$ Fase sólida (em $r = 0$): $\frac{dC_x^1}{dt} = 2D_{e,x} \frac{(C_x^2 - C_x^1)}{\Delta r^2} \pm v^1$
Batelada alimentada (IDR)	Fase <i>bulk</i> (em $r = R$): $\frac{dC_x^n}{dt} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,x} \frac{(C_x^n - C_x^{n-1})}{\Delta r} + \frac{v_0}{V_b} (C_{0,x} - C_x^n)$ ou $\frac{dC_x^n}{dt} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,x} \frac{(C_x^n - C_x^{n-1})}{\Delta r} - \frac{v_0}{V_b} C_x^n$ Fase sólida (pontos internos): $\frac{dC_x^i}{dt} = D_{e,x} \left[\frac{(C_x^{i+1} - C_x^{i-1})}{r^i \Delta r} + \frac{(C_x^{i+1} - 2C_x^i + C_x^{i-1})}{\Delta r^2} \right] \pm v^i$

Tabela 9 – Sistemas de equações diferenciais ordinárias (EDO's) utilizadas para resolução numérica dos balanços materiais dos reatores heterogêneos e simulação das diferentes configurações avaliadas (conclusão)

Reator (modelo)	Equação
Batelada alimentada (IDR)	<p>Fase sólida (em $r = 0$):</p> $\frac{dC_x^1}{dt} = 2D_{e,x} \frac{(C_x^2 - C_x^1)}{\Delta r^2} \pm v^1$ <p>Volume do reator:</p> $\frac{dV_b}{dt} = v_0$
Batelada (EIDR)	<p>Fase <i>bulk</i>:</p> $\frac{dC_x^{n+1}}{dt} = -\frac{3V_c}{RV_b} k_{f,x} (C_x^{n+1} - C_x^n)$ <p>Fase sólida (em $r = R$):</p> $\frac{dC_x^n}{dt} = 2[k_{f,x} (C_x^{n+1} - C_x^n) \left(\frac{1}{R} + \frac{1}{\Delta r}\right) + D_{e,x} \frac{(C_x^{n-1} - C_x^n)}{\Delta r^2}] \pm v^n$ <p>Fase sólida (pontos internos):</p> $\frac{dC_x^i}{dt} = D_{e,x} \left[\frac{(C_x^{i+1} - C_x^{i-1})}{r^i \Delta r} + \frac{(C_x^{i+1} - 2C_x^i + C_x^{i-1})}{\Delta r^2} \right] \pm v^i$ <p>Fase sólida (em $r = 0$):</p> $\frac{dC_x^1}{dt} = 2D_{e,x} \frac{(C_x^2 - C_x^1)}{\Delta r^2} \pm v^1$

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para definir o número de pontos discretos da malha computacional, consequentemente o número de equações a serem resolvidas para cada reator, o espaçamento entre os pontos e o passo de tempo (Δt) adequado, foi realizado um estudo prévio de convergência de malha, em que a conversão de ácido butírico foi avaliada em cinco tamanhos de malha. A escolha do tamanho de malha adequado para as simulações posteriores ocorreu quando a solução obtida apresentou erro relativo inferior a 5% comparado à solução com tamanho de malha imediatamente inferior, sendo estimado a partir da Equação 38.

$$ER = \frac{X^{i+1} - X^i}{X^i} * 100 \quad (38)$$

Em que ER é o erro relativo percentual, X^i é a conversão obtida com o tamanho de malha atual e X^{i+1} com o imediatamente superior.

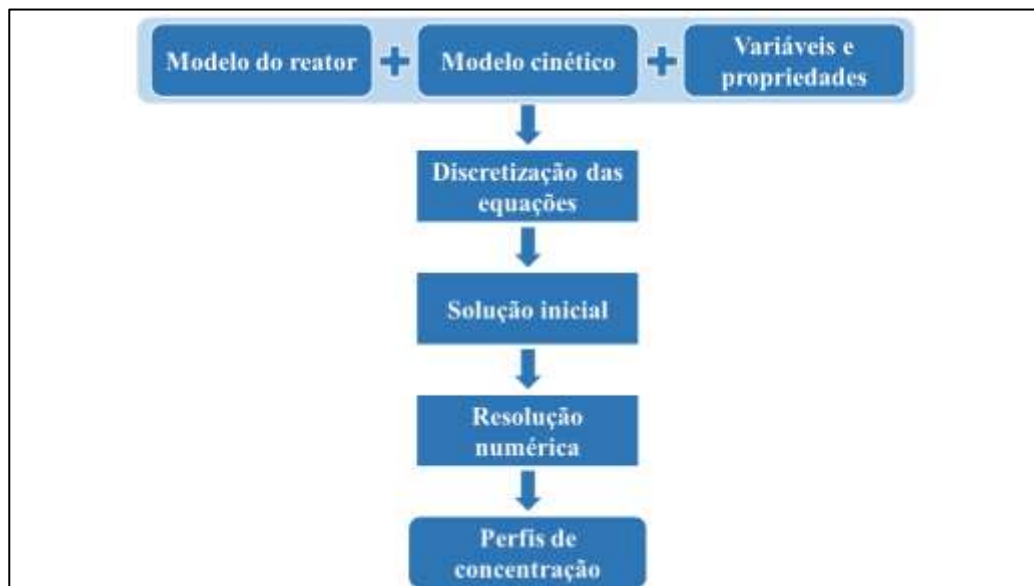
O passo de tempo foi estimado a partir do critério de estabilidade numérica da Equação 39, em que a utilização de valores superiores ao Δt calculado implicam em oscilações na solução numérica (CHAPRA; CANALE, 2016). A difusividade efetiva do etanol ($D_{e,s2}$) foi utilizada nesse cálculo por possuir o maior valor quando comparado com as difusividades das demais espécies presentes no meio reacional, de modo a não superestimar o valor de Δt .

$$\Delta t < \frac{1}{2} \frac{\Delta r^2}{D_{e,s2}} \quad (39)$$

A resolução computacional dos sistemas de equações dos reatores foi realizada empregando a função “odeint” do pacote de rotinas científicas SciPy, construído em linguagem de programação Python (SCIPY, 2024). Dessa forma, foram obtidos os perfis de concentração ao longo do tempo das substâncias envolvidas na reação de esterificação do butanoato de etila por N435. A rotina de simulação implementada pode ser observada em mais detalhes no repositório remoto disponível em <https://github.com/Reps-GPBio/Dissertation.git>.

A função “odeint” utiliza o *solver* LSODA para resolução numérica de EDO's, sendo reconhecido por sua capacidade de alternar automaticamente entre os métodos de integração de Adams-Bashforth-Moulton (explícito) e *Backward Differentiation Formula* (implícito), a depender das características do problema, como a rigidez das equações (POSTAWA; SZCZYGIEL; KULAZYNSKI, 2020). Desse modo, a função “odeint” requer ao menos três argumentos: uma função que retorne o valor das equações diferenciais das variáveis dependentes do sistema, ou seja, as concentrações das substâncias em cada ponto discreto e, para o reator batelada alimentada, o volume da fase *bulk*; a solução inicial das equações diferenciais, determinada através das condições iniciais e de contorno dos modelos elaborados; e os pontos no tempo nos quais a solução é computada, sendo obtidos a partir do passo de tempo anteriormente definido (YAMANI *et al.*, 2022). A Figura 18 apresenta o esquema de funcionamento da rotina de simulação computacional da operação dos reatores.

Figura 18 – Rotina de simulação da operação dos reatores descontínuos heterogêneos para síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3 Influência de limitações difusionais externas na reação de esterificação

Através do modelo EIDR do reator heterogêneo, avaliou-se a influência de limitações difusionais externas no desempenho da síntese de butanoato de etila, sendo correlacionada com a velocidade das partículas de biocatalisador em movimentação livre no tanque (U_p). Para isso, foi realizada análise de sensibilidade da velocidade das partículas, parâmetro diretamente relacionado com a velocidade de agitação do impelidor, em relação à conversão de ácido butírico (Equação 40).

$$X = \frac{C_{b,s1}(0) - C_{b,s1}}{C_{b,s1}(0)} * 100 \quad (40)$$

Em que, X é a conversão e $C_{b,s1}(0)$ e $C_{b,s1}$ são as concentrações inicial e final de ácido butírico na fase *bulk*, respectivamente.

As condições operacionais adotadas na simulação foram baseadas no trabalho de Martins *et al.* (2014), em que foi realizada reação de esterificação de butanoato de etila, catalisada por N435, sendo conduzida em batelada, empregando hexano como solvente, à 40°C. As condições do trabalho citado foram as seguintes: concentração de substratos, ácido butírico

e etanol, igual a 0,1 M, razão molar entre substratos de 1:1, carga de biocatalisador N435 de 10% em relação à massa de ácido butírico, agitação a 200 RPM, volume reacional de 10 mL e tempo de reação de 2 h. O intervalo de variação da velocidade das partículas partiu do valor estimado para a velocidade da ponta do impelidor (U_i) nesse sistema agitado. Assim, os valores de velocidade das partículas analisados foram 0,05, 0,10, 0,15, 0,20, 0,25 e 0,30 m/s.

Ademais, o número adimensional de Biot foi estimado para verificar a relevância do efeito de limitações difusionais externas em comparação com internas na síntese de butanoato de etila (ILLANES; WILSON; VERA, 2014). A Equação 41 calcula o número de Biot (N_{Bi}) para geometrias esféricas a partir do coeficiente de transferência de massa convectivo ($k_{f,x}$) e da difusividade efetiva ($D_{e,x}$) das substâncias químicas, além do raio da partícula de biocatalisador (R). Caso $N_{Bi} \gg 1$, pode-se negligenciar o efeito de restrições difusionais externas na velocidade de reação.

$$N_{Bi} = \frac{k_{f,x}R}{3D_{e,x}} \quad (41)$$

5.4 Validação experimental do modelo do reator batelada heterogêneo

A capacidade de predição dos modelos PH, IDR e EIDR dos reatores heterogêneos foi avaliada para determinação do modelo mais adequado para simulação da síntese enzimática de butanoato de etila por N435. A validação experimental foi realizada a partir da determinação do perfil de conversão de ácido butírico no tempo. Os materiais utilizados no ensaio foram os seguintes: ácido butírico P.S. (Vetec, Brasil); etanol P.A. (Êxodo Científica, Brasil); hexano P.A. (Neon, Brasil); lipase B de *Candida antarctica* (CALB) imobilizada em resina acrílica, Novozym 435 (Sigma-Aldrich, Estados Unidos); e peneiras moleculares do tipo zeólita 3A (Grace, Estados Unidos).

Assim, o experimento foi conduzido de acordo com as condições especificadas por Martins *et al.* (2014), descritas no item 5.3. As peneiras moleculares foram previamente ativadas em mufla modelo EDG 3000 3P-S (EDG, Brasil), a 350 °C, durante 6 h, em rampa de aquecimento a 10 °C/min. A reação de esterificação foi realizada em Erlenmeyer de 50 mL, com volume de trabalho de 35 mL, sendo mantido em incubadora com controle de temperatura e agitação orbital modelo TE-420 (Tecnal, Brasil) durante o período de reação. Alíquotas de 0,5 mL foram retiradas do meio reacional em períodos de 20 min, durante 2 h, e adicionadas em Erlenmeyer de 50 mL contendo 5 mL de etanol e solução de fenolftaleína 1% para titulação

com solução de NaOH 0,01M para quantificação do teor de ácido butírico ($C_{b,s1}$), calculado conforme a Equação 42. A partir do teor de ácido medido no tempo inicial ($C_{b,s1}(0)$), o perfil de conversão foi estimado ao longo do tempo de reação.

$$C_{b,s1} = \frac{f * C_{NaOH} * V_{NaOH}}{V_A} \quad (42)$$

Em que f , C_{NaOH} e V_{NaOH} são, respectivamente, o fator de padronização, a molaridade e o volume da solução de NaOH e V_A é o volume de amostra presente no Erlenmeyer.

Ademais, pontos experimentais também foram coletados nos tempos de 4 e 6 h de reação, de modo a verificar o atingimento do equilíbrio químico na síntese de butanoato de etila por N435. O sistema reacional foi avaliado em duas condições, na ausência (EXP-branco) e na presença (EXP-ZLT) de peneiras moleculares do tipo zeólita 3A, na quantidade de 1,39 % em relação à massa de meio reacional, com a finalidade de observar o efeito da remoção de água no perfil de conversão da reação de esterificação. A partir da conversão de equilíbrio (X_{eq}) obtida em EXP-branco, a constante de equilíbrio (K_{eq}) foi estimada através da Equação 43, que pode ser reescrita em função de X_{eq} (Equação 44).

$$K_{eq} = \frac{C_{p,eq} * C_{w,eq}}{C_{s1,eq} * C_{s2,eq}} \quad (43)$$

$$K_{eq} = \frac{X_{eq}^2}{(1 - X_{eq})^2} \quad (44)$$

Em que $C_{s1,eq}$, $C_{s2,eq}$, $C_{p,eq}$ e $C_{w,eq}$ são as concentrações de ácido butírico, etanol, butanoato de etila e água no equilíbrio, respectivamente.

A raiz do erro quadrático médio (RMSE), assim como seu valor relativo (rRMSE), foram utilizadas como métricas para avaliar a predição dos modelos de reatores heterogêneos em relação aos dados experimentais obtidos, sendo estimadas a partir das Equações 45 e 46, respectivamente (DESPOTOVIC *et al.*, 2016).

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n_{pe}} \sum_{i=1}^{n_{pe}} (X_{exp} - X_{calc})^2} \quad (45)$$

$$rRMSE = \sqrt{\frac{\frac{1}{n_{pe}} \sum_{i=1}^{n_{pe}} (X_{exp} - X_{calc})^2}{\frac{1}{n_{pe}} \sum_{i=1}^{n_{pe}} X_{exp}}} * 100 \quad (46)$$

Em que n_{pe} é o número de pontos experimentais, X_{exp} é a conversão experimental obtida e X_{calc} é a conversão estimada pelo modelo do reator batelada heterogêneo.

Além disso, o critério de Weisz foi utilizado para analisar a relevância de limitações difusionais internas na síntese de butanoato de etila por N435 (DORAN *et al.*, 2013). De acordo com esse critério, se o valor do módulo de Thiele (Φ) for inferior à 0,3, o efeito de restrições difusionais internas pode ser considerado insignificante para o processo. O módulo de Thiele para geometrias esféricas é obtido pela Equação 47, através da relação entre o raio da partícula de biocatalisador (R), a velocidade de reação observável (v_{obs}), a difusividade efetiva da substância química ($D_{e,x}$) e sua concentração avaliada na superfície da partícula ($C_{s,x}$).

$$\Phi = \left(\frac{R}{3}\right)^2 \frac{v_{obs}}{D_{e,x} C_{s,x}} \quad (47)$$

A velocidade de reação observável está relacionada com a taxa de consumo e geração de substâncias que pode ser mensurada na fase *bulk*, podendo ser estimada a partir da Equação 48, que relaciona a velocidade de reação avaliada na superfície da partícula de biocatalisador ($v(R, t)$) com o fator de efetividade interno (n'_{IDR}), que indica o uso efetivo do biocatalisador heterogêneo frente a limitações difusionais internas. Esse fator, por sua vez, pode ser calculado pela Equação 49 através da média da razão entre a velocidade de reação em dado raio da partícula ($v(r, t)$) e a da superfície do biocatalisador, sendo n o número de pontos discretos no raio.

$$v_{obs} = n'_{IDR} * v(R, t) \quad (48)$$

$$n'_{IDR} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left(\frac{v(r, t)}{v(R, t)} \right) \quad (49)$$

5.5 Análise de sensibilidade das variáveis de processo

O efeito das variáveis de processo na performance da operação de síntese enzimática do butanoato de etila foi avaliado através de análise de sensibilidade. Simulações da operação do reator batelada heterogêneo foram conduzidas, partindo das condições experimentais de Martins *et al.* (2014) apresentadas no item 5.3, variando uma variável de processo por vez e mantendo as demais constantes, avaliando ao todo três níveis de valores para cada.

As variáveis utilizadas na análise foram o raio da partícula de biocatalisador (R_p : 0,31 – 0,60 – 0,90 mm), a concentração inicial de substratos ($C_{b,s}(0)$: 0,1 – 0,2 – 0,3 M), a razão molar entre os substratos (RM : 1:1 – 1:2 – 1:3) e a carga de biocatalisador em relação à massa de ácido butírico na fase *bulk* no início da reação (E : 10 – 20 – 30%). Como variáveis resposta, foram empregadas a conversão (X), a produtividade de butanoato de etila (P_p), a concentração final do produto ($C_{b,p}$), a produtividade do biocatalisador (P_c), o fator de efetividade médio no tempo (n_{IDR}) e o fator ambiental (E_f). A Tabela 10 apresenta a forma como esses parâmetros foram calculados e uma descrição para cada um deles.

Tabela 10 – Variáveis resposta utilizadas na análise de sensibilidade do reator batelada heterogêneo (continua)

Variável resposta	Equação	Descrição
Conversão ¹ (%)	$X = \frac{C_{b,s}(0) - C_{b,s}}{C_{b,s}(0)} * 100$	Percentual de reagente limitante que reagiu para formar o produto, em que $C_{b,s}(0)$ e $C_{b,s}$ são as concentrações inicial e final do reagente limitante.
Produtividade de butanoato de etila ² (kg _p /h)	$P_p = \frac{C_{b,p} * V_b * M_p}{t}$	Relação da massa de produto gerado com o tempo de reação (t), em que $C_{b,p}$ é a concentração final de butanoato de etila, M_p é a sua massa molar e V_b é o volume da fase <i>bulk</i> .
Concentração final de butanoato de etila ³ (M)	$C_{b,p} = \frac{N_{b,p}}{V_b}$	Razão entre o número de mols de butanoato de etila ($N_{b,p}$) e o volume da fase <i>bulk</i> .
Produtividade do biocatalisador ³ (kg _p /kg _c .h)	$P_c = \frac{C_{b,p} * V_b * M_p}{t * m_c}$	Relação entre a massa de produto gerada no tempo e a massa de biocatalisador utilizada (m_c).

Tabela 10 – Variáveis resposta utilizadas na análise de sensibilidade do reator batelada heterogêneo (conclusão)

Variável resposta	Equação	Descrição
Fator de efetividade médio no tempo ⁴ (%)	$n_{IDR} = \frac{1}{n_{ts}} \sum_{i=1}^{n_{ts}} \left[\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left(\frac{v(r, t)}{v(R, t)} \right) \right]$	Avalia o uso efetivo do biocatalisador frente a limitações difusionais internas. O fator de efetividade interno é calculado a partir da média dos fatores locais distribuídos em pontos discretos no espaço (n) e no tempo (n_{ts}).
Fator ambiental ⁵ (kg _r /kg _p)	$E_f = \frac{m_{hx} + m_{s1} + m_{s2} + m_w}{m_p}$	Relação entre a massa de resíduos gerada e a massa de produto (m_p) obtida ao final do processo. Os resíduos incluem o solvente (m_{hx}), os substratos não convertidos (m_{s1} e m_{s2}) e o subproduto da reação (m_w).

Fonte: ¹Fogler (2020); ²Guillen, Benaiges e Varelo (2016); ³Woodley (2019); ⁴Illanes, Wilson e Vera (2014); e ⁵Sheldon e Woodley (2018).

5.6 Otimização multiobjetivo da operação dos reatores descontínuos heterogêneos

A partir da análise de sensibilidade discutida no item 5.5, as variáveis de processo concentração inicial de substratos ($C_{b,s1}(0)$ e $C_{b,s2}(0)$) e massa de biocatalisador (m_c) foram utilizadas como parâmetros de otimização da performance operacional do reator batelada heterogêneo (BR). Ademais, para otimização do reator batelada alimentada, as concentrações de alimentação dos substratos ($C_{0,s1}$ e $C_{0,s2}$) também foram empregadas, analisando diferentes configurações: alimentando apenas ácido butírico (FBR-Fs1) e apenas etanol (FBR-Fs2).

Inicialmente, realizou-se a otimização da operação dos reatores descontínuos heterogêneos através de funções de único objetivo, buscando-se maximizar as variáveis resposta produtividade de butanoato de etila (P_p), concentração final do produto ($C_{b,p}$) e produtividade do biocatalisador (P_c) (GUILLEN; BENAIGES; VARELO, 2016, WOODLEY, 2019). A Tabela 11 apresenta os modelos matemáticos empregados para otimização da operação dos reatores heterogêneos.

Nos procedimentos de otimização, foram especificados limites de busca para as variáveis independentes. Para as concentrações, foram aplicados os valores de 0,1 a 2,5 M, correspondentes à faixa de concentração usada no levantamento dos parâmetros cinéticos do

modelo Ping-Pong Bi-Bi (FOUKIS *et al.*, 2018). Quanto à massa de biocatalisador, os limites foram de 8,8 a 220 mg, referentes ao percentual de 10% em relação à massa de ácido butírico nas concentrações de 0,1 e 2,5 M em um volume de 10 mL de reator.

Tabela 11 – Modelos matemáticos para otimização das funções de único objetivo das diferentes configurações de reatores descontínuos heterogêneos avaliadas na síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)

Reator batelada heterogêneo (BR)	
Maximizar	$f_{obj,P_p}(C_{b,s1}(0), C_{b,s2}(0), m_c),$ $f_{obj,P_c}(C_{b,s1}(0), C_{b,s2}(0), m_c),$ $f_{obj,C_{b,p}}(C_{b,s1}(0), C_{b,s2}(0), m_c),$
sujeito a:	$0,1 \leq C_{b,s1}(0) \leq 2,5,$ $0,1 \leq C_{b,s2}(0) \leq 2,5,$ $8,8 \leq m_c \leq 220.$
Reator batelada heterogêneo alimentado com ácido butírico (Fs1-FBR)	
Maximizar	$f_{obj,P_p}(C_{b,s1}(0), C_{b,s2}(0), C_{0,s1}, m_c),$ $f_{obj,P_c}(C_{b,s1}(0), C_{b,s2}(0), C_{0,s1}, m_c),$ $f_{obj,C_{b,p}}(C_{b,s1}(0), C_{b,s2}(0), C_{0,s1}, m_c),$
sujeito a:	$0,1 \leq C_{b,s1}(0) \leq 2,5,$ $0,1 \leq C_{b,s2}(0) \leq 2,5,$ $0,1 \leq C_{0,s1} \leq 2,5,$ $8,8 \leq m_c \leq 220.$
Reator batelada heterogêneo alimentado com etanol (Fs2-FBR)	
Maximizar	$f_{obj,P_p}(C_{b,s1}(0), C_{b,s2}(0), C_{0,s2}, m_c),$ $f_{obj,P_c}(C_{b,s1}(0), C_{b,s2}(0), C_{0,s2}, m_c),$ $f_{obj,C_{b,p}}(C_{b,s1}(0), C_{b,s2}(0), C_{0,s2}, m_c),$
sujeito a:	$0,1 \leq C_{b,s1}(0) \leq 2,5,$ $0,1 \leq C_{b,s2}(0) \leq 2,5,$ $0,1 \leq C_{0,s2} \leq 2,5,$ $8,8 \leq m_c \leq 220.$

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para encontrar o ponto de máximo global das funções objetivo definidas, correspondente à performance maximizada dos reatores, foi empregado o método Evolução Diferencial, classificado como estocástico, baseado em população (STORN; PRICE, 1997). A função “differential_evolution”, também implementada em Python e disponível no pacote de rotinas científicas SciPy (SCIPY, 2024), foi utilizada nesse estudo.

Após a realização da otimização da performance dos reatores através das funções de único objetivo, buscou-se analisar o comportamento de *trade-off* entre as variáveis resposta selecionadas nesse estudo. Desse modo, foi utilizada a análise da frente de Pareto, um método de inspeção gráfica de funções multiobjetivo para observação do *trade-off*, ou seja, de ganhos e perdas na tomada de decisão de um projeto, ao optar-se pela priorização de um objetivo de otimização em relação aos demais (SRIVASTAVA; PADHIYAR, 2016).

Para construção da frente de Pareto, empregou-se o método de soma ponderada, em que a função multiobjetivo é convertida em uma função de único objetivo, atribuindo-se pesos (P_n) aos objetivos de otimização e realizando posteriormente a soma entre eles (WANG *et al.*, 2018). Assim, as frentes de Pareto para cada configuração de reator foram determinadas ao variar os valores dos pesos atribuídos de 0 a 1 na função multiobjetivo do problema de otimização modelado (Tabela 12). As soluções obtidas na maximização das funções de único objetivo foram empregadas para normalização da função multiobjetivo, de modo a evitar efeitos oriundos da diferença de escala das variáveis resposta.

Tabela 12 – Modelos matemáticos para otimização das funções multiobjetivo das diferentes configurações de reatores descontínuos heterogêneos avaliadas na síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435) (continua)

Reator batelada heterogêneo (BR)

Maximizar

$$f_{multi,obj}(C_{b,s1}(0), C_{b,s2}(0), m_c) = [P_1 * (\frac{P_p}{f_{obj,P_p}}) + P_2 * (\frac{C_{b,p}}{f_{obj,C_{b,p}}}) + P_3 * (\frac{P_c}{f_{obj,P_c}})],$$

sujeito a:

$$0,1 \leq C_{b,s1}(0) \leq 2,5,$$

$$0,1 \leq C_{b,s2}(0) \leq 2,5,$$

$$8,8 \leq m_c \leq 220.$$

Tabela 12 – Modelos matemáticos para otimização das funções multiobjetivo das diferentes configurações de reatores descontínuos heterogêneos avaliadas na síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435) (conclusão)

Reator batelada heterogêneo alimentado com ácido butírico (Fs1-FBR)

Maximizar

$$f_{multi,obj}(C_{b,s1}(0), C_{b,s2}(0), C_{0,s1}, m_c) = [P_1 * (\frac{P_p}{f_{obj,P_p}}) + P_2 * (\frac{C_{b,p}}{f_{obj,C_{b,p}}}) + P_3 * (\frac{P_c}{f_{obj,P_c}})],$$

sujeito a: $0,1 \leq C_{b,s1}(0) \leq 2,5,$

$0,1 \leq C_{b,s2}(0) \leq 2,5,$

$0,1 \leq C_{0,s1} \leq 2,5,$

$8,8 \leq m_c \leq 220.$

Reator batelada heterogêneo alimentado com etanol (Fs2-FBR)

Maximizar

$$f_{multi,obj}(C_{b,s1}(0), C_{b,s2}(0), C_{0,s2}, m_c) = [P_1 * (\frac{P_p}{f_{obj,P_p}}) + P_2 * (\frac{C_{b,p}}{f_{obj,C_{b,p}}}) + P_3 * (\frac{P_c}{f_{obj,P_c}})],$$

sujeito a: $0,1 \leq C_{b,s1}(0) \leq 2,5,$

$0,1 \leq C_{b,s2}(0) \leq 2,5,$

$0,1 \leq C_{0,s2} \leq 2,5,$

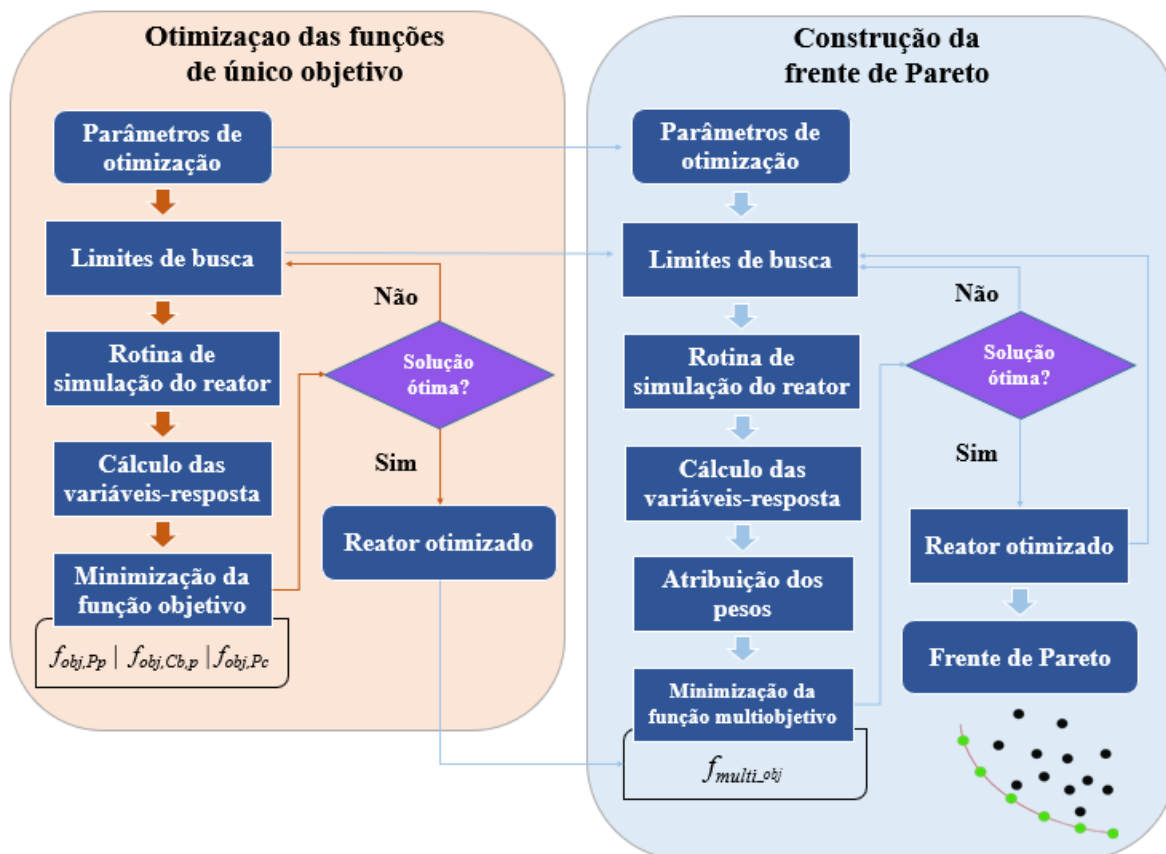
$8,8 \leq m_c \leq 220.$

Fonte: Elaborado pelo autor.

O fluxograma de trabalho para determinação das frentes de Pareto para as diferentes configurações de reatores descontínuos pode ser visualizado na Figura 19. O repositório remoto acessado por <https://github.com/Reps-GPBio/Dissertation.git> pode ser consultado para obtenção de mais detalhes sobre a rotina de otimização da operação dos reatores heterogêneos.

Ademais, as variáveis resposta obtidas nas condições de operação ótimas dos diferentes reatores descontínuos foram comparadas para escolha da melhor configuração a ser utilizada no aumento de escala de produção do éster butanoato de etila. Além das variáveis resposta do estudo de otimização, os valores de conversão (X), fator de efetividade médio no tempo (n_{IDR}) e fator ambiental (E_f) também foram analisados para tomada de decisão.

Figura 19 – Etapas da otimização da operação dos reatores heterogêneos para síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)

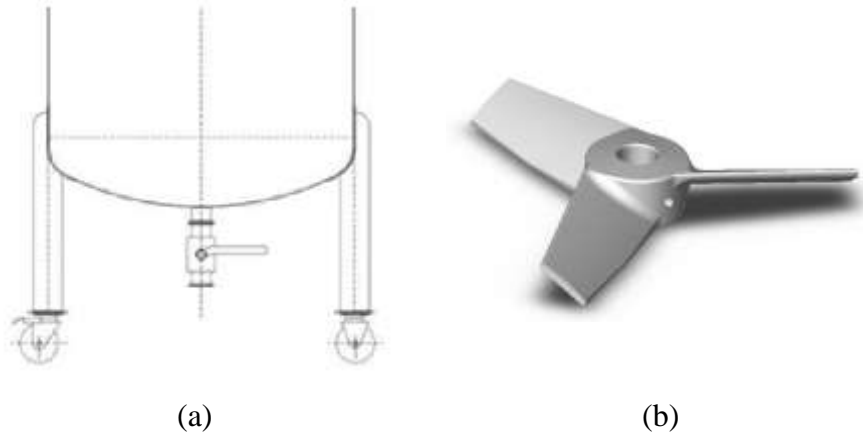


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.7 Aumento de escala do processo

Com o conhecimento das condições ótimas de operação do reator heterogêneo, prosseguiu-se com o seu aumento de escala a partir do volume laboratorial de 10 mL. Inicialmente, a estrutura do reator projetado foi definida, sendo constituída por um tanque mecanicamente agitado de geometria cilíndrica, possuindo quatro defletores verticais planos. O topo e o fundo do tanque apresentam formato abaulado (Figura 20a). As medidas de proporcionalidade geométrica do tanque são dadas nas Equações 50, 51, 52 e 53. O impelidor selecionado para compor o sistema é do tipo *hydrofoil* (Lightnin A310), representado na Figura 20b, por apresentar características de fluxo axial e baixo cisalhamento.

Figura 20 – Configurações geométricas empregadas na construção do (a) tanque agitado com formato abaulado e do (b) impelidor Lightning A310 para síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)



$$\frac{D}{T} = \frac{1}{3} \quad (50)$$

$$\frac{H}{T} = 1 \quad (51)$$

$$\frac{C}{D} = 1 \quad (52)$$

$$\frac{W_d}{T} = \frac{1}{12} \quad (53)$$

Em que D é o diâmetro do impelidor, T é o diâmetro do tanque, H é a altura de líquido, C é a altura do impelidor e W_d é a largura dos defletores.

A seguir, a velocidade de agitação do impelidor (N), para o sistema com volume de 10 mL, foi determinada de acordo com dois critérios: ser maior que a velocidade de mínima suspensão completa (N_{js}) das partículas de biocatalisador e garantir que o regime de escoamento seja turbulento, apresentando número de Reynolds (N_{RE}) superior a 10^4 . Para estimar N_{js} , foi utilizado o modelo GMB (GRENVILLE; MAK; BROWN, 2015), conforme Equação 54, que calcula a velocidade de agitação a partir de constantes experimentais características do impelidor, propriedades dos materiais sólidos e líquidos e parâmetros geométricos do sistema

de agitação. O número de Reynolds foi obtido a partir da Equação 55, usada para fluidos newtonianos.

$$N_{js} = \frac{Z}{N_p^{1/3} D^{2/3}} d_p^{1/6} X_v^{0,154} \left(\frac{g \Delta \rho}{\rho_{hx}} \right)^{0,5} \left(\frac{C}{D} \right)^{0,10} \quad (54)$$

$$N_{RE} = \frac{\rho_{hx} N D^2}{\mu_{hx}} \quad (55)$$

Em que Z é a constante do modelo GMB e N_p é o número de potência para o impelidor selecionado, d_p é o diâmetro da partícula de biocatalisador, X_v é a fração volumétrica de sólidos presentes no líquido, g é a aceleração da gravidade e $\Delta \rho$ é a diferença entre as massas específicas da partícula de biocatalisador (ρ_c) e do hexano (ρ_{hx}).

Partindo da velocidade de agitação estimada para o volume inicial de 10 mL e seu correspondente diâmetro de impelidor, prosseguiu-se com o aumento de escala do tanque agitado utilizando o critério de potência por volume constante (MELLO *et al.*, 2024) a partir da Equação 56. O aumento gradual do diâmetro do impelidor foi realizado com um fator de 2 até alcançar o volume final de reator igual a 82 L, correspondente à faixa de produção em escala piloto.

$$N_1^3 D_1^2 = N_2^3 D_2^2 \quad (56)$$

Em que os números subscritos 1 e 2 representam os parâmetros de velocidade e diâmetro do impelidor de escala menor e maior, respectivamente.

Durante o aumento de escala da operação de síntese enzimática de butanoato de etila, observou-se o comportamento das variáveis potência (Equação 57), torque (Equação 58), taxa de cisalhamento (Equação 59) e produtividade de butanoato de etila (Equação 60).

$$P = N_p \rho_{hx} N^3 D^5 \quad (57)$$

$$T_q = \frac{P}{2\pi N} \quad (58)$$

$$\dot{\gamma} = \frac{2\Lambda U_T}{D} \quad (59)$$

$$P_p = \frac{C_{b,p} * V_b * M_p}{t} \quad (60)$$

Em que P , T_q e $\dot{\gamma}$ são a potência, o torque e a taxa de cisalhamento gerados pelo impelidor, respectivamente, sendo a última calculada a partir da constante experimental Λ e da velocidade na ponta do impelidor (U_T), obtida pela Equação 61.

$$U_T = \pi ND \quad (61)$$

Os dados experimentais do impelidor Lightnin A310, necessários para realização do aumento de escala da síntese enzimática de butanoato de etila, podem ser obtidos na Tabela 13.

Tabela 13 – Constantes experimentais do impelidor Lightnin A310 utilizadas no aumento de escala da síntese enzimática de butanoato de etila catalisada por Novozym 435 (N435)

Constante experimental	Valor
Z (adimensional)	1,21 ¹
N_p (adimensional)	0,30 ²
Λ (adimensional)	0,17 ²

Fonte: ¹Grenville, Mak e Brown (2015); ²Grenville *et al.* (2017).

5.8 Análise de custos com insumos na produção em escala piloto

A análise prévia dos custos com insumos em escala piloto de produção de butanoato de etila por N435 foi realizada. Para isso, os custos por unidade de venda (R\$) dos seguintes insumos foram adquiridos com fabricantes: ácido butírico, etanol, hexano, biocatalisador N435 e peneiras moleculares do tipo zeólita 3A. A partir desses valores e das quantidades estimadas nas condições operacionais ótimas do reator heterogêneo, foi calculado o custo total com os insumos para produção de uma batelada do éster em escala piloto de 82 L. O retorno financeiro do processo com a venda do butanoato de etila fabricado também foi estimado.

Ademais, a solução de compromisso entre os diferentes objetivos de otimização, obtida a partir da análise da frente de Pareto (CO-kp), teve seus custos com insumos e retorno financeiro com a produção de butanoato de etila comparados com as condições ótimas obtidas na otimização das funções de único objetivo para as variáveis-resposta produtividade de butanoato de etila (CO-P_p) e produtividade do biocatalisador N435 (CO-P_c).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Convergência de malha para simulação dos reatores heterogêneos

A Figura 21a apresenta a variação no valor da conversão de ácido butírico, estimada na simulação da síntese de butanoato de etila por N435, em relação aos diferentes tamanhos de malha analisados, enquanto a Figura 21b indica os erros relativos entre as conversões estimadas. Assim, observa-se que a malha computacional contendo 15 elementos é a mais adequada para condução das simulações de operação dos reatores heterogêneos, pois apresenta erro relativo inferior a 5%, limite usualmente aplicado na literatura para garantir precisão numérica da solução, além de evitar o refinamento excessivo, aumentando assim o custo computacional para resolução das equações de projeto dos reatores (JIANG *et al.*, 2022). A partir da definição do número de elementos, o espaçamento entre os pontos do domínio computacional e o passo de tempo empregados para as demais simulações foram iguais a $22,5 \mu\text{m}$ e $0,05 \text{ s}$, respectivamente.

Figura 21 – (a) Influência do número de elementos da malha computacional na estimativa da conversão de ácido butírico (X) e (b) erro relativo percentual (ER) entre as estimativas dos diferentes tamanhos de malha (continua)

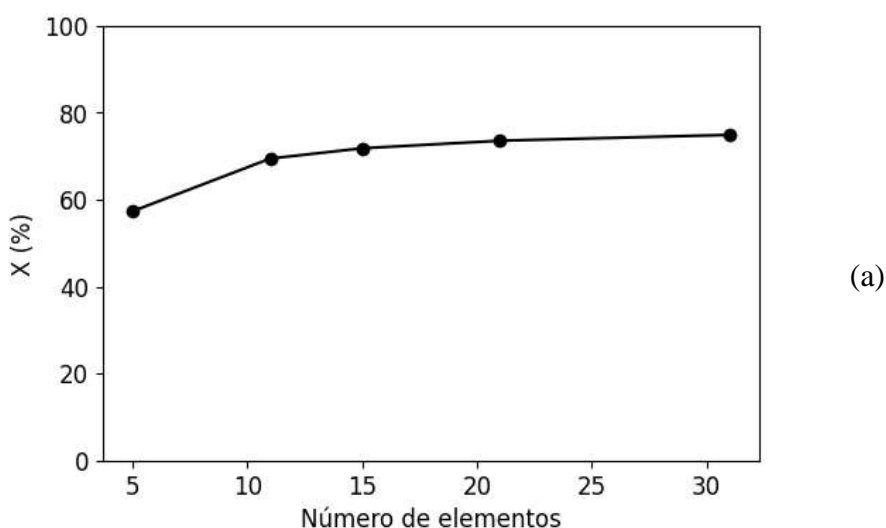
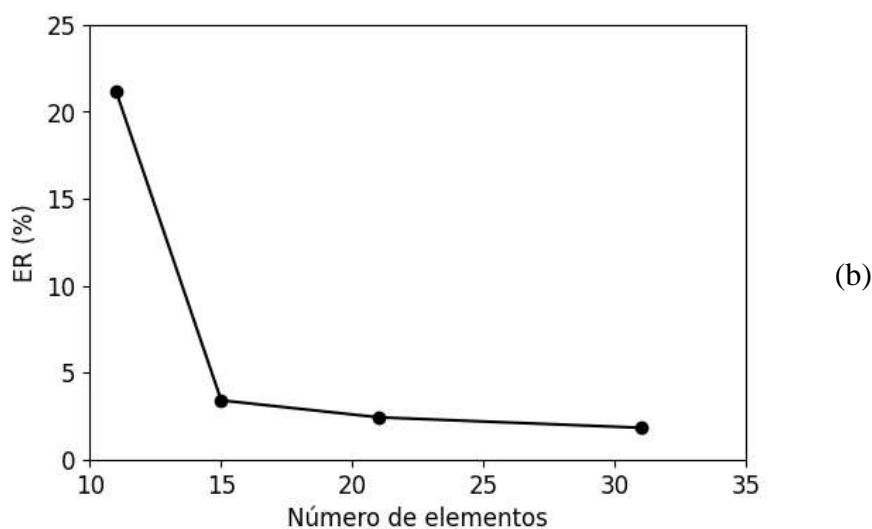


Figura 21 – (a) Influência do número de elementos da malha computacional na estimativa da conversão de ácido butírico (X) e (b) erro relativo percentual (ER) entre as estimativas dos diferentes tamanhos de malha (conclusão)



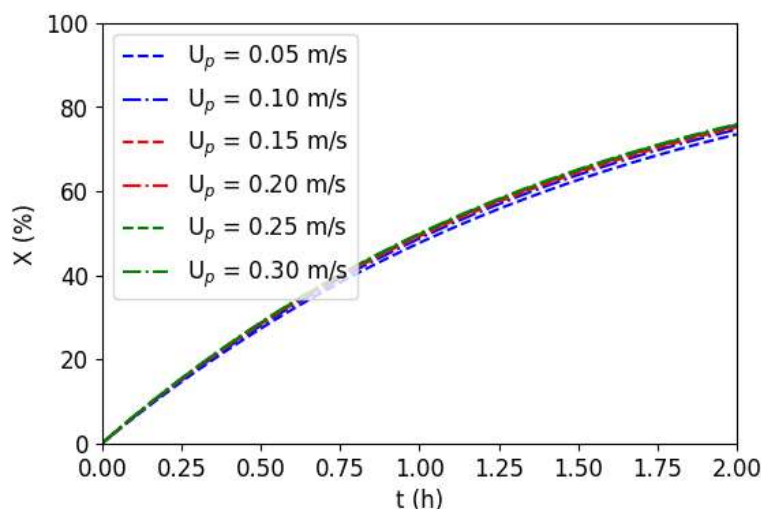
Fonte: Elaborado pelo autor.

6.2 Influência de limitações difusionais externas na reação de esterificação

A Figura 22 apresenta os perfis de conversão de ácido butírico na reação de esterificação do butanoato de etila catalisada por N435, estimados em diferentes velocidades de movimentação de partículas (U_p) através do modelo EIDR, que contabiliza tanto efeitos de restrição difusional interna quanto externa nos fenômenos de transferência de massa para síntese do éster.

Dessa forma, pela sobreposição dos perfis de conversão, é possível observar que o sistema heterogêneo avaliado não apresenta limitações difusionais externas, provenientes da resistência à difusão das substâncias envolvidas na reação pela camada estagnada de fluido remanescente na superfície das partículas de biocatalisador. A ausência de restrições difusionais externas também é confirmada pela estimativa do número de Biot para os componentes da reação de síntese de butanoato de etila por N435, como observado na Tabela 14, em que $N_{Bi} \gg 1$ (ILLANES; WILSON; VERA, 2014). Em sistemas mecanicamente agitados, devido à movimentação mais intensa do meio reacional, proveniente da rotação do impelidor, em comparação com outras configurações de reatores, como em leito fixo ou fluidizado, a camada estagnada de fluido tende a apresentar espessura mínima, proporcionando a transferência de massa mais eficiente entre fases (COROVIC *et al.*, 2020; KHAN *et al.*, 2021).

Figura 22 – Perfis de conversão (X) durante o tempo (t) de reação da síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435) estimados através do modelo EIDR em diferentes velocidades de movimentação das partículas de biocatalisador (U_p)



Fonte: Elaborado pelo autor

Tabela 14 – Números de Biot estimados para os componentes químicos envolvidos na reação de síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)

Componente	Número de Biot (N_{Bi})
Ácido butírico (s1)	11,02
Etanol (s2)	10,15
Butanoato de etila (p)	11,60

Fonte: Elaborado pelo autor.

Nesse sentido, a velocidade de agitação do impelidor, por apresentar relação diretamente proporcional com a velocidade de movimentação das partículas de biocatalisador, demonstrou não ter influência direta na performance da reação de esterificação do butanoato de etila. O efeito da velocidade de agitação na síntese do éster miristato de isopropila também foi investigado no trabalho de Vadgama, Odaneth e Lali (2015), em reação de esterificação catalisada por N435. Neste trabalho, a conversão da reação manteve-se constante e igual a 75,65% na faixa de velocidade de agitação analisada, variando de 50 a 250 RPM. Da mesma forma, os

resultados obtidos indicaram ausência de limitações difusionais externas na reação de esterificação catalisada pelo biocatalisador heterogêneo Novozym 435.

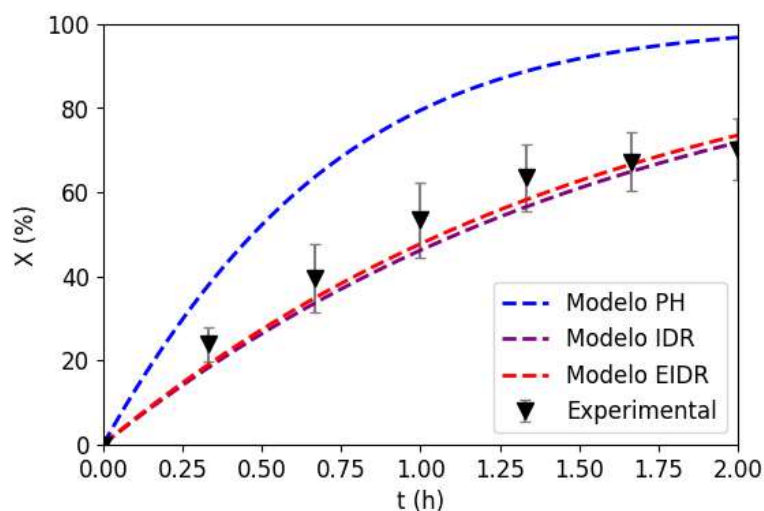
Apesar disso, a velocidade de agitação do reator ainda pode influenciar indiretamente a operação de síntese de butanoato de etila. A promoção de um regime de escoamento turbulento a partir da velocidade de agitação pode proporcionar menor tempo de mistura e, conseqüentemente, maior homogeneização do meio reacional. Isso auxilia na solubilização dos reagentes no solvente orgânico, assim como na redução de gradientes de concentração na fase *bulk* do reator, permitindo um contato mais eficiente dos substratos com os biocatalisadores e da água, subproduto indesejado da reação, com as peneiras moleculares, proporcionando sua rápida separação do sistema reacional (MURIA; CHEIRSILP; KITCHA, 2011; RAKMAI; CHEIRSILP, 2016).

A velocidade de agitação também pode influenciar no grau de suspensão das partículas de biocatalisador e zeólita 3A, de modo a evitar a formação de aglomerados particulados no reator, visto que promovem restrições difusionais pela redução da superfície de interação disponível entre as partículas e o meio reacional (GRENVILLE; MAK; BROWN, 2015). Ademais, o cisalhamento provocado pelo estresse mecânico oriundo da rotação do impelidor também pode ocasionar a perda de atividade dos biocatalisadores heterogêneos pelo despreendimento de enzimas do suporte de imobilização, fenômeno denominado de *leaching* (SHELDON; VAN PELT, 2013). Desse modo, a velocidade de agitação do impelidor continua sendo um parâmetro relevante na síntese de butanoato de etila por conta dos efeitos indiretos descritos, apresentando um impacto importante no aumento de escala do processo proposto.

6.3 Validação do modelo do reator batelada heterogêneo

Os perfis de conversão de ácido butírico ao longo do tempo de reação obtidos a partir da simulação das condições operacionais de Martins *et al.* (2014) através dos modelos PH, IDR e EIDR e os dados obtidos experimentalmente são mostrados na Figura 23. Observou-se uma taxa de conversão maior para o modelo PH, tendo em vista que este desconsidera limitações difusionais na velocidade de reação, enquanto os modelos IDR e EIDR apresentaram perfis similares e uma taxa mais lenta. A diferença na conversão estimada ao final da reação entre esses modelos e o primeiro foi de aproximadamente 30%.

Figura 23 – Comparativo do perfil de conversão de ácido butírico (X) durante o tempo (t) da reação de síntese de butanoato de etila obtido experimentalmente com os estimados pelos modelos PH, IDR e EIDR



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Tabela 15 apresenta os valores dos parâmetros estatísticos RMSE e rRMSE obtidos para avaliação da capacidade preditiva dos diferentes modelos de reatores heterogêneos na síntese enzimática de butanoato de etila. Os erros médios percentuais apresentados pelos modelos IDR e EIDR em relação aos pontos experimentais foram de 10,97 e 8,99%, respectivamente, enquanto o modelo PH possuiu um erro de 49,46% na estimativa da conversão de ácido butírico. Dessa forma, a modelagem considerando restrições difusionais apresentou a melhor capacidade preditiva para simulação da operação do reator batelada heterogêneo, possuindo erro de estimativa dentro de limites aceitáveis pela literatura (LI *et al.*, 2013). Como visto no item 6.2, efeitos de limitações difusionais externas podem ser negligenciados para o sistema reacional analisado, logo, o modelo IDR, por ser mais simples, foi adotado para as demais simulações do reator descontínuo heterogêneo.

Nesse contexto, para evitar o subdimensionamento no projeto do reator descontínuo heterogêneo para síntese de butanoato de etila por N435, é de fundamental importância considerar os efeitos de limitações difusionais internas, visto que restrições à transferência de massa intraparticular promovem um gradiente de concentração dos substratos de magnitude relevante na partícula do biocatalisador, como ilustrado na Figura 24, que demonstra a distribuição da concentração do ácido butírico, o reagente limitante, no raio da N435 e ao longo do tempo, estimada a partir de simulação empregando o modelo IDR. Essa não uniformidade

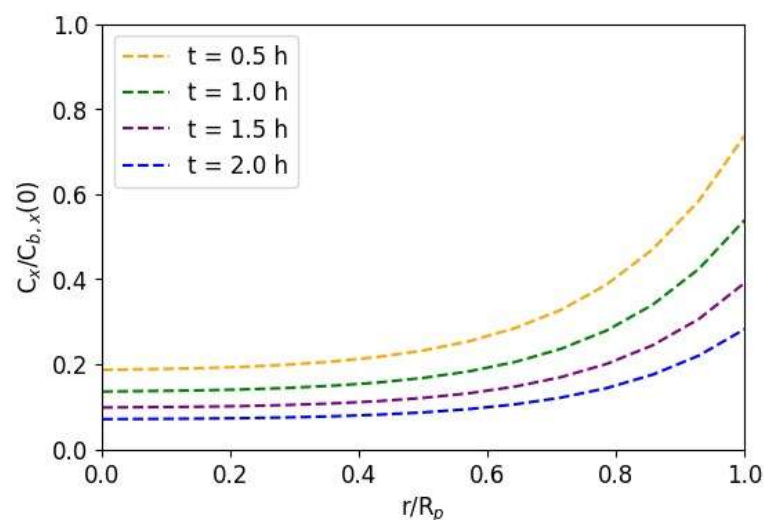
observada no interior do biocatalisador é decorrente de uma menor quantidade de substratos que consegue difundir para interagir com o sítio catalítico das lipases imobilizadas, restringindo a eficiência da catálise enzimática.

Tabela 15 – Parâmetros estatísticos de avaliação da capacidade preditiva dos modelos PH, IDR e EIDR de reatores descontínuos heterogêneos

Modelo	RMSE (%)	rRMSE (%)
PH	22,43	49,46
IDR	4,98	10,97
EIDR	4,08	8,99

Fonte: Elaborado pelo autor.

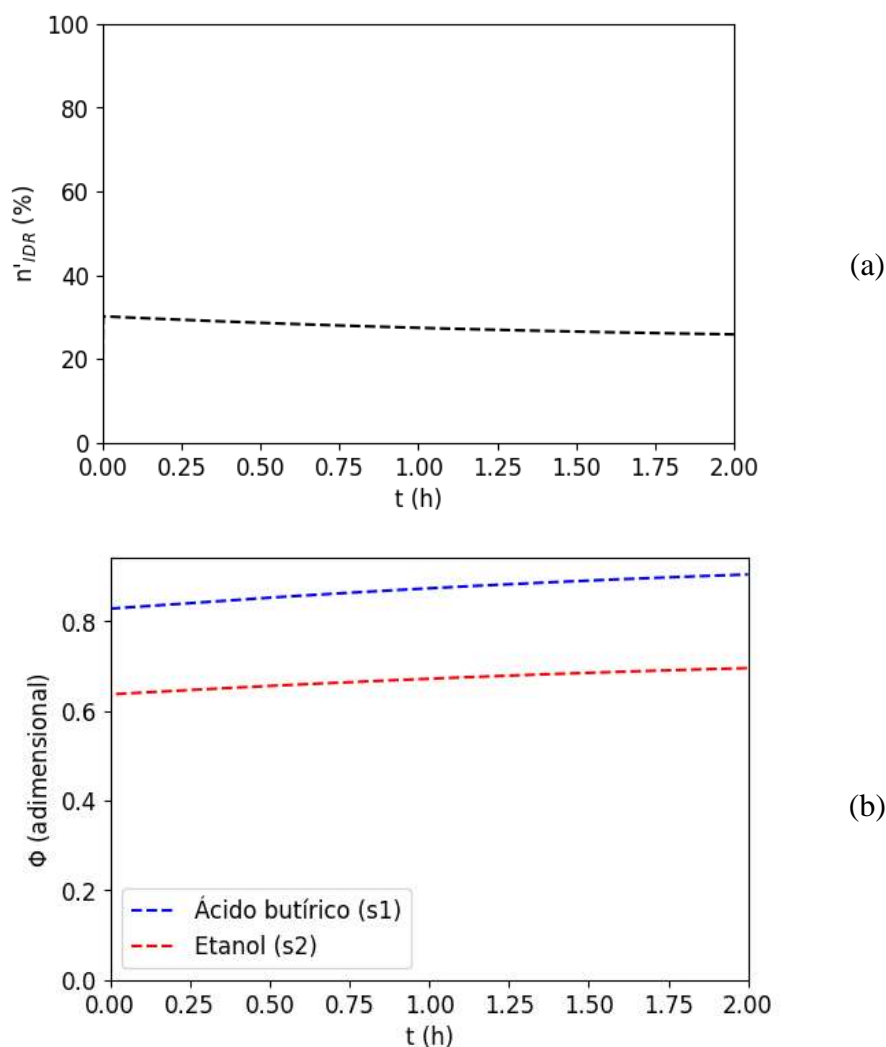
Figura 24 – Distribuição da concentração do substrato limitante no raio da partícula de biocatalisador Novozym 435 (N435) ao longo do tempo da reação de síntese de butanoato de etila



Fonte: Elaborado pelo autor.

Nesse sentido, o fator de efetividade interno, estimado por simulação das condições experimentais pelo modelo IDR, manteve-se inferior a 30% ao longo do tempo da reação de esterificação, como visto na Figura 25a, atestando o uso ineficiente do biocatalisador heterogêneo. Do mesmo modo, os módulos de Thiele observáveis (Figura 25b), calculados para ambos os substratos da reação, apresentaram-se superiores a 0,3, confirmando a relevância de restrições difusionais no sistema reacional estudado (DORAN *et al.*, 2013).

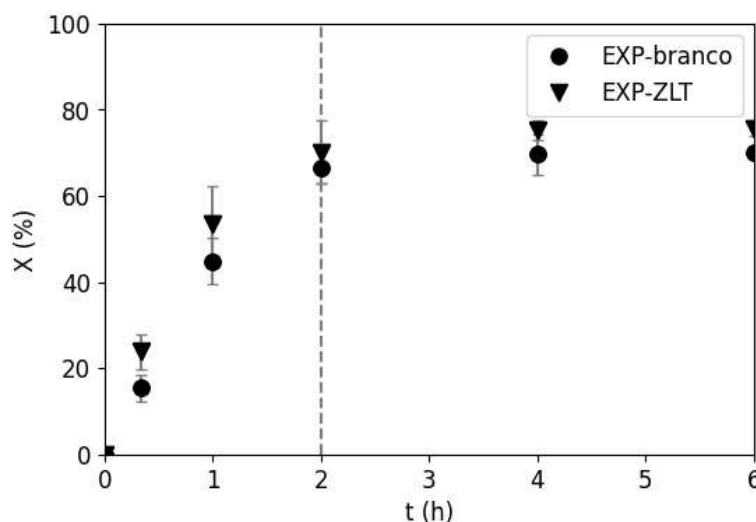
Figura 25 – Distribuição do (a) fator de efetividade interno e do (b) módulo de Thiele observável ao longo do tempo da reação de síntese de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)



Fonte: Elaborado pelo autor.

A reação de síntese enzimática de butanoato de etila também foi investigada quanto à condição de estabelecimento do equilíbrio químico, analisando o efeito da remoção de água pelas peneiras moleculares do tipo zeólita 3A no perfil de conversão de ácido butírico. Na Figura 26, são apresentadas as curvas de conversão obtidas experimentalmente nas condições de ausência (EXP-branco) e presença (EXP-ZLT) de zeólita 3A no meio reacional. A formação de um platô foi observada após o período de 2 h, representando o atingimento do equilíbrio químico da reação de esterificação.

Figura 26 – Comparativo entre os perfis de conversão de ácido butírico obtidos experimentalmente nas condições de ausência (EXP-branco) e presença (EXP-ZLT) de peneiras moleculares do tipo zeólita 3A na síntese de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)

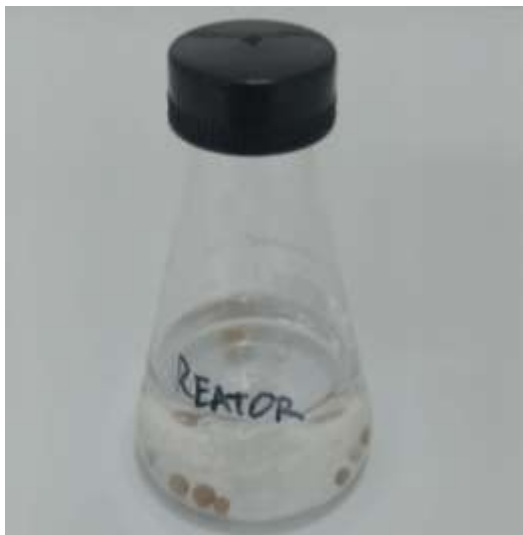


Fonte: Elaborado pelo autor.

Apesar do emprego de peneiras moleculares em EXP-ZLT (Figura 27), não se observou efeito significativo na conversão de equilíbrio da reação em comparação com o ensaio em branco (EXP-branco), pois era esperado que a conversão para a primeira condição fosse superior, tendo em vista a remoção de água do sistema e o deslocamento do equilíbrio para formação do éster. Sendo assim, diferentes fatores podem ter influenciado a remoção ineficiente de água durante a síntese de butanoato de etila, como a dispersividade das partículas de zeólita 3A, a agitação em baixa intensidade, a cinética de remoção de água pela zeólita, podendo ocorrer de forma mais lenta que a taxa de formação de água na reação, e o protocolo utilizado para ativação das peneiras moleculares, que pode ter comprometido a estrutura e a capacidade de aprisionamento da água pela zeólita (ZHANG *et al.*, 2024).

Dessa forma, prosseguiu-se com a determinação da constante de equilíbrio da reação a partir do ensaio em branco para agregar o equilíbrio químico ao modelo cinético da síntese de butanoato de etila por N435, Equação 62, compondo mais um modelo de reator heterogêneo (IDR-EQ). O valor obtido para a constante de equilíbrio foi de 5,48. Como $K_{eq} > 1$, a direção da reação para formação de éster é favorecida, explicando a conversão máxima alcançada, de aproximadamente 70%, mesmo sem a remoção efetiva de água do meio reacional.

Figura 27 – Configuração do sistema reacional empregado nos experimentos de determinação do perfil de conversão de ácido butírico na síntese de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)



Fonte: Elaborado pelo autor.

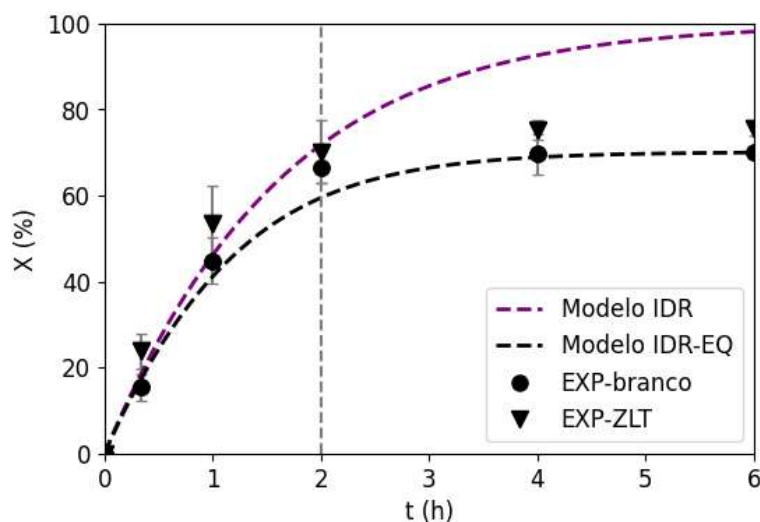
$$v = \frac{E_0 k_{cat} [C_{s1} C_{s2} - \frac{C_p C_w}{K_{eq}}]}{K_{ms1} C_{s2} \left(1 + \frac{C_{s2}}{K_{is2}}\right) + K_{ms2} C_{s1} \left(1 + \frac{C_{s1}}{K_{is1}}\right) + C_{s1} C_{s2}} \quad (62)$$

Em que C_p e C_w são as concentrações de butanoato de etila e água, respectivamente.

Assim, ao simular as condições experimentais observadas no equilíbrio químico através dos modelos IDR e IDR-EQ (Figura 28), observou-se o atingimento da conversão de equilíbrio pelo modelo IDR-EQ, enquanto a conversão estimada pelo outro se manteve crescente até o final do período analisado.

Os parâmetros estatísticos RMSE e rRMSE também foram calculados para avaliação da capacidade preditiva dos modelos IDR e IDR-EQ em comparação com a curva experimental de EXP-branco (Tabela 16). Para IDR-EQ, o erro médio percentual foi de 6,02%, indicando excelente capacidade de predição (LI *et al.*, 2013).

Figura 28 - Comparativo dos perfis de conversão de ácido butírico (X) durante o tempo (t) da reação de síntese de butanoato de etila obtidos experimentalmente, nas condições de ausência (EXP-branco) e presença (EXP-ZLT) de peneiras moleculares do tipo zeólita 3A, com os estimados pelos modelos IDR e IDR-EQ



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 16 - Parâmetros estatísticos de avaliação da capacidade preditiva dos modelos IDR e IDR-EQ de reatores descontínuos heterogêneos

Modelo	RMSE (%)	rRMSE (%)
IDR	12,25	27,60
IDR-EQ	2,67	6,02

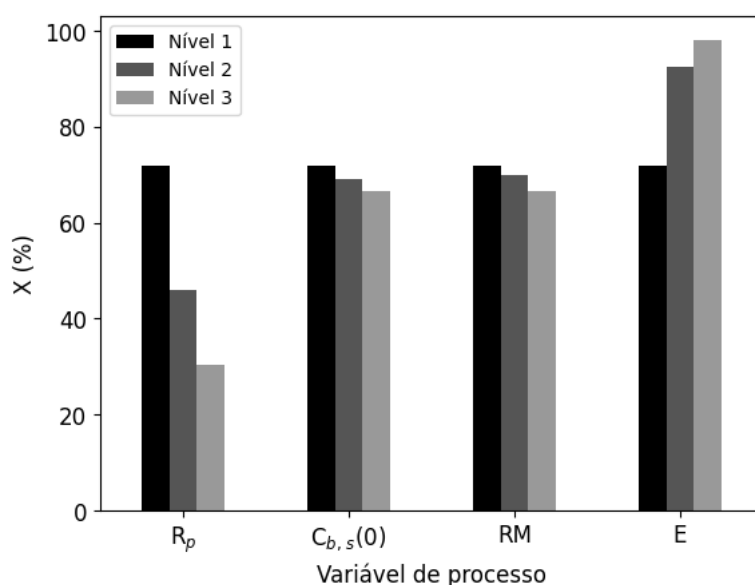
Fonte: Elaborado pelo autor.

A partir do exposto, o projeto do reator descontínuo heterogêneo prosseguiu utilizando o modelo IDR nas simulações, por representar a condição ideal de remoção de água e deslocamento do equilíbrio para formação do produto de interesse, o éster butanoato de etila. Ademais, o modelo IDR-EQ pode ser empregado para estimativa da conversão máxima alcançável ao considerar o equilíbrio químico da reação de esterificação, de modo a quantificar perdas no rendimento do processo provenientes da formação de água.

6.4 Análise de sensibilidade das variáveis de processo

Na Figura 29, é representado o efeito das variáveis de processo na conversão durante a síntese enzimática de butanoato de etila catalisada por N435. O raio da partícula e a carga de biocatalisador tiveram os efeitos mais significativos na conversão estimada, enquanto a concentração inicial e a razão molar dos substratos proporcionaram alterações bastante discretas.

Figura 29 – Conversão (X) avaliada ao variar o raio da partícula de biocatalisador (R_p), a concentração inicial de substratos ($C_{b,s}(0)$), a razão molar entre os substratos (RM) e a carga de biocatalisador (E) na síntese enzimática de butanoato de etila



Fonte: Elaborado pelo autor.

Especificamente, aumentar o raio de 0,31 para 0,90 mm resultou em uma diminuição na conversão de 71,79% para 30,30%. Essa redução pode estar relacionada ao aumento do caminho necessário para que as substâncias se difundam na matriz sólida do biocatalisador. Assim, embora o fato de as lipases serem inseridas dentro dos poros do suporte seja favorável para a manutenção da estabilidade estrutural dessas enzimas, limitações difusionais devem ser consideradas (ISMAIL; BAEK, 2020).

Ademais, o tamanho da partícula está intimamente relacionado à área superficial de contato entre o biocatalisador heterogêneo e o meio de reação, sendo um fator chave para a eficiência da reação. Quanto menor o raio do suporte de imobilização, melhor a dispersividade das partículas dentro do reator e menor resistência à transferência de massa pode ser obtida

(MANDARI; DEVARAI, 2022), podendo proporcionar o alcance de altas conversões em processos industriais.

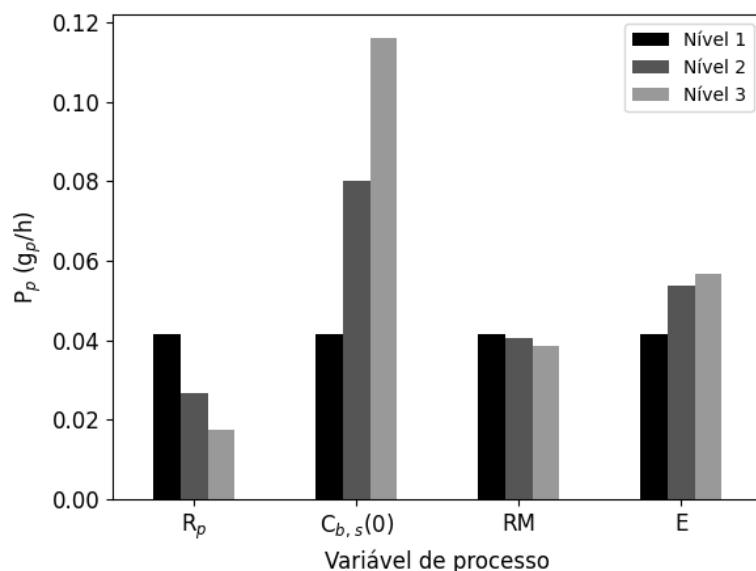
O aumento da concentração dos substratos na fase *bulk*, tanto através do aumento de suas concentrações iniciais como pela modificação da razão molar entre substratos, colocando o etanol em excesso, apresentou efeito negativo, embora discreto em magnitude, na conversão da reação. Isso pode se dar devido à inibição da atividade da lipase pelos substratos, sendo reportado na literatura que a velocidade de reação na esterificação enzimática aumenta até certo limite com o aumento da concentração de substratos (KHAN *et al.*, 2021).

Em contrapartida, o aumento da carga de biocatalisador de 10 para 30% em relação à massa de ácido butírico promoveu um aumento percentual de 36,62% na conversão. Da mesma forma que o raio, uma maior área de contato com os substratos pode ser obtida com mais massa de biocatalisador presente no reator. Além disso, a quantidade de enzima pode afetar positivamente a velocidade de reação, desde que as partículas de suporte não se aglomerem no meio reacional (MONTEIRO *et al.*, 2019), o que pode ser evitado pelo sistema de agitação mecânica do reator.

Com relação à produtividade de butanoato de etila (Figura 30), observou-se que o acréscimo no tamanho da partícula de biocatalisador apresentou efeito negativo, assim como com a conversão. Isso pode indicar que o aumento da resistência à transferência de massa pode limitar a produção de grandes quantidades de butanoato de etila. Por outro lado, a produtividade do éster não apresentou sensibilidade relevante a alterações na razão molar entre substratos.

Além disso, o incremento na concentração inicial de substratos e na carga de biocatalisador apresentaram relações diretamente proporcionais à produtividade de butanoato de etila, tendo a primeira variável demonstrado o maior efeito positivo. O aumento na concentração inicial de 0,1 M para 0,3 M elevou a produtividade de 0,042 g/h para 0,116 g/h, cerca de 276%. Isso pode ser explicado pela maior entrada de matéria-prima no início do processo, tendo em vista que a conversão não variou consideravelmente devido a efeitos de inibição enzimática, resultando em maior vazão de produto. Nesse contexto, analisar a produtividade de butanoato de etila torna-se relevante para elaboração de estratégias econômicas para o projeto de equipamentos industriais, evitando a subutilização do volume do reator e permitindo que condições ótimas sejam alcançadas para maximização da vazão de produto na saída do processo (SIDDIQUI *et al.*, 2022).

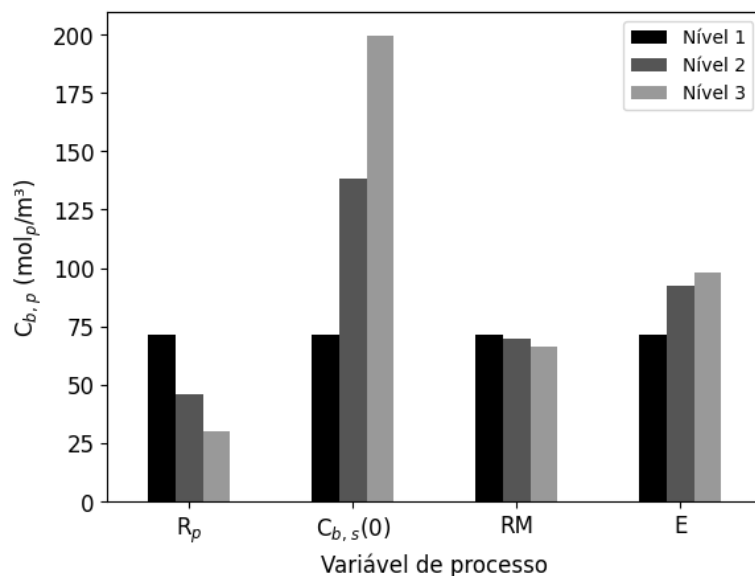
Figura 30 – Produtividade de butanoato de etila (P_p) avaliada ao variar o raio da partícula de biocatalisador (R_p), a concentração inicial de substratos ($C_{b,s}(0)$), a razão molar entre os substratos (RM) e a carga de biocatalisador (E) na síntese enzimática de butanoato de etila



Fonte: Elaborado pelo autor.

A partir da Figura 31, pode-se observar que o efeito das variáveis de processo na concentração final de butanoato de etila foram equivalentes aos visualizados na produtividade do éster, tendo o aumento da concentração inicial de substratos para 0,3 M resultado na maior concentração final de produto, igual a 0,2 M, aproximadamente. Para que bioprocessos alcancem competitividade comercial, é necessário apresentar altos valores de produtividade e concentração final de produto, ou *titer* (CHANG *et al.*, 2010). A maximização da concentração final de produto pode simplificar as operações de separação e purificação do processo, responsáveis por até 50% do custo de fabricação de produtos químicos (ZHANG *et al.*, 2023), permitindo economia de energia, redução do tamanho de equipamentos para separação e facilidade no aumento de escala.

Figura 31 – Concentração final de butanoato de etila ($C_{b,p}$) avaliada ao variar o raio da partícula de biocatalisador (R_p), a concentração inicial de substratos ($C_{b,s}(0)$), a razão molar entre os substratos (RM) e a carga de biocatalisador (E) na síntese enzimática de butanoato de etila

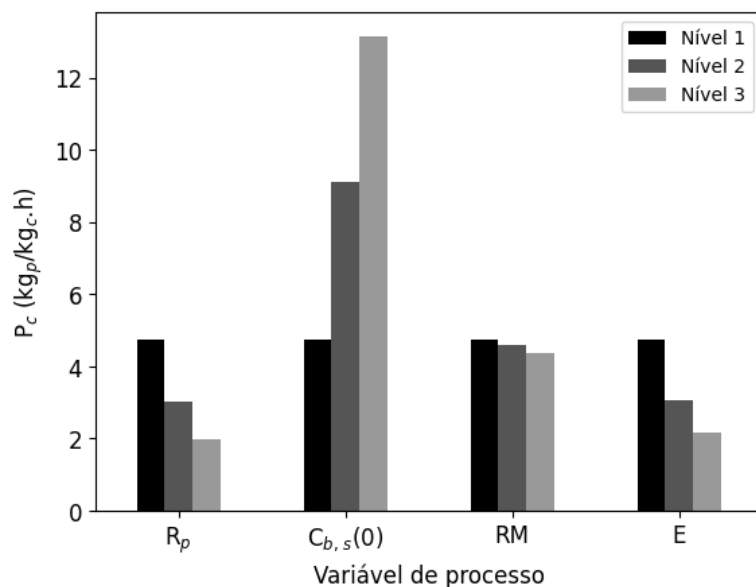


Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 32 apresenta o efeito das variáveis de processo na produtividade do biocatalisador simulada. O raio da partícula também demonstrou relação inversamente proporcional com essa métrica, enquanto a razão molar entre substratos não representou diferença significativa em magnitude no valor da métrica entre os níveis avaliados.

A concentração inicial de substratos foi positivamente relevante quando se analisou a produtividade do biocatalisador. Essa descoberta é crucial para entender e otimizar a produtividade do biocatalisador em operações industriais. O aumento da concentração inicial do nível 1 ao 3 elevou a produtividade de 4,73 para 13,15 kg_p/kg_c.h, cerca de 278%. Por outro lado, o aumento da carga de biocatalisador provocou sua redução, de 4,73 para 2,15 kg_p/kg_c.h, representando cerca de 45% do valor no nível 1. Os mesmos efeitos foram observados por Santos *et al.* (2017) na síntese de acetato de isoamila catalisada por Novozym 435.

Figura 32 – Produtividade do biocatalisador (P_c) avaliada ao variar o raio da partícula de biocatalisador (R_p), a concentração inicial de substratos ($C_{b,s}(0)$), a razão molar entre os substratos (RM) e a carga de biocatalisador (E) na síntese enzimática de butanoato de etila



Fonte: Elaborado pelo autor.

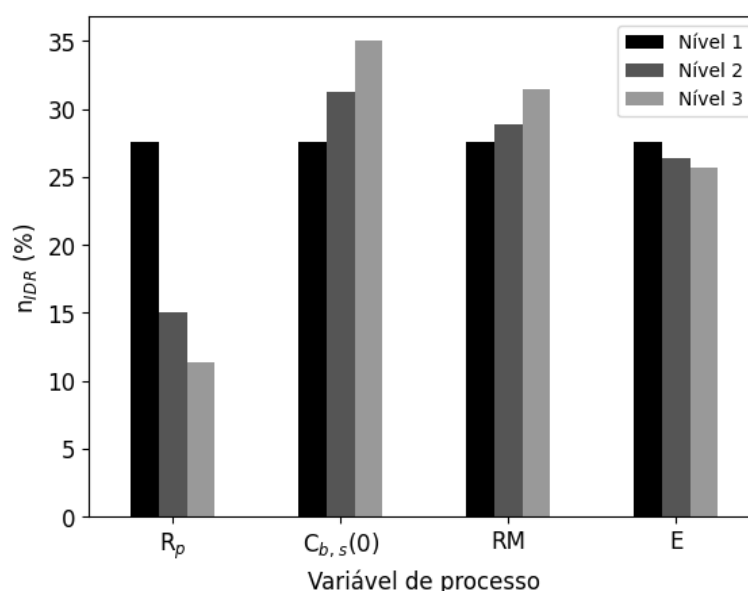
Embora o aumento da massa de biocatalisador favoreça a velocidade da reação, isso ocorre até certo limite, quando outros fatores, como concentração de substratos e restrições difusionais tornam-se limitantes do potencial catalítico das lipases (OLIVEIRA *et al.*, 2018). Assim, o incremento no conteúdo de biocatalisador deixa de ser benéfico e passa apenas a agregar custos ao processo industrial.

Nesse sentido, altos valores de produtividade podem indicar que o biocatalisador não está sendo subutilizado na operação do reator. Do ponto de vista industrial, o uso de menor quantidade de biocatalisadores aliado à capacidade de recuperar e reutilizar lipases imobilizadas resulta em custos operacionais reduzidos (REMONATTO *et al.*, 2022; SANTOS *et al.*, 2017). Considerando que o valor dos biocatalisadores representa grande parte do custo operacional na síntese enzimática de ésteres, maximizar essa métrica pode ser crucial para alcançar a viabilidade econômica do processo (POURZOLFAGHAR *et al.*, 2016).

Na Figura 33, pode-se observar como o fator de efetividade médio no tempo foi influenciado pela alteração nas variáveis de processo. Esse fator avalia a utilização eficiente do biocatalisador heterogêneo em detrimento de restrições difusionais (ILLANES *et al.*, 2013). Para a reação de esterificação em estudo, o aumento do raio da partícula de biocatalisador levou

a uma diminuição no fator de efetividade médio no tempo, reduzindo-o de 27,61 para 11,31%. Essa variável de processo apresentou o efeito mais relevante na intensificação de limitações difusionais em comparação com as demais, podendo influenciar significativamente na taxa de formação do produto butanoato de etila, como visualizado através das métricas anteriormente discutidas.

Figura 33 – Fator de efetividade médio no tempo (η_{IDR}) avaliado ao variar o raio da partícula de biocatalisador (R_p), a concentração inicial de substratos ($C_{b,s}(0)$), a razão molar entre os substratos (RM) e a carga de biocatalisador (E) na síntese enzimática de butanoato de etila



Fonte: Elaborado pelo autor.

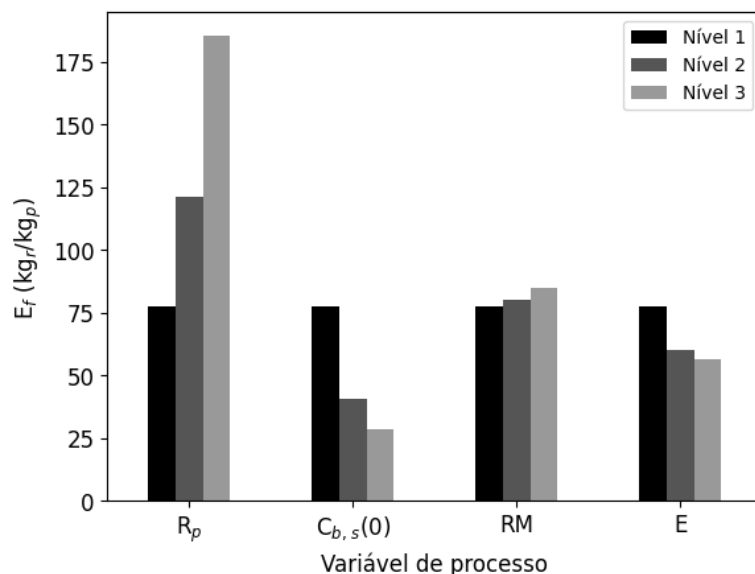
Em contrapartida, tanto a concentração inicial dos substratos quanto sua razão molar apresentaram relações diretamente proporcionais com o fator de efetividade média no tempo. O aumento na efetividade do biocatalisador pode ocorrer devido ao aumento do gradiente de concentração entre as fases *bulk* e sólida, causando a intensificação do fenômeno de difusão das substâncias na matriz porosa do suporte de imobilização (KHAN *et al.*, 2021). Xie *et al.* (2021) observaram que os efeitos difusionais internos podem ser reduzidos a ponto de serem negligenciados pelo aumento da concentração de reagentes, destacando novamente a importância de fornecer altos gradientes de concentração ao longo da síntese de ésteres.

Apesar disso, é crucial avaliar o impacto da concentração de álcool na atividade enzimática, pois altos níveis desse reagente podem modificar a polaridade do meio orgânico,

levando à perda de conformação e redução da atividade da lipase (OLIVEIRA *et al.*, 2019). Ademais, a redução do pH proporcionada pelo aumento do teor de ácidos carboxílicos também é outro fator agravante para a atividade enzimática, além do efeito inibitório causado por ambos os substratos (SÁ *et al.*, 2017). Foukis *et al.* (2017) observaram que, a partir de uma concentração de substrato acima de 2,5 M, a atividade da Novozym 435 é impactada negativamente. Conforme abordado, as limitações difusionais são um problema para a operação industrial e os resultados obtidos são significativos na compreensão da dinâmica da reação de produção do butanoato de etila.

O fator ambiental foi empregado para avaliar a sustentabilidade do bioprocessamento proposto no quesito de geração de resíduos. Na Figura 34, são exibidos os resultados da análise de sensibilidade para essa métrica do processo. Como apresentado anteriormente, o aumento máximo no raio da partícula levou a uma menor obtenção de butanoato de etila, aumentando a relação entre resíduos gerados e éster produzido para 185,33 kg_r/kg_p. Nesse sentido, os menores valores para o fator ambiental foram visualizados com a maior concentração inicial de substratos (0,3 M) seguido da maior carga de biocatalisador (30%), iguais a 28,24 e 56,42 kg_r/kg_p, respectivamente.

Figura 34 – Fator ambiental (E_f) avaliado ao variar o raio da partícula de biocatalisador (R_p), a concentração inicial de substratos ($C_{b,s}(0)$), a razão molar entre os substratos (RM) e a carga de biocatalisador (E) na síntese enzimática de butanoato de etila



Fonte: Elaborado pelo autor.

A maior contribuição para o valor do fator ambiental está relacionada com o emprego do solvente hexano para condução da reação de esterificação do butanoato de etila por N435. No entanto, a utilização desse solvente orgânico pode oferecer diversos benefícios, como melhor solubilidade a substratos orgânicos, auxílio na manutenção do sentido da reação para formação de ésteres e simplificação da purificação do produto por apresentar um baixo ponto de ebulição (KUMAR *et al.*, 2016; TOLEDO *et al.*, 2019).

Embora existam trabalhos na literatura explorando a utilização de meios reacionais livres de solvente, utilizando o álcool em excesso, em reações de esterificação enzimática, ainda existem desafios a serem superados para a obtenção de altos rendimentos de fabricação, tendo em vista os efeitos de inibição e desnaturação de lipases (WAHAB *et al.*, 2014). Nesse contexto, Devi, Radhika e Bhargavi (2017), observaram redução de 20% na conversão de butanoato de etila no sistema livre de solvente em comparação com o meio orgânico. Sendo assim, a utilização de solventes orgânicos, como o hexano, ainda se faz importante para viabilização econômica dos processos de esterificação enzimáticos.

A partir da análise de sensibilidade, observou-se que o raio da partícula do biocatalisador N435 possuiu grande relevância na obtenção de grandes quantidades de butanoato de etila. Seu aumento influenciou negativamente na efetividade do biocatalisador e, conseqüentemente, na taxa de reação. O aumento da concentração inicial dos substratos demonstrou ser uma possibilidade para alcançar altos valores de produtividade e concentração final de butanoato de etila, por intensificar a atividade enzimática e a transferência de massa entre as fases do reator. Elevar a carga de biocatalisador também favoreceu a formação de produto, mas o limite para isso deve ser observado através da métrica de produtividade do biocatalisador, buscando-se a condição de custo/benefício mais adequada para o processo. A condução da esterificação com excesso de álcool não apresentou benefícios suficientes para utilização, sendo a proporção 1:1 mais vantajosa. Por fim, maximizar a quantidade de éster produzido pode melhorar a relação entre resíduos e produto gerados no bioprocessos avaliado.

6.5 Otimização multiobjetivo da operação dos reatores descontínuos heterogêneos

A otimização da operação dos reatores descontínuos buscou maximizar a produtividade de butanoato de etila (P_p), a concentração final do éster produzido ($C_{b,p}$) e a produtividade do biocatalisador (P_c), empregando as concentrações iniciais e de alimentação dos substratos ($C_{b,s1}(0)$, $C_{b,s2}(0)$, $C_{0,s1}$ e $C_{0,s2}$) e a massa de biocatalisador (m_c) como variáveis

independentes. Na Tabela 17, são apresentadas as condições ótimas de operação das diferentes configurações de reatores heterogêneos obtidas no procedimento de otimização das funções de único objetivo.

Tabela 17 – Condições ótimas de operação e variáveis-resposta obtidas na otimização das funções de único objetivo dos reatores heterogêneos na síntese enzimática de butanoato de etila operando em batelada (BR), batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR) (continua)

Função objetivo: produtividade de butanoato de etila (P_p)	Variável de processo	BR	Fs1-FBR	Fs2-FBR
	$C_{b,s1}(0)$ (M)	2,50	2,00	2,50
	$C_{b,s2}(0)$ (M)	2,49	2,50	2,27
	$C_{0,s1}(0)$ (M)	-	0,98	-
	$C_{0,s2}(0)$ (M)	-	-	0,53
	m_{cat} (mg)	62,61	41,38	49,54
	E (%)	2,84	4,70	4,50
	Variável-resposta	BR	Fs1-FBR	Fs2-FBR
	P_p (g/h)	1,44	0,72	0,72
	$C_{b,p}$ (M)	2,47	1,24	1,24
P_c (kg _p /kg _c .h)	22,95	17,48	14,58	
Função objetivo: concentração final de butanoato de etila ($C_{b,p}$)	Variável de processo	BR	Fs1-FBR	Fs2-FBR
	$C_{b,s1}(0)$ (M)	2,50	2,00	2,50
	$C_{b,s2}(0)$ (M)	2,49	2,50	2,27
	$C_{0,s1}(0)$ (M)	-	0,98	-
	$C_{0,s2}(0)$ (M)	-	-	0,53
	m_{cat} (mg)	62,61	41,38	49,54
	E (%)	2,84	4,70	4,50
	Variável-resposta	BR	Fs1-FBR	Fs2-FBR
	P_p (g/h)	1,44	0,72	0,72
	$C_{b,p}$ (M)	2,47	1,24	1,24
P_c (kg _p /kg _c .h)	22,95	17,48	14,58	
Função objetivo: produtividade do biocatalisador (P_c)	Variável de processo	BR	Fs1-FBR	Fs2-FBR
	$C_{b,s1}(0)$ (M)	2,50	2,49	2,50
	$C_{b,s2}(0)$ (M)	1,73	2,48	1,49

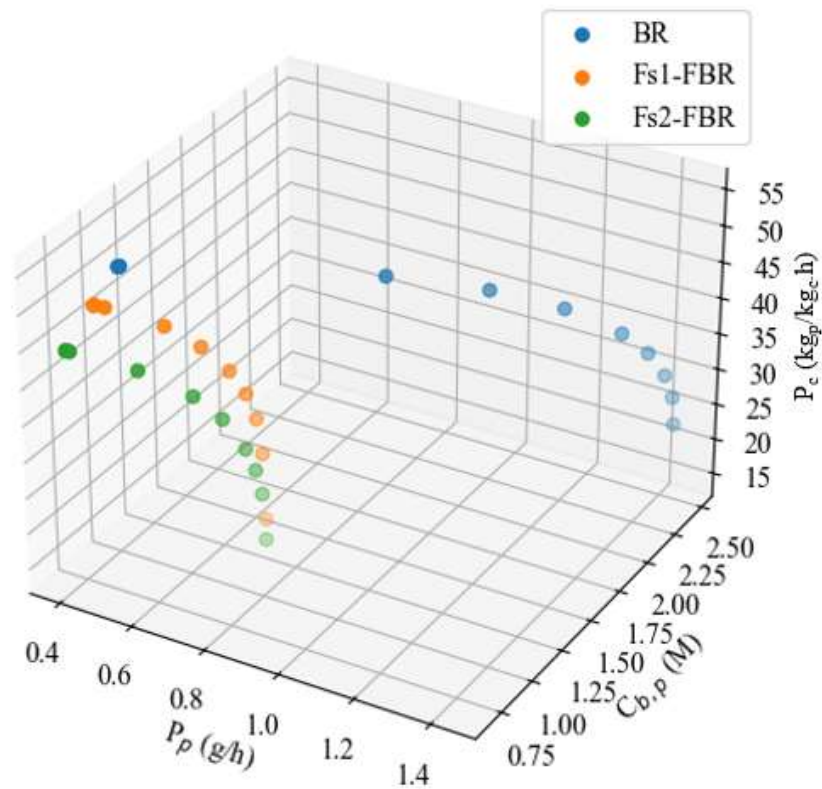
Tabela 17 – Condições ótimas de operação e variáveis-resposta obtidas na otimização das funções de único objetivo dos reatores heterogêneos na síntese enzimática de butanoato de etila operando em batelada (BR), batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR) (conclusão)

Função objetivo: produtividade do biocatalisador (P_c)	Variável de processo	BR	Fs1-FBR	Fs2-FBR
	$C_{0,s1}(0)$ (M)	-	2,48	-
	$C_{0,s2}(0)$ (M)	-	-	0,76
	m_{cat} (mg)	8,85	8,82	8,82
	E (%)	0,40	0,80	0,80
	Variável-resposta	BR	Fs1-FBR	Fs2-FBR
	P_p (g/h)	0,49	0,44	0,39
	$C_{b,p}$ (M)	0,84	0,76	0,67
	P_c (kg _p /kg _c .h)	54,84	50,15	44,62

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os resultados indicaram a existência de uma relação diretamente proporcional entre a produtividade de butanoato de etila e a concentração final do éster, diferentemente da produtividade do biocatalisador, demonstrando-se inversamente proporcional aos demais objetivos de otimização. Os valores máximos obtidos na operação dos reatores BR, Fs1-FBR e Fs2-FBR foram de 1,44, 0,72 e 0,72 g/h para a produtividade de butanoato de etila, 2,47, 1,24 e 1,24 M para a concentração final de produto e 54,84, 50,15 e 44,62 kg_p/kg_c.h para a produtividade do biocatalisador, respectivamente. A partir disso, as frentes de Pareto foram obtidas pela otimização multiobjetivo da operação dos reatores descontínuos heterogêneos (Figura 35).

Figura 35 – Frentes de Pareto estimadas a partir da otimização multiobjetivo da operação dos reatores heterogêneos para síntese enzimática de butanoato de etila operando em batelada (BR), batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: P_p é a produtividade de butanoato de etila (g/h), $C_{b,p}$ é a concentração final de butanoato de etila (M) e P_c é a produtividade do biocatalisador (kg_p/kg_c.h).

Ao analisar a curvatura das frentes de Pareto obtidas, observa-se um comportamento similar para todas as configurações de reatores estudadas, em que o aumento da produtividade e da concentração final de butanoato de etila ocasiona a redução da produtividade do biocatalisador, indicando uma situação de *trade-off* entre essas métricas. Assim, a partir da frente de Pareto, pode-se realizar a tomada de decisão sobre o processo de forma mais assertiva, pois é possível avaliar o impacto de uma decisão que favoreça um objetivo em relação aos demais (AUDET *et al.*, 2021). Nesse sentido, a Figura 36 apresenta a análise de dispersão pareada das variáveis utilizadas como objetivos de otimização para observação da relação existente entre elas.

Figura 36 – Relações observadas entre as variáveis resposta (a) P_p x $C_{b,p}$, (b) $C_{b,p}$ x P_c e (c) P_p x P_c nas Frentes de Pareto estimadas a partir da otimização multiobjetivo da operação dos reatores batelada (BR), batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR) para síntese enzimática de butanoato de etila (continua)

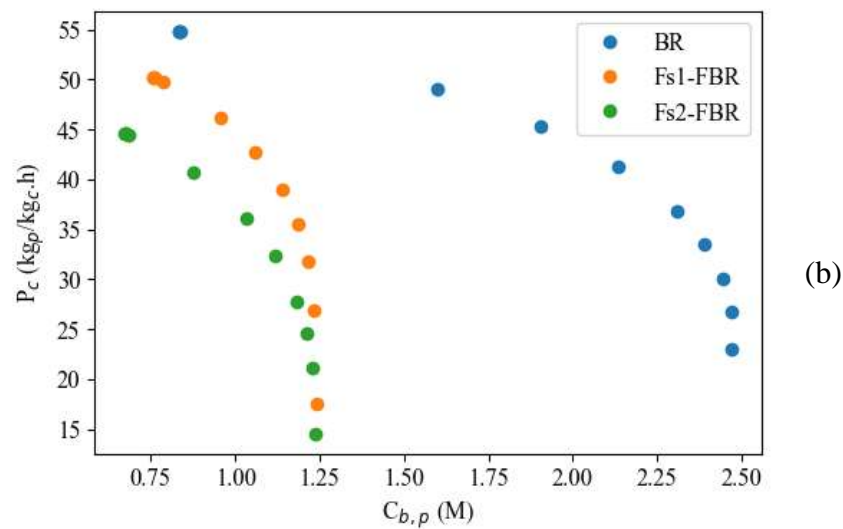
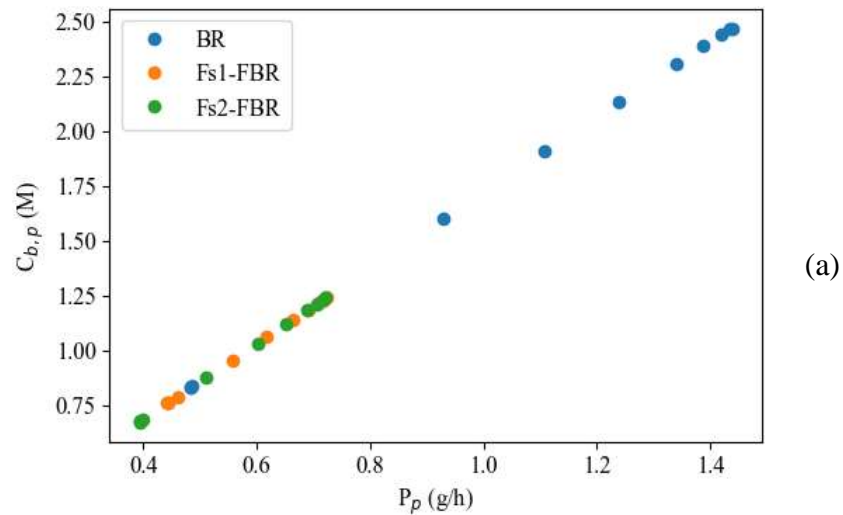
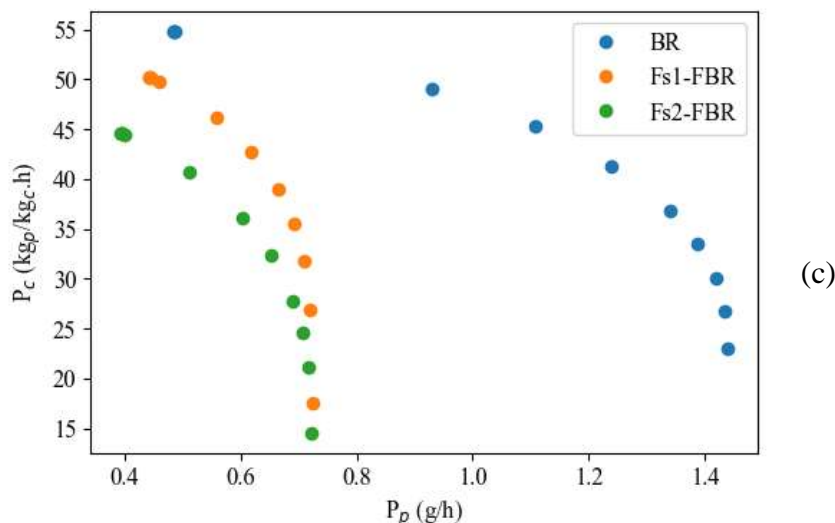


Figura 36 – Relações observadas entre as variáveis resposta (a) P_p x $C_{b,p}$, (b) $C_{b,p}$ x P_c e (c) P_p x P_c nas Frentes de Pareto estimadas a partir da otimização multiobjetivo da operação dos reatores batelada (BR), batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR) para síntese enzimática de butanoato de etila (conclusão)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: P_p é a produtividade de butanoato de etila (g/h), $C_{b,p}$ é a concentração final de butanoato de etila (M) e P_c é a produtividade do biocatalisador (kgp/kgc.h).

Como indicado pelos resultados da otimização das funções de único objetivo, há uma relação direta e linear entre a produtividade e a concentração final de butanoato de etila (Figura 36a), logo, o valor máximo da primeira é equivalente ao da segunda. O mesmo comportamento não é visto com a produtividade do biocatalisador, possuindo relação indireta e não-linear com as demais variáveis de otimização (Figura 36b e 36c). Dessa forma, não é possível obter um ponto ótimo de operação para os reatores descontínuos que apresente máxima produtividade de butanoato de etila, concentração final de produto e produtividade do biocatalisador no problema de otimização multiobjetivo modelado. Sendo assim, uma solução de compromisso entre os objetivos de otimização foi determinada para cada configuração de reator estudada a partir da relação de *trade-off* entre as variáveis de produtividade do éster e do biocatalisador.

As soluções de compromisso ideal para operação dos reatores descontínuos heterogêneos foram estimadas pelo método de *knee point* (CAMILO *et al.*, 2020), através da interseção da frente de Pareto com a reta que interliga o ponto em que os valores dos objetivos

de otimização são mínimos (ponto de Nadir) e o ponto em que são máximos (ponto de utopia). Os resultados obtidos podem ser visualizados na Figura 37.

Figura 37 – Determinação das soluções de compromisso entre as variáveis resposta P_p e P_c através do método de *knee point* para os reatores (a) batelada (BR), (b) batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e (c) batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR) para síntese enzimática de butanoato de etila (continua)

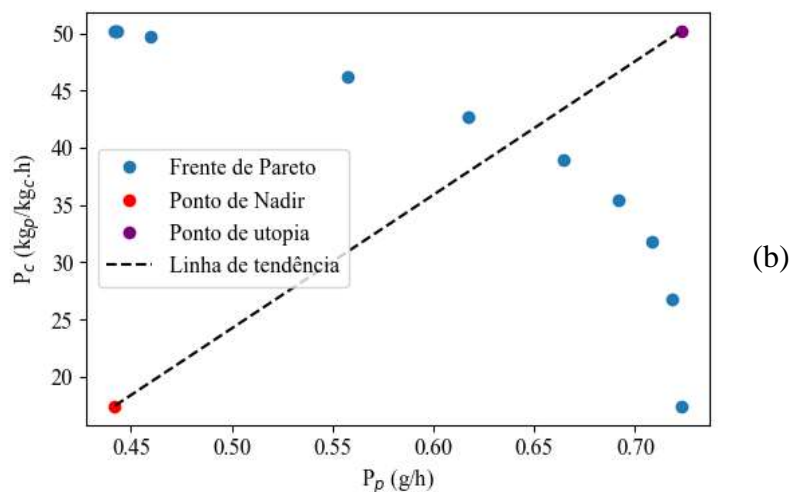
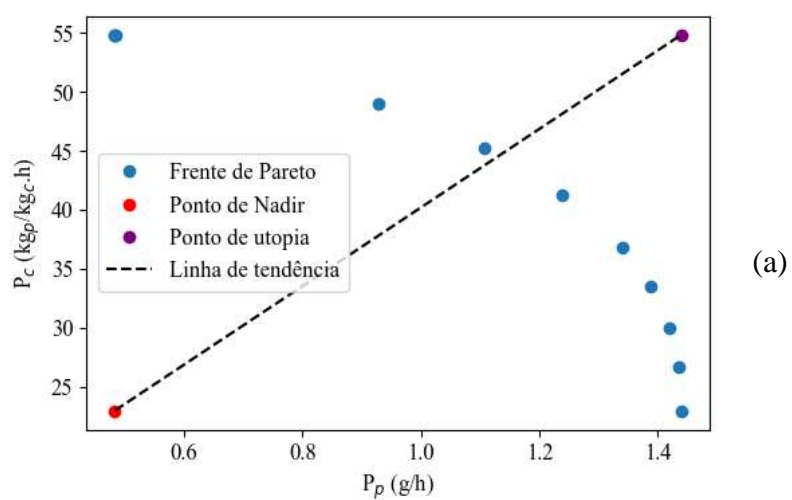
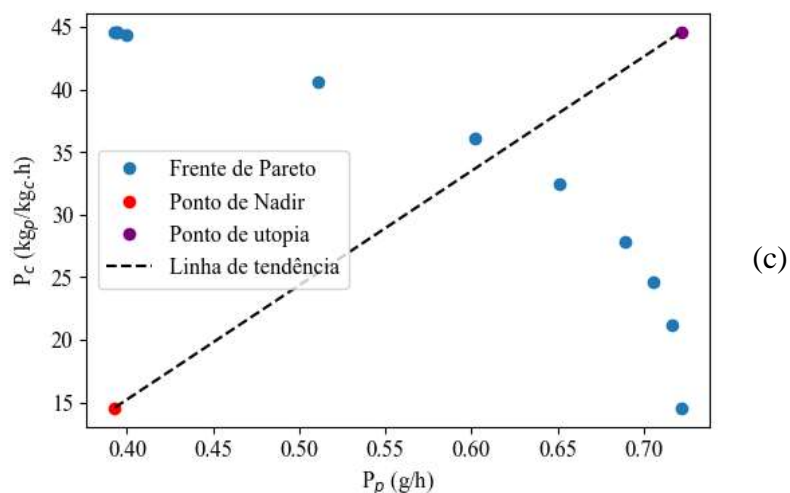


Figura 37 – Determinação das soluções de compromisso entre as variáveis resposta P_p e P_c através do método de *knee point* para os reatores (a) batelada (BR), (b) batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e (c) batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR) para síntese enzimática de butanoato de etila (conclusão)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: P_p é a produtividade de butanoato de etila (g/h) e P_c é a produtividade do biocatalisador (kgp/kgc.h).

As condições operacionais otimizadas obtidas no *knee point* de cada configuração de reator analisada, assim como os valores das variáveis-resposta de otimização e demais métricas de processo, são exibidos na Tabela 18. Com relação às condições de operação ótimas das configurações em batelada (BR), batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) ou com etanol (Fs2-FBR), foram obtidos valores de concentração inicial de ácido butírico ($C_{b,s1}(0)$) iguais a 2,49 M, estando próximos do limite de busca superior de 2,5 M definido no procedimento de otimização. A concentração inicial de etanol ($C_{b,s2}(0)$) ótima variou em relação à configuração de reator empregada. O maior valor foi observado em Fs1-FBR, equivalente a 2,49 M, em que o etanol foi condicionado como reagente limitante da reação de esterificação. Nas configurações BR e Fs2-FBR, a concentração desse reagente exibiu os valores de 2,24 M e 1,66 M, respectivamente, sendo inferiores a concentração de ácido butírico. Esses resultados indicam que o etanol exerce maior efeito inibitório sobre a atividade do biocatalisador N435 do que o ácido butírico, destacando a necessidade de operar os reatores com concentrações subinibitórias de etanol para maximizar a velocidade da reação e, conseqüentemente, a produtividade do biocatalisador (FOUKIS *et al.*, 2018; SHU *et al.*, 2011).

Tabela 18 – Condições ótimas de operação, variáveis-resposta e demais métricas de processo estimadas para as soluções de compromisso entre as variáveis resposta P_p e P_c através do método de *knee point* para os reatores heterogêneos na síntese enzimática de butanoato de etila operando em batelada (BR), batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR)

Variável de processo	BR	Fs1-FBR	Fs2-FBR
$C_{b,s1}(0)$ (M)	2,49	2,49	2,49
$C_{b,s2}(0)$ (M)	2,24	2,49	1,66
$C_{0,s1}(0)$ (M)	-	2,25	-
$C_{0,s2}(0)$ (M)	-	-	0,92
m_{cat} (mg)	25,49	15,58	18,28
E (%)	1,16	1,42	1,67
Variável-resposta	BR	Fs1-FBR	Fs2-FBR
P_p (g/h)	1,13	0,68	0,71
$C_{b,p}$ (M)	1,95	1,17	1,21
P_c (kg _p /kg _c .h)	44,41	43,83	38,71
Métrica de processo	BR	Fs1-FBR	Fs2-FBR
X (%)	87,00	97,30	98,87
n_{IDR} (%)	76,62	56,44	39,33
E_f (kg _r /kg _p)	3,10	5,66	4,74

Fonte: Elaborado pelo autor.

As concentrações iniciais de substratos ótimas determinadas foram superiores a valores obtidos em outros trabalhos que otimizaram a síntese enzimática de butanoato de etila utilizando diferentes biocatalisadores, nos quais a concentração de ácido butírico variou entre 0,055 e 0,225 M (GROSSO; FERREIRA-DIAS; PIRES-CABRAL, 2013; GUILLEN; BENAGES; VARELO, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2018). Isso ressalta a estabilidade do biocatalisador comercial N435 frente a altas concentrações de substrato, o que pode minimizar restrições difusionais pela promoção de maiores gradientes de concentração entre fases, aumentando assim a produtividade do éster fabricado e a concentração final do produto, além de contribuir para o aumento de escala do bioprocessamento.

A configuração BR obteve a maior massa de biocatalisador N435 (25,49 mg) no ponto ótimo de operação, enquanto as configurações em semibatelada, Fs1-FBR e Fs2-FBR, apresentaram os valores de 15,58 e 18,28 mg, respectivamente. No entanto, BR apresentou o menor percentual de biocatalisador em relação à massa de substrato (1,16%), sendo devido à presença de maior massa inicial de ácido butírico nesse reator em comparação com as configurações alimentadas no tempo.

Os valores estimados para o conteúdo de biocatalisador nas três configurações de reatores analisadas são bastante inferiores aos encontrados em trabalhos na literatura. Oliveira *et al.* (2018) empregaram 56,75% de biocatalisador elaborado pela imobilização de lipase de *Rhizomucor miehei* em quitosana na síntese enzimática de butanoato de etila, operando em batelada, a partir de 0,2 M de ácido butírico e etanol em meio orgânico com heptano a 25°C, obtendo conversão de 85%. Monteiro *et al.* (2019) utilizaram 14% de N435 para catalisar a esterificação enzimática de butanoato de etila a partir de 1 M de ácido butírico e etanol em reator batelada, empregando heptano como solvente na temperatura de 45°C, alcançando conversão de 97%.

Nesses trabalhos, a ausência de uma métrica apropriada, como a produtividade do biocatalisador, para avaliar a quantidade necessária de biocatalisador para síntese do éster pode causar um impacto negativo no custo da operação otimizada, podendo impossibilitar a viabilidade econômica do bioprocessos. Além disso, outros fatores, como concentração de substratos, temperatura, atividade enzimática específica e propriedades do suporte de imobilização, podem ter contribuído para uma demanda maior de biocatalisador nos trabalhos citados.

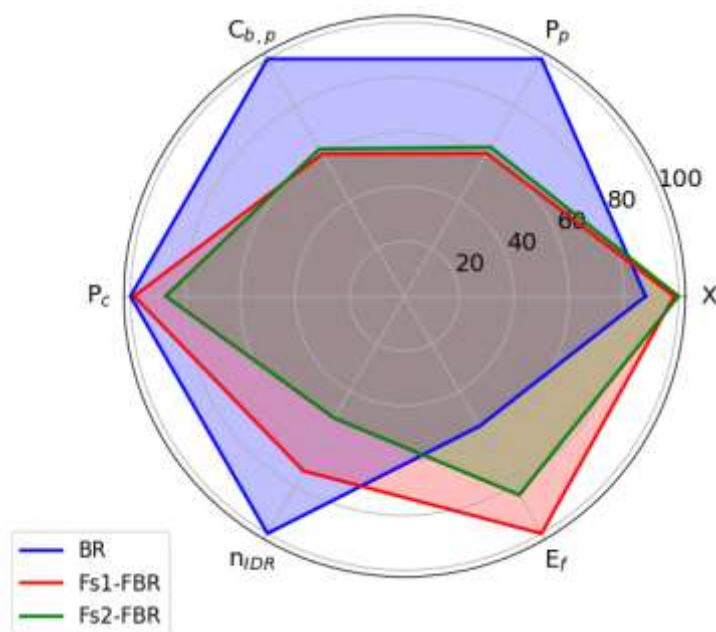
A massa de peneira molecular do tipo zeólita 3A (m_{zlt}) foi cerca de 66% maior na operação em batelada, 175,56 mg, em comparação com as operações em semibatelada, 105,87 mg para Fs1-FBR e 109,73 mg para Fs2-FBR. Esse valor superior é devido à maior formação de água em BR, sendo estimada a partir da estequiometria da reação e da concentração final de éster produzido ($C_{b,p} = 1,95$ M). O uso da peneira molecular torna-se indispensável na esterificação do butanoato de etila por proporcionar a remoção da água do sistema reacional, deslocando o equilíbrio da reação para a formação do éster, o produto de interesse, o que garante maior produtividade no processo.

Diferentes trabalhos abordaram os benefícios da aplicação de peneiras moleculares na esterificação. Meneses *et al.* (2019) realizaram a comparação da síntese enzimática de butanoato de benzila catalisada por N435 com e sem a presença de peneiras moleculares, também respeitando a capacidade de adsorção de 200 mg de água por grama de peneira

molecular (20%_{m/m}). Em seu trabalho, observou-se o aumento na conversão do éster de 50 para 65%, aproximadamente, através da utilização da zeólita 4A. Na síntese de hexanoato de etila, Mulay e Rathod (2022) obtiveram um aumento na conversão da reação catalisada por Amberlyst-15, um catalisador heterogêneo de natureza química, de 45 para 80%, aproximadamente, a partir do emprego de zeólita 4A no meio reacional.

A análise da performance das diferentes configurações de reatores para síntese enzimática de butanoato de etila foi realizada através das variáveis resposta de otimização, produtividade de butanoato de etila, concentração final de éster e produtividade do biocatalisador. As variáveis resposta conversão, fator de efetividade médio temporal e fator ambiental, estimadas no ponto ótimo de cada operação, também foram levadas em consideração. A Figura 38 compara de forma gráfica a performance dos reatores heterogêneos. Para dispor as diferentes métricas em uma mesma escala, foi realizada a normalização dos valores das variáveis resposta apresentados na Tabela 18 em relação ao maior valor obtido para cada métrica entre as configurações dos reatores.

Figura 38 – Comparativo entre a performance dos reatores heterogêneos na síntese enzimática de butanoato de etila operando em batelada (BR), batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR)



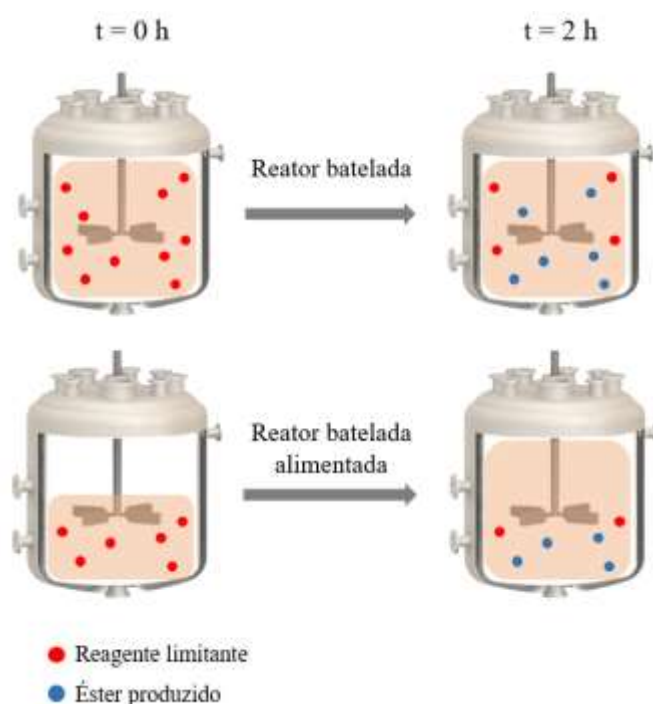
Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: X é a conversão (%), P_p é a produtividade de butanoato de etila (g/h), $C_{b,p}$ é a concentração final de butanoato de etila (M), P_c é a produtividade do biocatalisador (kg_p/kg_c.h), n_{IDR} é o fator de efetividade médio temporal (%) e E_f é o fator ambiental (kg_r/kg_p).

A partir da Figura 38, observa-se que a conversão de BR foi inferior à das configurações Fs1-FBR e Fs2-FBR, diferindo em aproximadamente 10%. Apesar disso, as configurações em batelada alimentada alcançaram apenas cerca de 60% dos valores de produtividade e concentração de butanoato de etila obtidos na operação em batelada (BR). Isso pode ter ocorrido principalmente devido à quantidade inicial de substratos disponível nos reatores. Visto que BR possui o dobro do volume na condição inicial das configurações Fs1-FBR e Fs2-FBR, os quais têm seu volume acrescido conforme há alimentação, a uma concentração inicial do reagente limitante bastante próxima, 2,24 M no reator batelada e 2,49 M nos demais, o número de mols disponíveis no primeiro é superior. Dessa forma, mesmo tendo uma conversão inferior, BR foi capaz de produzir maior massa de butanoato de etila ao final do processo, enquanto Fs1-FBR e Fs2-FBR produzem uma quantidade inferior e têm seu volume

duplicado ao final do tempo de reação, o que explica os valores de produtividade e concentração final do éster inferiores obtidos, conforme esquematizado na Figura 39.

Figura 39 – Representação da diferença observada entre as configurações de reatores na massa de éster produzida ao final do tempo (t) da reação de esterificação do butanoato de etila por Novozym 435 (N435)



Fonte: Adaptado de Greatwall (2024).

Apesar dessa diferença na magnitude de éster produzido entre as configurações dos reatores, as operações ótimas apresentaram valores de produtividade do biocatalisador bastante próximos, tendo BR alcançado o maior valor, 44,41 $\text{kg}_p/\text{kg}_c\cdot\text{h}$, seguido de Fs1-FBR, 43,83 $\text{kg}_p/\text{kg}_c\cdot\text{h}$, e Fs2-FBR, 38,71 $\text{kg}_p/\text{kg}_c\cdot\text{h}$. Isso decorre da diferença observada entre as massas de biocatalisador N435 estimadas na operação otimizada dos reatores, em que as configurações em batelada alimentada empregaram aproximadamente 66% da carga utilizada no reator batelada.

Com relação à utilização eficiente do biocatalisador N435 frente a limitações difusionais, a configuração em batelada (BR) demonstrou-se mais eficiente que as demais, obtendo o valor de 76,62% para o fator de efetividade médio temporal, enquanto Fs1-FBR e Fs2-FBR obtiveram cerca de 70 e 50% desse valor, respectivamente. Esse resultado pode ser

devido à promoção de maiores gradientes de concentração de substratos entre fases durante o período de reação em BR, intensificando a difusão das substâncias na matriz sólida do biocatalisador e garantindo maior quantidade de reagentes em contato com o sítio ativo das enzimas lipases.

O impacto ambiental atrelado à geração de resíduos no processo de síntese enzimática de butanoato de etila foi avaliado através do fator ambiental (E_f). Analisando os resultados obtidos para cada configuração do reator heterogêneo estudada, é possível observar que a operação em batelada (BR) apresenta o menor fator ambiental, portanto, a menor geração de resíduos por quantidade de produto fabricada, 3,10 kg_r/kg_p. Isso se deve principalmente por essa configuração de reator ter apresentado a maior concentração final de butanoato de etila. Enquanto as configurações em batelada alimentada (Fs1-FBR e Fs2-FBR) utilizaram praticamente a mesma quantidade de solvente hexano, em torno de 10 mL, a quantidade de produto obtida ao final de suas operações foi inferior, resultando em uma maior razão mássica de resíduos por produto.

Diante do exposto, a operação otimizada do reator em batelada (BR) para síntese enzimática de butanoato de etila catalisada por N435 demonstrou ser superior em comparação com as configurações em batelada alimentada (Fs1-FBR e Fs2-FBR). A configuração BR promoveu a melhor relação entre a obtenção de alta produtividade de éster e o uso mais adequado e eficiente do biocatalisador, podendo possibilitar a maximização de lucros na cadeia de produção, além de minimizar a geração de resíduos inerente à atividade industrial. No entanto, ao analisar de maneira mais aprofundada a operação otimizada dos reatores em batelada alimentada, ainda podem ser observadas oportunidades de melhoria.

Desse modo, na Figura 40, são apresentados os perfis de concentração das substâncias envolvidas na síntese enzimática de butanoato de etila nas condições operacionais ótimas para as diferentes configurações de reatores. É possível observar que a taxa de formação do produto decresce rapidamente após o período de 1 h nas configurações Fs1-FBR e Fs2-FBR, respectivamente, enquanto em BR a curva do produto mantém um comportamento linear durante todo o período de reação, 2h. No restante do tempo de operação, dá-se continuidade à alimentação dos reatores em semibatelada até que alcancem o volume final definido, resultando em um período ocioso no processo, em que não há geração significativa do éster desejado.

Figura 40 – Perfis de concentração na fase *bulk* ($C_{b,x}$) das substâncias envolvidas na síntese enzimática de butanoato de etila no tempo (t) estimados nas condições ótimas de operação dos reatores heterogêneos operando em (a) batelada (BR), (b) batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e (c) batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR) (continua)

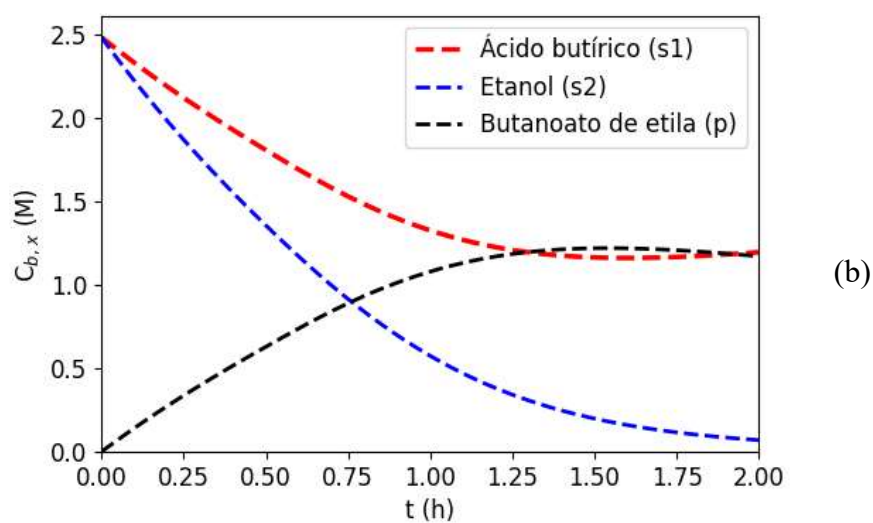
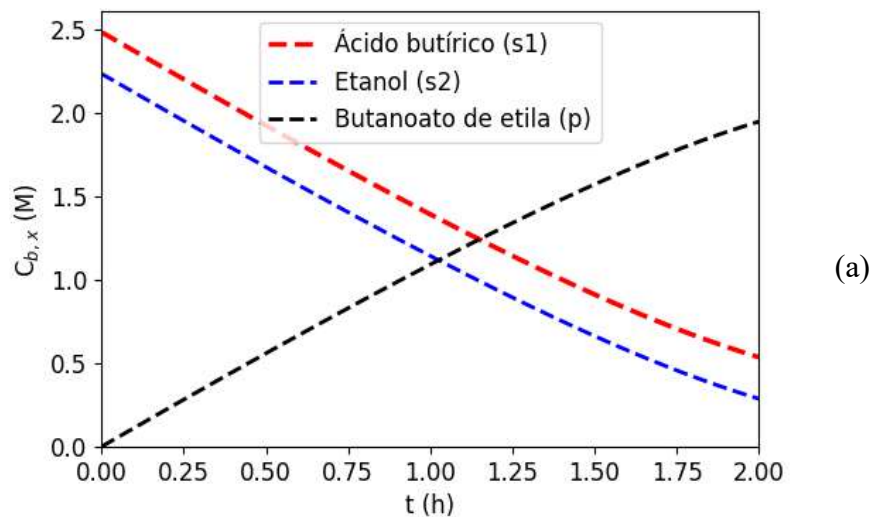
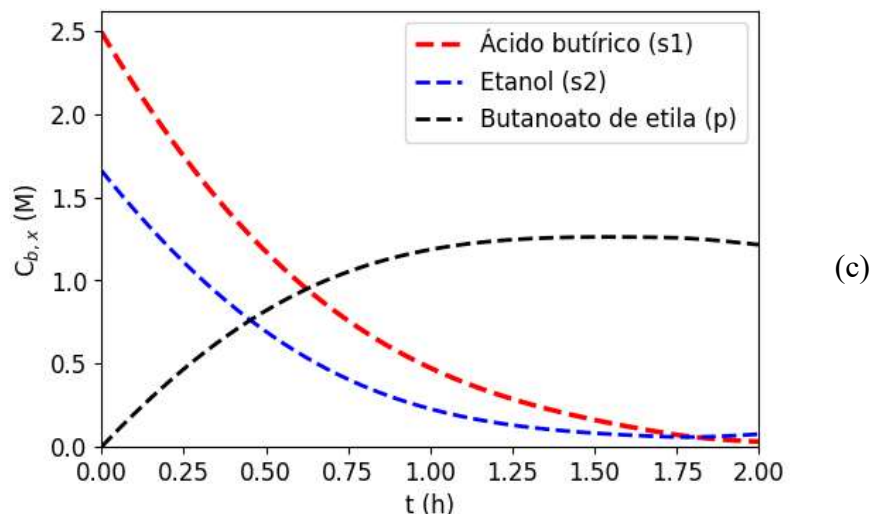


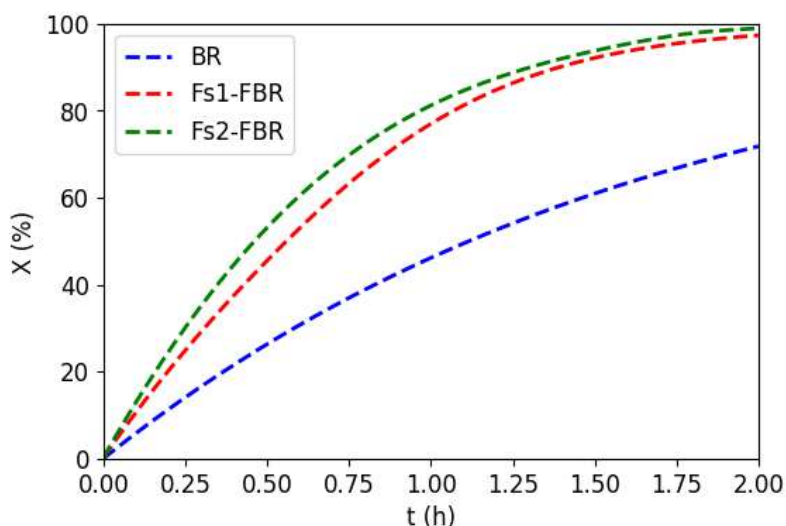
Figura 40 – Perfis de concentração na fase *bulk* ($C_{b,x}$) das substâncias envolvidas na síntese enzimática de butanoato de etila no tempo (t) estimados nas condições ótimas de operação dos reatores heterogêneos operando em (a) batelada (BR), (b) batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e (c) batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR) (conclusão)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Esse decréscimo na formação do produto em Fs1-FBR e Fs2-FBR se dá devido à conversão quase completa dos reagentes limitantes em menor tempo que em BR (Figura 41), ocasionando a redução da velocidade da reação. A diferença observada na taxa de conversão dos reatores descontínuos pode estar relacionada com a intensificação da atividade do biocatalisador, oriunda da adição progressiva dos substratos no meio reacional, tendo em vista que estes promovem efeitos inibitórios na reação de esterificação catalisada pela N435 (JUNG *et al.*, 2017).

Figura 41 – Perfis de conversão dos reatores descontínuos heterogêneos operando nas condições ótimas em batelada (BR), batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR) na síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)

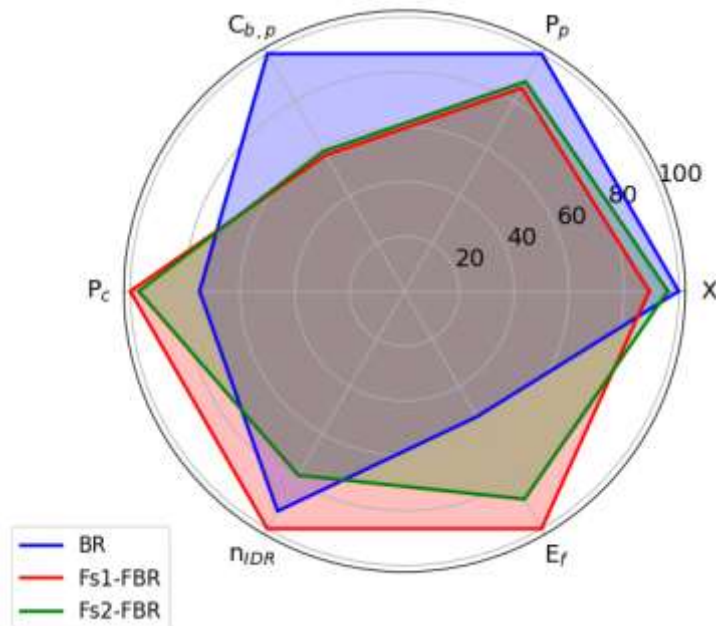


Fonte: Elaborado pelo autor.

Nesse sentido, as métricas de performance da operação ótima dos reatores semibatelada foram recalculadas considerando o período de reação de 1h. Os resultados foram novamente comparados à operação ótima do reator batelada, sendo apresentados na Figura 42. Com isso, devido ao menor tempo de reação, foi observado um aumento tanto na produtividade de butanoato de etila como na do biocatalisador em Fs1-FBR e Fs2-FBR. A produtividade do biocatalisador na operação de BR, 44,41 $\text{kg}_p/\text{kg}_c.\text{h}$, foi inclusive superada pelos valores obtidos em Fs1-FBR e Fs2-FBR, iguais a 60,48 e 56,57 $\text{kg}_p/\text{kg}_c.\text{h}$, respectivamente. Isso poderia representar uma economia na utilização dos biocatalisadores, promovendo redução do custo operacional do processo. Ademais, com a redução do período de reação e, conseqüentemente, de alimentação, o volume final dos reatores semibatelada seria cerca de 25% menor que BR, implicando em um custo de projeto inferior para esses reatores.

Figura 42 – Comparativo da performance do reator operando em batelada (BR) com a condição de 1h de

reação dos reatores batelada alimentada com ácido butírico (Fs1-FBR) e batelada alimentada com etanol (Fs2-FBR) na síntese enzimática de butanoato de etila



Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: X é a conversão (%), P_p é a produtividade de butanoato de etila (g/h), $C_{b,p}$ é a concentração final de butanoato de etila (M), P_c é a produtividade do biocatalisador (kg_p/kg_c.h), n_{IDR} é o fator de efetividade médio temporal (%) e E_f é o fator ambiental (kg_r/kg_p).

Apesar disso, a concentração final de butanoato de etila ainda se manteve superior em BR (1,95 M), sendo praticamente o dobro do observado em Fs1-FBR (1,17 M) e Fs2-FBR (1,21 M). Como discutido no item 6.4, a obtenção da máxima concentração de produto ao final de processos biotecnológicos é visada por facilitar o seu aumento de escala, pois favorece as etapas subsequentes de *downstream*, estando relacionadas com até 50% do custo de produção de substâncias químicas (ZHANG *et al.*, 2023). Ademais, o fator ambiental apresentou acréscimo nas operações em batelada alimentada, cerca de 11%, implicando em maior geração de resíduos por quilo de produto fabricado, enquanto BR apresentou aproximadamente metade da taxa de geração de resíduos das configurações em semibatelada. Desse modo, buscando visualizar o processo de fabricação do butanoato de etila por rota enzimática de forma ampliada e priorizando o quesito de sustentabilidade, a condição ótima do reator heterogêneo operando em batelada foi selecionada para dar continuidade à pesquisa.

A performance do reator heterogêneo operando em batelada (BR) ainda foi comparada com resultados de trabalhos na literatura que também avaliaram condições ótimas

para a síntese enzimática de butanoato de etila em reatores batelada. A maioria dos trabalhos empregaram biocatalisadores em sistemas contendo solventes orgânicos. A principal variável resposta avaliada em suas pesquisas foi a conversão.

Grosso, Ferreira-Dias e Pires-Cabral (2013) obtiveram a seguinte condição operacional otimizada para síntese enzimática de butanoato de etila, utilizando lipases de *Rhizopus oryzae* imobilizadas em espumas de poliuretano em meio reacional composto por hexano como solvente: 12%_{m/v} de biocatalisador, 0,225 M de ácido butírico e 0,369 M de etanol, a 32°C. O volume e o tempo de reação do seu sistema foram iguais a 14 mL e 48h, respectivamente. Nessa condição, os autores obtiveram concentração final de éster de 0,106 M.

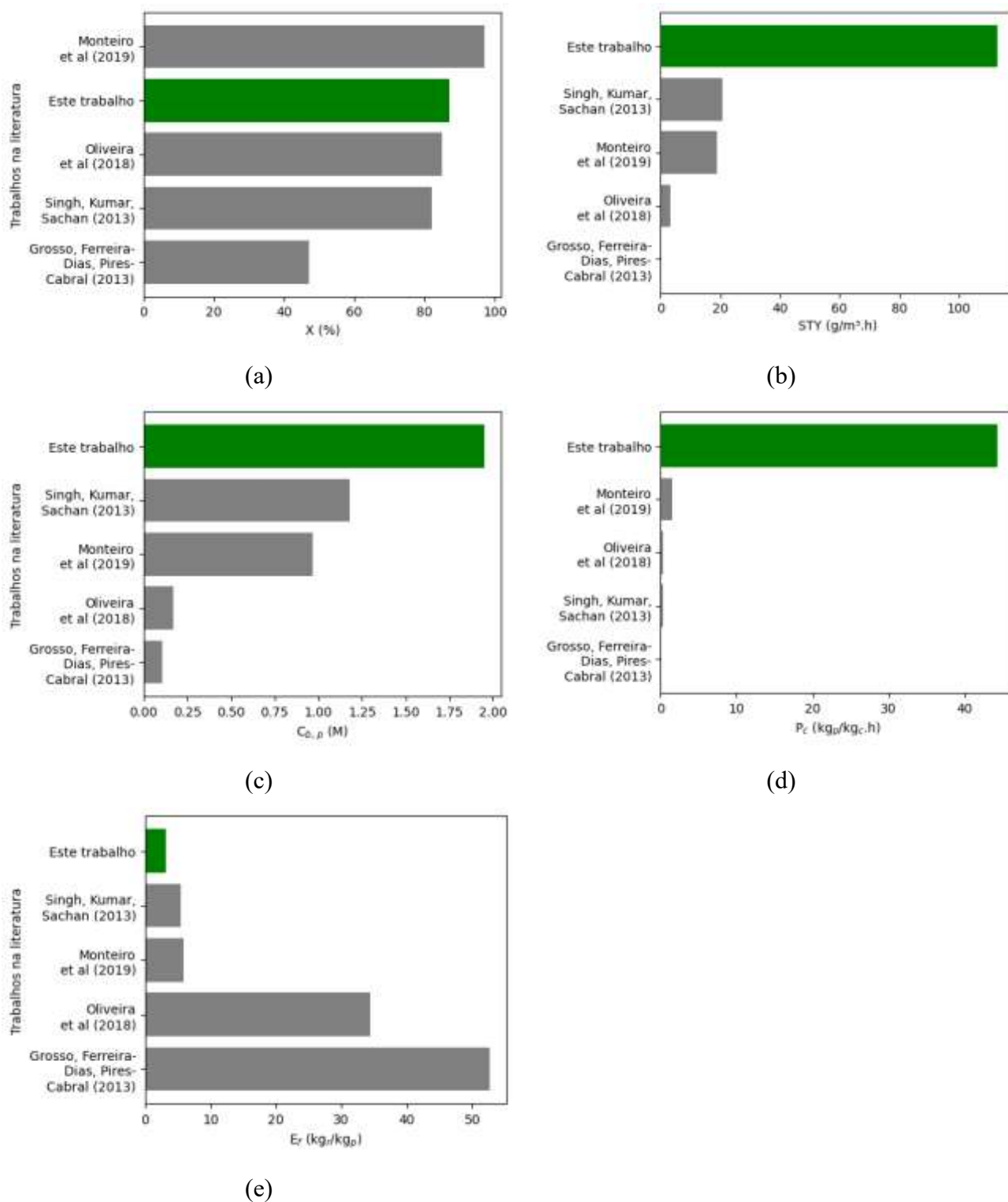
Singh, Kumar e Sachan (2013) atingiram 82% de conversão em reator batelada de 150 mL, utilizando 1,44 M de ácido butírico e etanol em excesso (1:10), sem presença de solvente. Amberlyst-15 foi o catalisador heterogêneo de natureza química aplicado no estudo, a uma concentração de 73,2 kg/m³, na temperatura de 75°C, durante aproximadamente 6,67 h de reação.

Oliveira *et al.* (2018) alcançaram 85% de conversão na operação ótima em batelada para síntese enzimática de butanoato de etila, utilizando concentração de substratos igual a 0,2 M e 200 mg de biocatalisador preparado a partir de lipases de *Rhizomucor miehei* imobilizadas em quitosana, em meio reacional de 20 mL, empregando heptano como solvente orgânico, a 25 °C, durante 6 h de reação.

Monteiro *et al.* (2019), ao avaliar a síntese enzimática de butanoato de etila catalisada por lipases A e B de *Candida antarctica* imobilizadas em nanopartículas magnéticas, realizaram um comparativo da performance de N435 na reação de esterificação. Para o sistema com N435, operando em bateladas com volume de 1 mL, foram empregadas concentrações de 1 M para os substratos, 12,5 mg de N435, em meio constituído por heptano como solvente, na temperatura de 45°C e com tempo de reação de 6 h. Nessas condições, os autores obtiveram conversão de 97%.

A partir dos dados disponibilizados nos trabalhos levantados, as variáveis resposta utilizadas neste estudo, conversão, produtividade de butanoato de etila, concentração final de éster, produtividade do biocatalisador e fator ambiental, foram estimadas. Para comparar de forma mais apropriada a obtenção de butanoato de etila nos diferentes volumes de reatores utilizados nos trabalhos, utilizou-se o rendimento espaço-temporal (*STY*), que relaciona a massa de produto obtida com o volume e o tempo de reação. Os valores obtidos podem ser visualizados na Figura 43.

Figura 43 – Comparativo da performance otimizada do reator batelada heterogêneo (BR) com outros trabalhos na literatura para síntese enzimática de butanoato de etila



Fonte: Elaborado pelo autor.

Dessa forma, a performance da operação otimizada de BR mostrou-se superior em relação às demais levantadas na literatura, com exceção da conversão, sendo inferior em 10 %

quando comparada com a obtida por Monteiro *et al.* (2019), que também empregou N435 na síntese enzimática de butanoato de etila. Apesar disso, BR alcançou o maior rendimento espaço-temporal, 113 kg/m³.h, o que pode representar maior rentabilidade para o processo. Ademais, a concentração final do éster foi praticamente o dobro do valor atingido por Singh, Kumar e Sachan (2013), utilizando Amberlyst-15 como catalisador químico. Esse resultado, atrelado à especificidade dos biocatalisadores enzimáticos, pode promover ganhos significativos nas etapas de *downstream* do processo, além de facilitar a ampliação de escala da operação.

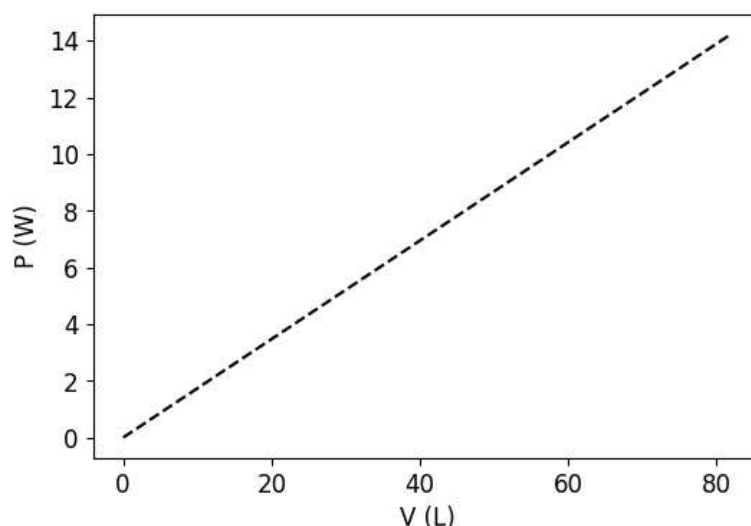
Além disso, BR apresentou produtividade do biocatalisador bastante superior, ressaltando a importância da utilização dessa métrica na otimização de processos enzimáticos. Assim, a mesma produtividade de butanoato de etila pode ser alcançada requerendo menor carga de biocatalisador, o que pode reduzir o custo operacional do processo. Por fim, o fator ambiental estimado em BR foi o menor dentre os trabalhos analisados, mesmo empregando hexano como solvente orgânico, promovendo a menor taxa de geração de resíduos por quilo de butanoato de etila fabricado. Nesse contexto, a condição ótima de operação do reator batelada heterogêneo (BR) apresenta capacidade para ampliação de escala.

6.6 Aumento de escala do processo

Para realização do aumento de escala do reator batelada heterogêneo para síntese enzimática de butanoato de etila por N435, determinou-se inicialmente a velocidade de agitação em sistema com volume de 10 mL, no qual foi realizada a otimização da performance do reator. A velocidade de agitação para essa escala inicial de volume foi equivalente a 68,12 s⁻¹, satisfazendo os critérios de ser superior à velocidade de mínima suspensão completa ($N_{js} = 30,96 \text{ s}^{-1}$) e garantir o regime de escoamento turbulento ($N_{RE} = 10174,65$). Dessa forma, o aumento de escala foi realizado, levando em consideração os valores otimizados das variáveis de processo na configuração em batelada.

Ao alcançar o volume de trabalho em escala piloto de 82 L, a velocidade de agitação do impelidor foi equivalente a 9,20 s⁻¹ e a potência requerida foi igual a 14,23 W. O comportamento da potência em relação ao aumento de escala do bioprocessamento pode ser visualizado na Figura 44. A relação entre potência por volume foi mantida constante e apresentou o valor de 173,70 W/m³, o que classifica o nível de agitação empregado, segundo Tadini *et al.* (2019), como suave (80 – 230 W/m³). Esse consumo de energia por unidade volumétrica de tanque se aproxima de valores típicos em processos de suspensão de sólidos leves, cerca de 200 W/m³ (HARBONY; EDWARDS; NIENOW, 1992).

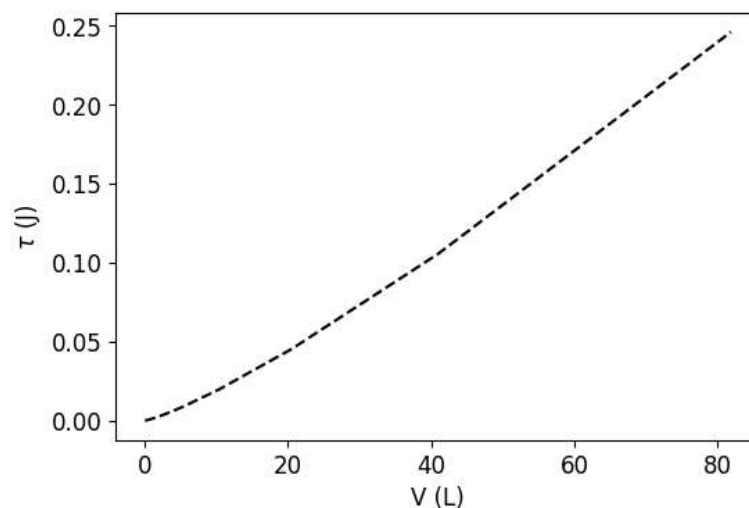
Figura 44 – Comportamento da potência (P) do impelidor lightning A310 em função do aumento de escala do volume (V) do reator batelada heterogêneo para síntese enzimática de butanoato de etila catalisada por N435



Fonte: Elaborado pelo autor.

Além da potência, o torque do impelidor também foi monitorado durante o aumento de escala do bioprocessamento, obtendo o valor de 0,25 J para o volume de reator de 82 L (Figura 45). Essa variável é bastante relevante para o dimensionamento do eixo árvore do tanque agitado, implicando diretamente no custo de fabricação do equipamento (JOAQUIM JUNIOR *et al.*, 2007). O aumento da velocidade de agitação é capaz de promover uma maior qualidade na suspensão das partículas, no entanto, a operação do tanque em um nível de agitação excessivo pode levar ao aumento da carga do motor elétrico e, conseqüentemente, do torque do impelidor (GU *et al.*, 2017). Assim, faz-se importante conhecer o torque necessário para alcançar a performance adequada do bioprocessamento, de modo a evitar custos adicionais desnecessários que podem comprometer a viabilidade econômica do processo proposto.

Figura 45 – Comportamento do torque (T_q) do impelidor lightning A310 em função do aumento de escala do volume (V) do reator batelada heterogêneo para síntese enzimática de butanoato de etila catalisada por N435

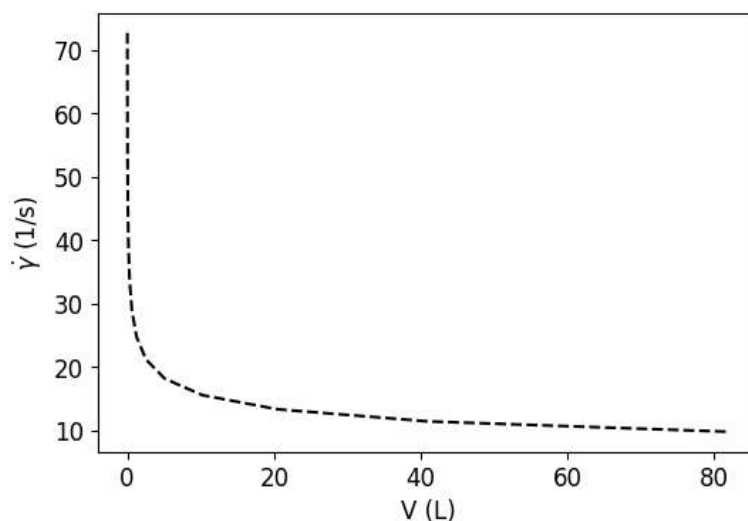


Fonte: Elaborado pelo autor.

A taxa de cisalhamento oferecida ao sistema reacional através da agitação mecânica, como discutido no item 6.2, é um parâmetro sensível no dimensionamento de processos biocatalíticos. O cisalhamento pode danificar o material de suporte das enzimas imobilizadas, promovendo o desprendimento e a liberação de lipases, o que conseqüentemente ocasiona a perda de atividade dos biocatalisadores heterogêneos (HARTMANN; JUNG, 2010). Nesse contexto, o sucesso do aumento de escala de um bioprocessamento requer o entendimento das interações entre o biocatalisador e as condições físicas e químicas as quais este será submetido no reator (TUFVESSON *et al.*, 2010).

Assim, na Figura 46, é apresentado o comportamento da taxa de cisalhamento estimada em relação ao aumento de escala do reator batelada heterogêneo. Observa-se uma drástica redução no valor da taxa de cisalhamento do volume inicial de 10 mL até o volume aproximado de 5 L. A partir desse valor, a taxa de cisalhamento continua decrescendo até atingir o valor mínimo de $9,82 \text{ s}^{-1}$ no volume de 82 L, porém a uma taxa bastante inferior. A redução observada na taxa de cisalhamento é decorrente da diminuição da velocidade de agitação do impelidor. À medida em que o diâmetro do impelidor aumenta, a velocidade de agitação assim como a velocidade da ponta do impelidor reduzem para manutenção da relação de potência por volume constante.

Figura 46 – Comportamento da taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) do impelidor lightning A310 em função do aumento de escala do volume (V) do reator batelada heterogêneo para síntese enzimática de butanoato de etila catalisada por N435



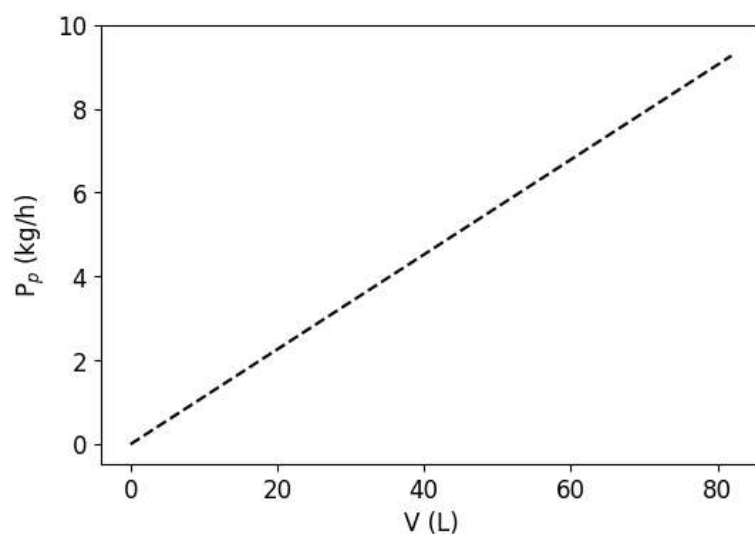
Fonte: Elaborado pelo autor.

Para manter a estabilidade operacional do biocatalisador, ou seja, sua atividade por diversos ciclos de produção, os bioprocessos requerem baixos níveis de cisalhamento. Em seu trabalho, Keng *et al.* (2008) investigaram o aumento de escala da síntese de ésteres de palma catalisada por lipases imobilizadas (Lipozyme RM IM) utilizando diferentes geometrias de impelidor, um de fluxo radial (turbina de Rushton) e dois de fluxo axial (orelha de elefante e *AL-hydrofoil*), além de variarem a velocidade de agitação de 50 a 450 RPM. Nesse estudo, observou-se a degradação da estrutura dos biocatalisadores entre 350 e 450 RPM, o que ocasionou a redução de sua atividade pela diminuição da quantidade de enzimas por unidade de área da matriz do suporte de imobilização. Essa redução foi mais significativa com o emprego da turbina de Rushton, visto que o fluxo radial promove uma maior colisão das partículas de biocatalisador com as paredes do tanque, enquanto os impelidores de fluxo axial proporcionam uma corrente de fluxo vertical, favorecendo a mistura do meio reacional.

Dessa maneira, em sistemas agitados, a escolha do impelidor, além da velocidade de agitação, deve ser direcionada para empregar o menor cisalhamento possível, sem comprometer a homogeneidade e a qualidade da suspensão das partículas de biocatalisadores e peneiras moleculares no meio reacional. Nesse sentido, a utilização de impelidores do tipo *hydrofoil*, como o empregado nesse trabalho (lightning A310), pode oferecer um melhor equilíbrio entre cisalhamento e eficiência de mistura (GRENVILLE *et al.*, 2017).

Além de parâmetros associados ao sistema de agitação do reator batelada heterogêneo, a produtividade de butanoato de etila (Figura 47) também foi acompanhada durante o aumento de escala, tendo em vista sua relação direta com o retorno econômico do bioprocessamento. Para o volume de 82 L, a produtividade do éster estimada na condição de operação otimizada do reator foi equivalente a 9,26 kg/h. É necessário acrescentar que esse valor pode sofrer reduções durante a mudança de escala da operação na planta real, podendo ser oriundas tanto da desativação dos biocatalisadores heterogêneos, através do estresse mecânico ou térmico, como pela alteração na escala dos fenômenos relacionados a transferência de massa, turbulência e mistura.

Figura 47 – Comportamento da produtividade do éster (P_p) em função do aumento de escala do volume (V) do reator batelada heterogêneo para síntese enzimática de butanoato de etila catalisada por N435



Fonte: Elaborado pelo autor.

Apesar disso, trabalhos na literatura desempenharam o aumento de escala de reações de esterificação sem observar diferenças significativas na performance do processo. Cordeiro *et al.* (2020) realizaram a otimização e o aumento de escala de sistema empregado para síntese do éster oleato de etilenoglicol catalisada por lipases imobilizadas em meio livre de solvente. Em seu estudo, o volume de trabalho do reator aumentou de 150 para 500 mL, sendo observado o mesmo valor de conversão, igual a 90%, em 5 h de reação, para as diferentes escalas. Do mesmo modo, Keng *et al.* (2008), ao avaliarem o aumento de escala da síntese de éster de palma catalisada por Lipozyme RM IM, partindo de um volume de reator de 2 para 50

L, obtiveram o mesmo perfil de conversão em ambas as escalas, alcançando valores de até 90% em 3 h de reação.

Assim, a avaliação de parâmetros de processo em escala piloto de produção faz-se necessária para analisar a viabilidade do bioprocessamento proposto, além de estabelecer parâmetros relevantes que não podem ser estabelecidos em escala laboratorial, como velocidade de agitação, forças de cisalhamento e potência requerida (WYNN; HANCHAR; KLEFF, 2016). Nesse contexto, a utilização de simulação computacional para obtenção de dados precisos no aumento de escala da síntese de butanoato de etila catalisada por N435 mostrou-se indispensável, sendo capaz de reduzir o tempo de projeto do reator batelada heterogêneo ao passo em que exige menos recursos de projeto nas etapas iniciais da pesquisa, em comparação com abordagens experimentais.

6.7 Análise de custos com insumos na produção em escala piloto

A partir do volume de reator batelada heterogêneo de 82 L, especificado na ampliação de escala da síntese de butanoato de etila por N435, foram estimados os custos com insumos para produção de uma batelada do éster aromatizante, assim como o retorno financeiro referente à comercialização do produto. As Tabelas 19, 20 e 21 apresentam as informações obtidas com fabricantes para quantificação do custo por quilo de insumo, as quantidades de insumos necessárias para produção de uma batelada nas condições de operação ótimas estabelecidas pela solução de compromisso ideal (*knee point*), CO-kp, e pelas condições ótimas de maximização da produtividade do butanoato de etila, CO-P_p, e da produtividade do biocatalisador, CO-P_c, e, por fim, o custo total de operação para cada cenário avaliado.

Tabela 19 – Dados obtidos com fabricantes para estimativa do custo por quilo de insumos empregados na síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435)

Insumo	Ácido butírico	Etanol	Hexano	Novozym 435	Zeólita 3A
Unidade de venda (g)	920	790	660 ³	25 ⁴	5000 ⁵
Preço por unidade de venda (R\$)	404,00	45,00	174,60 ³	2.895,11 ⁴	2.949,00 ⁵
Preço por quilo (R\$/kg)	439,13	56,96	264,54	115.804,40	589,80

Fonte: ³Prolab (2024); ⁴Cymit Química (2024); ⁵Mercka (2024).

Tabela 20 – Quantidade de insumos requerida por batelada para síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435) nas condições de operação ótimas do *knee point* (CO-kp) e dos pontos de maximização da produtividade do éster (CO-P_p) e da produtividade do biocatalisador (CO-P_c)

Insumo	CO-P_p	CO-kp	CO-P_c
Ácido butírico (kg)	18,06	17,99	18,06
Etanol (kg)	9,41	8,46	6,54
Hexano (kg)	52,56	52,56	52,56
Novozym 435 (kg)	0,51	0,21	0,07
Zeólita 3A (kg)	18,47	14,53	6,21

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 21 – Estimativa de custos com insumos por batelada para síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435) nas condições de operação ótimas do *knee point* (CO-kp) e dos pontos de maximização da produtividade do éster (CO-P_p) e da produtividade do biocatalisador (CO-P_c)

Insumo	CO-P_p	CO-kp	CO-P_c
Ácido butírico (R\$)	7.931,81	7.900,08	7.931,81
Etanol (R\$)	535,80	482,00	372,26
Hexano (R\$)	13.905,40	13.905,40	13.905,40
Novozym 435 (R\$)	59.404,93	24.166,93	8.366,89
Zeólita 3A (R\$)	10.894,29	8.572,20	3.664,50
Total (R\$)	92.672,22	55.026,61	34.240,86

Fonte: Elaborado pelo autor.

Em CO-P_p e CO-kp, observou-se que o biocatalisador N435 representou o maior custo dentre os insumos, seguido do solvente hexano e da zeólita 3A, diferentemente de CO-P_c, que teve o maior gasto com o solvente, seguido do biocatalisador e do substrato ácido butírico. A condição operacional que apresentou o maior custo foi CO-P_p (R\$ 92.672,22), tendo em vista que uma maior massa de biocatalisador foi requerida para esta (0,51 kg), enquanto CO-P_c apresentou o menor custo (R\$ 34.240,86). Assim, a condição de maximização da produtividade do catalisador garantiu um menor custo com insumos por batelada de fabricação do éster, tornando-a preferível em relação às demais. No entanto, ao avaliar a quantidade de butanoato

de etila produzida por cada condição e a estimativa do retorno financeiro do processo (Tabela 22), o cenário torna-se diferente.

Tabela 22 – Quantidade produzida por batelada e retorno financeiro estimado na síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435) nas condições de operação ótimas do *knee point* (CO-kp) e dos pontos de maximização da produtividade do éster (CO-P_p) e da produtividade do biocatalisador (CO-P_c)

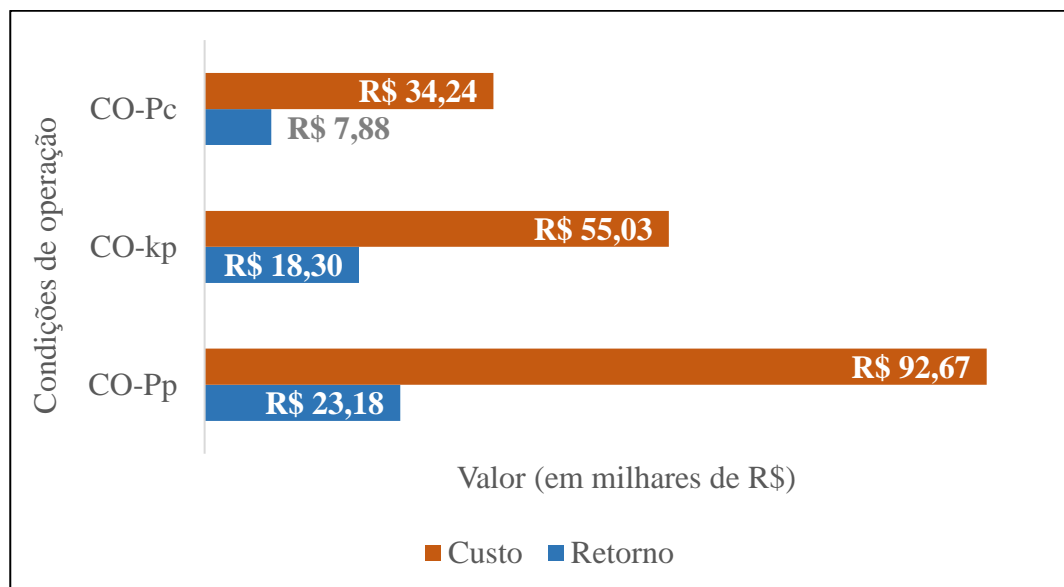
Parâmetro	CO-P _p	CO-kp	CO-P _c
Quantidade de butanoato de etila produzido (kg)	23,53	18,57	8,00
Unidade de venda (g)	437,50*	437,50*	437,50*
Preço por unidade de venda (R\$)	431,00*	431,00*	431,00*
Preço por quilo (R\$/kg)	985,14	985,14	985,14
Preço total (R\$)	23.177,43	18.297,97	7.882,20

Fonte: *Merckb (2024).

Conforme observado, CO-P_p apresentou o maior retorno financeiro por batelada (R\$ 23.177,43), visto que essa condição produziu a maior quantidade de butanoato de etila (23,53 kg). Em contrapartida, CO-P_c obteve o menor retorno na produção do éster (R\$ 7.882,20). Isso reitera o comportamento de *trade-off* entre as métricas de produtividade de butanoato de etila e do biocatalisador e a importância de aplicá-las na otimização da operação do reator batelada heterogêneo. Em comparação a isso, CO-kp, a solução de compromisso ideal, apresentou um equilíbrio entre o custo com insumos e o retorno financeiro no processo proposto, por buscar minimizar o primeiro em detrimento do segundo, como pode ser visualizado na Figura 48.

Apesar de terem sido analisadas condições otimizadas de operação do reator batelada heterogêneo, o saldo econômico da produção de uma batelada do éster butanoato de etila ainda apresentou valores negativos, iguais a - R\$ 69.494,79 para CO-P_p, - R\$ 36.728,64 para CO-kp e - R\$ 26.358,66 para CO-P_c. No entanto, ao considerar a recuperação do solvente hexano, das peneiras moleculares e, principalmente, do biocatalisador N435, utilizando-o em diversos ciclos operacionais, o processo pode apresentar viabilidade com relação aos custos com insumos (ZHAO *et al.*, 2015).

Figura 48 – Custos com insumos e retorno financeiro estimados na síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435) nas condições de operação ótimas do *knee point* (CO-kp) e dos pontos de maximização da produtividade do éster (CO-P_p) e da produtividade do biocatalisador (CO-P_c)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Nesse contexto, Monteiro *et al.* (2019) analisaram a estabilidade operacional de N435 na síntese de butanoato de etila em 10 ciclos operacionais de 6 h, totalizando 60h, na temperatura de 45°C. De acordo com os resultados obtidos, a atividade do biocatalisador se manteve estatisticamente inalterada durante toda a análise. Para o processo proposto por esse trabalho, cada ciclo possui 2h de operação, logo, levando em consideração o trabalho de Monteiro *et al.* (2019), seria possível realizar ao menos 30 ciclos de produção de butanoato de etila, podendo ser realizados mais ciclos devido à estabilidade apresentada pelo biocatalisador, além da temperatura do processo proposto, 40°C, também ser inferior à empregada no trabalho experimental citado. Dessa forma, a Figura 49 apresenta a estimativa do saldo econômico do processo para 30 ciclos operacionais nas condições ótimas estudadas.

Assim, mesmo possuindo o maior custo com insumos, ao adotar estratégias de recuperação e reutilização do biocatalisador, CO-P_p foi a condição de operação que apresentou o maior saldo ao final dos 30 ciclos operacionais, equivalente a R\$ 357.090,24, enquanto CO-kp e CO-P_c tiveram saldos iguais a R\$ 250.832,20 e - R\$ 38.592,73, respectivamente. Esse último cenário apresentou saldo negativo, mesmo reutilizando insumos de produção, devido ao retorno financeiro obtido (R\$ 7.882,20) ser inferior em comparação com o custo operacional

(R\$ 8.304,07). Desse modo, CO-P_p torna-se a opção mais promissora para alcançar a viabilidade econômica do processo de síntese enzimática de butanoato de etila por N435.

Figura 49 – Estimativa do saldo econômico da síntese enzimática de butanoato de etila por Novozym 435 (N435) em 30 ciclos operacionais nas condições de operação ótimas do *knee point* (CO-kp) e dos pontos de maximização da produtividade do éster (CO-P_p) e da produtividade do biocatalisador (CO-P_c)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Ademais, outros fatores podem maximizar o lucro da produção do éster. Através de cotações de mercado para aquisição de quantidades de insumos em lotes maiores, especialmente do biocatalisador, o custo por unidade de venda seria reduzido, diminuindo as despesas com a produção em bateladas. Além disso, dada a possibilidade de rotular o butanoato de etila fabricado como natural devido ao processo de obtenção por rota biológica, esse produto pode ser comercializado por valores superiores em relação ao cotado nesta análise (AKACHA; GARGOURI, 2015; HEATH; RUSCOE; TURNER, 2022). É importante ressaltar que análises financeiras mais complexas, envolvendo o custo de capital dos equipamentos, despesas com utilidades e mão de obra, devem ser realizadas para atestar a viabilidade econômica do processo enzimático proposto.

7 CONCLUSÃO

A modelagem, simulação e otimização da síntese enzimática de butanoato de etila, catalisada por Novozym 435, possibilitou uma análise exploratória, de maneira ágil e com baixo custo, do efeito das variáveis de processo na performance operacional de um reator descontínuo heterogêneo, elucidando relações complexas para construção de estratégias que visam alcançar a viabilidade do processo. A aplicação das métricas de produtividade de éster e do biocatalisador, foram fundamentais para a otimização do rendimento de produção, que se mostrou superior em comparação com a literatura, obtendo o valor de 9,26 kg/h de butanoato de etila em volume de fabricação piloto de 82 L. Além disso, a rota enzimática proposta e a configuração operacional em batelada proporcionaram menor geração de resíduos por quilo de éster obtido, visualizado através do fator ambiental de 3,10 kg_r/kg_p, promovendo a redução de impactos ambientais, mostrando-se promissora para implementação em escala industrial.

Através do levantamento de custos e ganhos financeiros do processo, observou-se que a manutenção da estabilidade do biocatalisador por diversos ciclos operacionais é crucial para garantir lucro à produção. Sendo assim, a determinação do número de ciclos em que a Novozym 435 se mantém eficiente frente ao estresse térmico e mecânico é uma informação de grande valor para implementação do processo proposto em escala industrial, bem como as condições mais eficazes de remoção de água do meio reacional, para aprimoramento do rendimento de éster e consequente retorno financeiro.

8 PRODUTOS DA DISSERTAÇÃO

LOPES, Marcos Vinícius Aquino; BESSA, Juliana Maria Rabeilo; FRANÇA, Ítalo Waldimiro Lima de; GONÇALVES, Luciana Rocha Barros. Simulação computacional da operação de síntese de butanoato de etila catalisada por lipase imobilizada. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE SISTEMAS EM PROCESSOS, 3., 2024, São Paulo. **Anais do III Congresso Brasileiro de Engenharia de Sistemas em Processos**. São Paulo: Edição dos Autores, 2024. p. 128-133.

LOPES, Marcos Vinícius Aquino; BESSA, Juliana Maria Rabeilo; FRANÇA, Ítalo Waldimiro Lima de; GONÇALVES, Luciana Rocha Barros. Modelagem e otimização da biossíntese de butanoato de etila em diferentes configurações de reatores. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE SISTEMAS EM PROCESSOS, 3., 2024, São Paulo. **Anais do III Congresso Brasileiro de Engenharia de Sistemas em Processos**. São Paulo: Edição dos Autores, 2024. p. 370-375.

REFERÊNCIAS

- 24 CHEMICAL RESEARCH. **Ethyl butyrate market size, capacity, demand and supply 2023**. Disponível em: <https://www.24chemicalresearch.com/reports/233344/global-ethyl-butyrates-forecast-market-2023-2032-508#:~:text=Ethyl%20Butyrate%20Market%20Size%2C%20Capacity%2C%20Demand%20%26%20Supply,Rate%20%28CAGR%29%20of%204.2%25%20during%20the%20forecast%20period..> Acesso em: 03 nov. 2024.
- A ANDERSON,. **Breaking Down Chemistry**. Disponível em: <https://br.pinterest.com/pin/185773553367217030/>. Acesso em: 03 dez. 2023.
- AGUIEIRAS, Erika C.G.; CAVALCANTI-OLIVEIRA, Elisa D.; FREIRE, Denise M.G.. Current status and new developments of biodiesel production using fungal lipases. **Fuel**, [S.L.], v. 159, p. 52-67, nov. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2015.06.064>.
- AKACHA, Najla Ben; GARGOURI, Mohamed. Microbial and enzymatic technologies used for the production of natural aroma compounds: synthesis, recovery modeling, and bioprocesses. **Food And Bioproducts Processing**, [S.L.], v. 94, p. 675-706, abr. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2014.09.011>.
- APPS, Peter; TOCK, Margaux Lim Ah. Enhanced flavour extraction in continuous liquid-liquid extractors. **Journal Of Chromatography A**, [S.L.], v. 1083, n. 1-2, p. 215-218, ago. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2005.06.024>.
- ARCUS, Vickery L *et al.* Enzyme evolution and the temperature dependence of enzyme catalysis. **Current Opinion In Structural Biology**, [S.L.], v. 65, p. 96-101, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sbi.2020.06.001>.
- ALFA CHEMISTRY. **3A molecular sieve**. Disponível em: https://market.alfa-chemistry.com/products/3a-molecular-sieve.html?gclid=Cj0KCQiA2eKtBhDcARIsAEGTG40FRogNCG1rlkWL_C2N8qDONNw6I24wGpVzeB9jFV1gOKyb2Xf_ITEaAvPkEALw_wcB. Acesso em: 03 nov. 2024.
- AUDET, Charles *et al.* Performance indicators in multiobjective optimization. **European Journal Of Operational Research**, [S.L.], v. 292, n. 2, p. 397-422, jul. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejor.2020.11.016>.
- AUGUSTO, Oscar Brito; BENNIS, Fouad; CARO, Stephane. Multiobjective Optimization Involving Quadratic Functions. **Journal Of Optimization**, [S.L.], v. 2014, p. 1-11, 2014. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/406092>.
- BADGUJAR, Kirtikumar C.; BHANAGE, Bhalchandra M.. Enhanced Biocatalytic Activity of Lipase Immobilized on Biodegradable Copolymer of Chitosan and Polyvinyl Alcohol Support for Synthesis of Propionate Ester: kinetic approach. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, [S.L.], v. 53, n. 49, p. 18806-18815, 24 jun. 2014. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ie501304e>.

BADGUJAR, K. C.; PAI, P. A.; BHANAGE, B. M.. Enhanced biocatalytic activity of immobilized *Pseudomonas cepacia* lipase under sonicated condition. **Bioprocess And Biosystems Engineering**, [S.L.], v. 2, n. 39, p. 211-221, 2016.

BANSODE, Sneha R.; RATHOD, Virendra K.. Ultrasound assisted lipase catalysed synthesis of isoamyl butyrate. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 49, n. 8, p. 1297-1303, ago. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2014.04.018>.

BASSO, Alessandra; SERBAN, Simona. Industrial applications of immobilized enzymes—A review. **Molecular Catalysis**, [S.L.], v. 479, p. 110607, dez. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcat.2019.110607>.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P.. **Food Chemistry**. 4. ed. Heidelberg: Springer, 2009.

BERGER, Ralf G.. Biotechnology of flavours—the next generation. **Biotechnology Letters**, [S.L.], v. 31, n. 11, p. 1651-1659, 16 jul. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10529-009-0083-5>.

BHAVSAR, Kalpesh V.; YADAV, Ganapati D.. Process intensification by microwave irradiation in immobilized-lipase catalysis in solvent-free synthesis of ethyl valerate. **Molecular Catalysis**, [S.L.], v. 461, p. 34-39, dez. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcat.2018.09.019>.

BÔAS, Renata N. et al. Application of an immobilized *Rhizopus oryzae* lipase to batch and continuous ester synthesis with a mixture of a lauric acid and fusel oil. **Biomass And Bioenergy**, [S.L.], v. 119, p. 61-68, dez. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.09.011>.

BOETTGER, Jenny. **Porosity of the Lewatit VP OC 1600 immobilization carrier**. [mensagem pessoal] Mensagem recebida por: <lewatit@lanxess.com>. em: 04 jan. 2024.

BOUDRANT, Joseph; WOODLEY, John M.; FERNANDEZ-LAFUENTE, Roberto. Parameters necessary to define an immobilized enzyme preparation. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 90, p. 66-80, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2019.11.026>.

BRAINLY. **Qual é a estrutura básica de uma proteína?** Disponível em: <https://brainly.com.br/tarefa/16081139>. Acesso em: 03 dez. 2023.

BRITO, Mylena Junqueira Pinto *et al.* Lipase immobilization on activated and functionalized carbon for the aroma ester synthesis. **Microporous And Mesoporous Materials**, [S.L.], v. 309, p. 110576, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micromeso.2020.110576>.

BRUGGEMAN, D. A. G.. Berechnung verschiedener physikalischer Konstanten von heterogenen Substanzen. I. Dielektrizitätskonstanten und Leitfähigkeiten der Mischkörper aus isotropen Substanzen. **Annalen Der Physik**, [S.L.], v. 416, n. 7, p. 636-664, jan. 1935. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/andp.19354160705>.

BUDŽAKI, Sandra et al. Cost analysis of enzymatic biodiesel production in small-scaled packed-bed reactors. **Applied Energy**, [S.L.], v. 210, p. 268-278, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.11.026>.

CAMILO, Rodrigo *et al.* Bi-objective optimization of a supply chain: identification of the key impact category and green management. **Brazilian Journal Of Chemical Engineering**, [S.L.], v. 37, n. 1, p. 157-171, 13 fev. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s43153-020-00028-8>.

CAO, Yuanyuan; WANG, Yapei. Temperature-Mediated Regulation of Enzymatic Activity. **Chemcatchem**, [S.L.], v. 8, n. 17, p. 2740-2747, 7 jul. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cctc.201600406>.

CARROLL, Austin L; DESAI, Shuchi H; ATSUMI, Shota. Microbial production of scent and flavor compounds. **Current Opinion In Biotechnology**, [S.L.], v. 37, p. 8-15, fev. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2015.09.003>.

CHANG, Ho Nam et al. Multi-stage high cell continuous fermentation for high productivity and titer. **Bioprocess And Biosystems Engineering**, [S.L.], v. 34, n. 4, p. 419-431, 3 dez. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00449-010-0485-8>.

CHAPRA, Steven C.; CANALE, Raymond P.. **Métodos numéricos para engenharia**. 7. ed. [S.I.]: McGraw-Hill, 2016.

CHEN, Zhonghao; WANG, Lei. Process simulation and evaluation of scaled-up biocatalytic systems: advances, challenges, and future prospects. **Biotechnology Advances**, [S.L.], v. 77, p. 108470, dez. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2024.108470>.

CORDEIRO, Eloise de Sousa *et al.* Optimization, kinetic, and scaling-up of solvent-free lipase-catalyzed synthesis of ethylene glycol oleate emollient ester. **Biotechnology And Applied Biochemistry**, [S.L.], p. 1469-1478, 10 nov. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/bab.2067>.

ĆOROVIĆ, Marija *et al.* Enzymatically derived oil-based L-ascorbyl esters: synthesis, antioxidant properties and controlled release from cosmetic formulations. **Sustainable Chemistry And Pharmacy**, [S.L.], v. 15, p. 100231, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scp.2020.100231>.

CVETKOVIC, Dragan. **Computer Simulation**. [S.I.]: Intechopen, 2017. 266 p.

CYMIT QUIMICA. **Novozym 435**. Disponível em: <https://cymitquimica.com/products/08-06-3123/9001-62-1/novozym-435/>. Acesso em: 03 nov. 2024.

DATTA, Sumitra; CHRISTENA, L. Rene; RAJARAM, Yamuna Rani Sriramulu. Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials. **3 Biotech**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 1-9, 6 jun. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13205-012-0071-7>.

DEODHAR, Malavika *et al.* Mechanisms of CYP450 Inhibition: understanding drug-drug interactions due to mechanism-based inhibition in clinical practice. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 12, n. 9, p. 846, 4 set. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics12090846>.

DEROSE, Katherine *et al.* Integrated techno economic and life cycle assessment of the conversion of high productivity, low lipid algae to renewable fuels. **Algal Research**, [S.L.], v. 38, p. 101412, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2019.101412>.

DEVI, N. Annapurna; RADHIKA, G. B.; BHARGAVI, R. J.. Lipase catalyzed transesterification of ethyl butyrate synthesis in n-hexane— a kinetic study. **Journal Of Food Science And Technology**, [S.L.], v. 54, n. 9, p. 2871-2877, 8 jul. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-017-2725-2>.

DHAKE, Kishor P. *et al.* HPMC-PVA Film Immobilized Rhizopus oryzae Lipase as a Biocatalyst for Transesterification Reaction. **Acs Catalysis**, [S.L.], v. 1, n. 4, p. 316-322, 1 mar. 2011. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/cs100162t>.

DONG, Zhe; JIN, Jun; WEI, Wei; WU, Gangcheng; WANG, Xingguo; JIN, Qingzhe. Hyperactivation of lipase by oil-water interface in interfacial immobilization on hierarchical porous hollow silica microsphere: dynamics, mechanism and application. **Food Bioscience**, [S.L.], v. 58, p. 103706, abr. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2024.103706>.

DORAN, Pauline M.. **Bioprocess Engineering Principles**. [S.I.]: Elsevier, 2013.

DUTTA, Rajiv. **Fundamentals of Biochemical Engineering**. Heidelberg: Springer, 2008.

FEKHAR, B.; ZSINKA, V.; MISKOLCZI, N.. Thermo-catalytic co-pyrolysis of waste plastic and paper in batch and tubular reactors for in-situ product improvement. **Journal Of Environmental Management**, [S.L.], v. 269, p. 110741, set. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110741>.

FERRAZ, Lenir Inês Rigoli *et al.* Application of home-made lipase in the production of geranyl propionate by esterification of geraniol and propionic acid in solvent-free system. **Biocatalysis And Agricultural Biotechnology**, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 44-48, jan. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2014.07.003>.

FOGLER, H. Scott. **Elements of Chemical Reaction Engineering**. 6. ed. [S.I.]: Pearson, 2020.

FORTUNE BUSINESS INSIGHTS. **Flavors and Fragrances Market Size, Share & Industry Analysis, By Type (Flavors {Natural and Synthetic} and Fragrances {Natural and Synthetic}), By Type (Cross Application) (Flavors {Food & Beverage, Pharmaceuticals, and Others} and Fragrances {Fine Fragrances, Cosmetics & Personal Care, Home & Floor Care, and Others}), and Regional Forecast, 2024-2032 Source: <https://www.fortunebusinessinsights.com/flavors-and-fragrances-market-102329>. Disponível em: <https://www.fortunebusinessinsights.com/flavors-and-fragrances-market-102329>. Acesso em: 03 set. 2024.**

FOUKIS, Athanasios *et al.* Sustainable production of a new generation biofuel by lipase-catalyzed esterification of fatty acids from liquid industrial waste biomass. **Bioresource**

Technology, [S.L.], v. 238, p. 122-128, ago. 2017. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.028>.

FOUKIS, Athanasios *et al.* New insights and tools for the elucidation of lipase catalyzed esterification reaction mechanism in n-hexane: the synthesis of ethyl butyrate. **Molecular Catalysis**, [S.L.], v. 455, p. 159-163, ago. 2018. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mcat.2018.06.004>.

GAO, Wenyan *et al.* A novel esterase from a marine mud metagenomic library for biocatalytic synthesis of short-chain flavor esters. **Microbial Cell Factories**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 1-41, 18 fev. 2016. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1186/s12934-016-0435-5>.

GARLAPATI, Vijay Kumar *et al.* Solvent-Free Synthesis of Flavour Esters through Immobilized Lipase Mediated Transesterification. **Enzyme Research**, [S.L.], v. 2013, p. 1-6, 30 maio 2013. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/367410>.

GENG, Bo *et al.* Cinnamyl acetate synthesis by lipase-catalyzed transesterification in a solvent-free system. **Biotechnology And Applied Biochemistry**, [S.L.], v. 59, n. 4, p. 270-275, 28 jun. 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/bab.1023>.

GOMES, Nelma; TEIXEIRA, José A.; BELO, Isabel. Fed-batch versus batch cultures of *Yarrowia lipolytica* for γ -decalactone production from methyl ricinoleate. **Biotechnology Letters**, [S.L.], v. 34, n. 4, p. 649-654, 11 dez. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10529-011-0824-0>.

GONÇALVES, L. R. B. *et al.* Influence of mass transfer limitations on the enzymatic synthesis of β -lactam antibiotics catalyzed by penicillin G acylase immobilized on glioxil-agarose. **Bioprocess And Biosystems Engineering**, [S.L.], v. 31, n. 5, p. 411-418, 27 nov. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00449-007-0176-2>.

GREATWALL. **Different types of reactor jacket**. Disponível em: <https://m.greatwall-online.com/news/shownews.php-7.html>. Acesso em: 03 nov. 2024.

GRENVILLE, Richard K. *et al.* Mixing: Impeller Performance in Stirred Tanks. **Chemical Engineering**, [S.L.], p. 42-51, ago. 2017.

GRENVILLE, R.K.; MAK, A.T.C.; BROWN, D.A.R.. Suspension of solid particles in vessels agitated by axial flow impellers. **Chemical Engineering Research And Design**, [S.L.], v. 100, p. 282-291, ago. 2015. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cherd.2015.05.026>.

GROSSO, C.; FERREIRA-DIAS, S.; PIRES-CABRAL, P.. Modelling and optimization of ethyl butyrate production catalysed by *Rhizopus oryzae* lipase. **Journal Of Food Engineering**, [S.L.], v. 115, n. 4, p. 475-480, abr. 2013. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.08.001>.

GUAJARDO, Nadia; SCHREBLER, Rodrigo A.; MARÍA, Pablo Domínguez de. From batch to fed-batch and to continuous packed-bed reactors: lipase-catalyzed esterifications in low

viscous deep-eutectic-solvents with buffer as cosolvent. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 273, p. 320-325, fev. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.026>.

GU, Deyin *et al.* Design of impeller blades for efficient homogeneity of solid-liquid suspension in a stirred tank reactor. **Advanced Powder Technology**, [S.L.], v. 28, n. 10, p. 2514-2523, out. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apt.2017.06.027>.

GUILLÉN, Marina; BENAIGES, M. Dolors; VALERO, Francisco. Improved ethyl butyrate synthesis catalyzed by an immobilized recombinant *Rhizopus oryzae* lipase: a comprehensive statistical study by production, reaction rate and yield analysis. **Journal Of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, [S.L.], v. 133, p. 371-376, nov. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcatb.2017.02.010>.

GUMEL, Ahmad Mohammed; ANNUAR, M. S. M.. *Thermomyces lanuginosus* lipase-catalyzed synthesis of natural flavor esters in a continuous flow microreactor. **3 Biotech**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 1-24, 11 jan. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13205-015-0355-9>.

GUPTA, Princy; PAUL, Satya. Solid acids: green alternatives for acid catalysis. **Catalysis Today**, [S.L.], v. 236, p. 153-170, nov. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cattod.2014.04.010>.

GUPTA, Rani *et al.* Molecular and functional diversity of yeast and fungal lipases: their role in biotechnology and cellular physiology. **Progress In Lipid Research**, [S.L.], v. 57, p. 40-54, jan. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plipres.2014.12.001>.

GUPTA, Shweta *et al.* Ultrasound-assisted production of biodiesel using engineered methanol tolerant *Proteus vulgaris* lipase immobilized on functionalized polysulfone beads. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S.L.], v. 68, p. 105211, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105211>.

GUT, Jorge A. W.. **Programação Matemática para Otimização de Processos**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2021.

HARBNY N., EDWARDS M.F. and NIENOW A.W. **Mixing in the process industries**. 2. ed. Butterworth Heinemann, 1992.

HARTMANN, Martin; JUNG, Dirk. Biocatalysis with enzymes immobilized on mesoporous hosts: the status quo and future trends. **J. Mater. Chem.**, [S.L.], v. 20, n. 5, p. 844-857, 2010. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/b907869j>.

HEATH, Rachel S.; RUSCOE, Rebecca E.; TURNER, Nicholas J.. The beauty of biocatalysis: sustainable synthesis of ingredients in cosmetics. **Natural Product Reports**, [S.L.], v. 39, n. 2, p. 335-388, 2022. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/d1np00027f>.

HOANG, Hai Nam; MATSUDA, Tomoko. Expanding substrate scope of lipase-catalyzed transesterification by the utilization of liquid carbon dioxide. **Tetrahedron**, [S.L.], v. 72, n. 46, p. 7229-7234, nov. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2015.11.052>.

HORCHANI, Habib *et al.* Enzymatic synthesis of eugenol benzoate by immobilized *Staphylococcus aureus* lipase: optimization using response surface methodology and determination of antioxidant activity. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 101, n. 8, p. 2809-2817, abr. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.082>.

HOSNEY, Hadeel *et al.* A cleaner enzymatic approach for producing non-phthalate plasticiser to replace toxic-based phthalates. **Clean Technologies And Environmental Policy**, [S.L.], v. 22, n. 1, p. 73-89, 1 nov. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10098-019-01770-5>.

ILLANES, Andrés. **Enzyme Biocatalysis: principles and applications**. [S.L.]: Springer, 2008. 392 p.

ILLANES, Andrés; WILSON, Lorena; VERA, Carlos. **Problem solving in enzyme biocatalysis**. [S.L.]: Wiley, 2013.

ILMI, M. *et al.* Kinetic studies on the transesterification of sunflower oil with 1-butanol catalyzed by *Rhizomucor miehei* lipase in a biphasic aqueous-organic system. **Biochemical Engineering Journal**, [S.L.], v. 114, p. 110-118, out. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2016.06.026>.

ISMAIL, Abdallah R.; BAEK, Kwang-Hyun. Lipase immobilization with support materials, preparation techniques, and applications: present and future aspects. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 163, p. 1624-1639, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.021>.

JIANG, Yuewen *et al.* Mesh sensitivity of RANS simulations on film cooling flow. **International Journal Of Heat And Mass Transfer**, [S.L.], v. 182, p. 121825, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijheatmasstransfer.2021.121825>.

JOAQUIM JUNIOR, Celso Fernandes *et al.* **Agitação e mistura na indústria**. Rio de Janeiro: Ltc, 2007.

JUNG, Young Hoon *et al.* Fed-Batch Enzymatic Saccharification of High Solids Pretreated Lignocellulose for Obtaining High Titrers and High Yields of Glucose. **Applied Biochemistry And Biotechnology**, [S.L.], v. 182, n. 3, p. 1108-1120, 11 jan. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-016-2385-0>.

KENG, P *et al.* Scale-up synthesis of lipase-catalyzed palm esters in stirred-tank reactor. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 99, n. 14, p. 6097-6104, set. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.049>.

KHAN, Nishat R.; RATHOD, Virendra K.. Enzyme catalyzed synthesis of cosmetic esters and its intensification: a review. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 50, n. 11, p. 1793-1806, nov. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2015.07.014>.

KHAN, Zarmeena *et al.* Current developments in esterification reaction: a review on process and parameters. **Journal Of Industrial And Engineering Chemistry**, [S.L.], v. 103, p. 80-101, nov. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2021.07.018>.

- KOVALENKO, Galina et al. Lipase-active heterogeneous biocatalysts for enzymatic synthesis of short-chain aroma esters. **Biocatalysis And Agricultural Biotechnology**, [S.L.], v. 36, p. 102124, set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102124>.
- KULA, Ceyda; SAYAR, Nihat Alpogu. Multi-objective optimization of a novel crude lipase-catalyzed fatty acid methyl ester (FAME) production using low-order polynomial and Kriging models. **International Journal Of Green Energy**, [S.L.], v. 16, n. 8, p. 657-665, 25 abr. 2019. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/15435075.2019.1608443>.
- KUMAR, Ashok *et al.* Lipase catalysis in organic solvents: advantages and applications. **Biological Procedures Online**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 1-11, 13 jan. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12575-016-0033-2>.
- KUO, Chia-Hung *et al.* Kinetics and optimization of lipase-catalyzed synthesis of rose fragrance 2-phenylethyl acetate through transesterification. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 49, n. 3, p. 437-444, mar. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2013.12.012>.
- LAROCK, Richard C.; ROZHKOVA, Roman. Inverconversion of Nitriles, Carboxylic Acids, and Derivatives. **Comprehensive Organic Transformations**, [S.L.], p. 1-81, 28 fev. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/9781118662083.cot09-009>.
- LI, Cheng *et al.* Chemical and enzymatic synthesis of a library of 2-phenethyl esters and their sensory attributes. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 154, p. 205-210, jul. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.102>.
- LI, Mao-Fen *et al.* General models for estimating daily global solar radiation for different solar radiation zones in mainland China. **Energy Conversion And Management**, [S.L.], v. 70, p. 139-148, jun. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2013.03.004>.
- LI, Wan-Lu; HEAD-GORDON, Teresa. Catalytic Principles from Natural Enzymes and Translational Design Strategies for Synthetic Catalysts. **ACS Central Science**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 72-80, 19 dez. 2020. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acscentsci.0c01556>.
- LINGE, Svein; LANGTANGEN, Hans Petter. **Programming for Computations – Python**. [S.I.]: Springer, 2020.
- LIU, Zhongqi. *et al.* Optimization of EB/SM Distillation Processes Based on Divided Wall Columns in a PO/SM Process with a Chaos Differential Evolution Algorithm. **ACS Omega**, [S.L.], v. 7, n. 6, p. 5471-5484, 3 fev. 2022. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acsomega.1c06812>.
- LÓPEZ-FERNÁNDEZ, Josu *et al.* Producing Natural Flavours from Isoamyl Alcohol and Fusel Oil by Using Immobilised *Rhizopus oryzae* Lipase. **Catalysts**, [S.L.], v. 12, n. 6, p. 639, 10 jun. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/catal12060639>.
- LORENZONI, André S.G. et al. Continuous production of fructooligosaccharides and invert sugar by chitosan immobilized enzymes: comparison between in fluidized and packed bed

reactors. **Journal Of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, [S.L.], v. 111, p. 51-55, jan. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcatb.2014.11.002>.

MAGHRABY, Yasmin R. *et al.* Enzyme Immobilization Technologies and Industrial Applications. **Acs Omega**, [S.L.], v. 8, n. 6, p. 5184-5196, 31 jan. 2023. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acsomega.2c07560>.

MANAN, Fatin Myra Abd *et al.* Statistical modelling of eugenol benzoate synthesis using *Rhizomucor miehei* lipase reinforced nanobioconjugates. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 51, n. 2, p. 249-262, fev. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2015.12.002>.

MANDARI, Venkatesh; DEVARAI, Santhosh Kumar. Biodiesel Production Using Homogeneous, Heterogeneous, and Enzyme Catalysts via Transesterification and Esterification Reactions: a critical review. **Bioenergy Research**, [S.L.], v. 15, n. 2, p. 935-961, 28 set. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12155-021-10333-w>.

MARTINS, Andréa B. *et al.* Comparison of the performance of commercial immobilized lipases in the synthesis of different flavor esters. **Journal Of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, [S.L.], v. 105, p. 18-25, jul. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcatb.2014.03.021>.

MATTE, Carla R. *et al.* Synthesis of butyl butyrate in batch and continuous enzymatic reactors using *Thermomyces lanuginosus* lipase immobilized in Immobead 150. **Journal Of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, [S.L.], v. 127, p. 67-75, maio 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcatb.2016.02.016>.

MELLO, Ariane Fátima Murawski de *et al.* Strategies and engineering aspects on the scale-up of bioreactors for different bioprocesses. **Systems Microbiology And Biomanufacturing**, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 365-385, 10 out. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s43393-023-00205-z>.

MENDES, Adriano A.; CASTRO, Heizir F. de; GIORDANO, Raquel L.C.. Covalent attachment of lipases on glyoxyl-agarose beads: application in fruit flavor and biodiesel synthesis. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 70, p. 78-85, set. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.06.035>.

MENESES, Alessandra Cristina de *et al.* Benzyl butyrate esterification mediated by immobilized lipases: evaluation of batch and fed-batch reactors to overcome lipase-acid deactivation. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 78, p. 50-57, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2018.12.029>

MERCKa. **Molecular sieves, 3A**. Disponível em: https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/sigald/208582?utm_source=bing&utm_medium=cpc&utm_campaign=all+product_dsa_WW_%28bing+ebizpfs%29&utm_id=626946489&utm_content=1166583023365595&msslkid=692ff523c10618d6c4df923ff79e5774&utm_term=%2Fproduct%2F. Acesso em: 03 nov. 2024.

MERCKb. **Ethyl butyrate**. Disponível em:

<https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/aldrich/e15701?msocid=0181b26c92636a301a45a6e893346bcf>. Acesso em: 03 nov. 2024.

MOHAMAD, Nur Royhaila *et al.* A facile enzymatic synthesis of geranyl propionate by physically adsorbed *Candida rugosa* lipase onto multi-walled carbon nanotubes. **Enzyme And Microbial Technology**, [S.L.], v. 72, p. 49-55, maio 2015. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2015.02.007>.

MONTEIRO, Rodolpho R. C. *et al.* Ethyl Butyrate Synthesis Catalyzed by Lipases A and B from *Candida antarctica* Immobilized onto Magnetic Nanoparticles. Improvement of Biocatalysts' Performance under Ultrasonic Irradiation. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 20, n. 22, p. 5807, 19 nov. 2019. MDPI AG.

<http://dx.doi.org/10.3390/ijms20225807>.

MULAY, Aarti; RATHOD, V.K.. Kinetics, mass transfer, and thermodynamics of Ethyl Hexanoate synthesis using heterogeneous catalyst. **Chemical Data Collections**, [S.L.], v. 41, p. 100916, out. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cdc.2022.100916>.

MURIA, Sri Rezeki; CHEIRSILP, Benjamas; KITCHA, Suleeporn. Effect of substrate concentration and temperature on the kinetics and thermal stability of cyclodextrin glycosyltransferase for the production of β -cyclodextrin: experimental results vs. mathematical model. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 46, n. 7, p. 1399-1404, jul. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2011.03.007>.

NADAR, Shamraja S.; RAO, Priyanka; RATHOD, Virendra K.. Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: a review. **Food Research International**, [S.L.], v. 108, p. 309-330, jun. 2018. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.006>.

NARWAL, Sunil Kumar *et al.* Green synthesis of isoamyl acetate via silica immobilized novel thermophilic lipase from *Bacillus aerius*. **Russian Journal Of Bioorganic Chemistry**, [S.L.], v. 42, n. 1, p. 69-73, jan. 2016. Pleiades Publishing Ltd.

<http://dx.doi.org/10.1134/s1068162016010118>.

NELSON, David L.; COX, Michael M.. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

NIETO, Susana *et al.* Nonconventional biocatalysis: from organic solvents to green solvents. **Biocatalysis In Green Solvents**, [S.L.], p. 23-55, 2022. Elsevier.

<http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-323-91306-5.00003-0>.

NORIEGA, Alexis K. *et al.* Hydrodeoxygenation of vegetable oil in batch reactor: experimental considerations. **Chinese Journal Of Chemical Engineering**, [S.L.], v. 28, n. 6, p. 1670-1683, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cjche.2019.12.022>.

OLIVEIRA, Ulisses M. F. de *et al.* Efficient biotechnological synthesis of flavor esters using a low-cost biocatalyst with immobilized *Rhizomucor miehei* lipase. **Molecular Biology Reports**, [S.L.], v. 46, n. 1, p. 597-608, 3 dez. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-018-4514-z>.

PALUDO, Natalia *et al.* The combined use of ultrasound and molecular sieves improves the synthesis of ethyl butyrate catalyzed by immobilized *Thermomyces lanuginosus* lipase.

Ultrasonics Sonochemistry, [S.L.], v. 22, p. 89-94, jan. 2015. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.05.004>.

PAROUL, Natália *et al.* Solvent-Free Production of Bioflavors by Enzymatic Esterification of Citronella (*Cymbopogon winterianus*) Essential Oil. **Applied Biochemistry And**

Biotechnology, [S.L.], v. 166, n. 1, p. 13-21, 6 out. 2011. Springer Science and Business

Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-011-9399-4>.

PATEL, Vrutika *et al.* Synthesis of ethyl caprylate in organic media using *Candida rugosa* lipase immobilized on exfoliated graphene oxide: process parameters and reusability studies.

Biochemical Engineering Journal, [S.L.], v. 95, p. 62-70, mar. 2015. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2014.12.007>.

PAULA, Ariela V. *et al.* Synthesis of Structured Lipids by Enzymatic Interesterification of Milkfat and Soybean Oil in a Basket-Type Stirred Tank Reactor. **Industrial & Engineering**

Chemistry Research, [S.L.], v. 54, n. 6, p. 1731-1737, 3 fev. 2015. American Chemical

Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ie503189e>.

PNGWING. **Propeller and machinery illustration with tank**. Disponível em:

<https://www.pngwing.com/en/free-png-nejvk>. Acesso em: 03 nov. 2024.

POLING, Bruce E.; PRAUSNITZ, John M.; O'CONNELL, John P.. **The properties of gases and liquids**. 5. ed. [S.I.]: McGraw-Hill, 2001.

POLLARD, David J.; WOODLEY, John M.. Biocatalysis for pharmaceutical intermediates: the future is now. **Trends In Biotechnology**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 66-73, fev. 2007. Elsevier

BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.12.005>.

POPPE, Jakeline Kathiele *et al.* Enzymatic reactors for biodiesel synthesis: present status and future prospects. **Biotechnology Advances**, [S.L.], v. 33, n. 5, p. 511-525, set. 2015. Elsevier

BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.01.011>.

POSTAWA, Karol; SZCZYGIEŁ, Jerzy; KUŁAŚYŃSKI, Marek. A comprehensive comparison of ODE solvers for biochemical problems. **Renewable Energy**, [S.L.], v. 156, p. 624-633,

ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2020.04.089>.

POURZOLFAGHAR, Hamed *et al.* A review of the enzymatic hydroesterification process for biodiesel production. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 61, p. 245-

257, ago. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2016.03.048>.

PROLAB. **Hexano - N 99% Pa Acs**. Disponível em: <https://www.lojaprolab.com.br/hexano-n-99-pa-ac-79124>. Acesso em: 03 nov. 2024.

RABBANI, Gulam; AHMAD, Ejaz; AHMAD, Abrar; KHAN, Rizwan Hasan. Structural features, temperature adaptation and industrial applications of microbial lipases from psychrophilic, mesophilic and thermophilic origins. **International Journal Of Biological**

Macromolecules, [S.L.], v. 225, p. 822-839, jan. 2023. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.11.146>.

RAKMAI, Jaruporn; CHEIRSILP, Benjamas. Continuous production of β -cyclodextrin by cyclodextrin glycosyltransferase immobilized in mixed gel beads: comparative study in continuous stirred tank reactor and packed bed reactor. **Biochemical Engineering Journal**, [S.L.], v. 105, p. 107-113, jan. 2016. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2015.09.011>.

RAMLI, Nur Aainaa Syahirah; AMIN, Nor Aishah Saidina. Kinetic study of glucose conversion to levulinic acid over Fe/HY zeolite catalyst. **Chemical Engineering Journal**, [S.L.], v. 283, p. 150-159, jan. 2016. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2015.07.044>.

REIS, Carla et al. DESIGN OF IMMOBILIZED ENZYME BIOCATALYSTS: drawbacks and opportunities. **Química Nova**, [S.L.], v. 42, n. 7, p. 768-783, jul. 2019. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170381>.

REMONATTO, Daniela *et al.* Applications of immobilized lipases in enzymatic reactors: a review. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 114, p. 1-20, mar. 2022. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2022.01.004>.

RING, Barbara; WRIGHTON, Steven A.; MOHUTSKY, Michael. Reversible Mechanisms of Enzyme Inhibition and Resulting Clinical Significance. **Methods In Molecular Biology**, [S.L.], p. 29-50, 2021. Springer US. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-0716-1554-6_2.

ROBLES-MEDINA, A. et al. Biocatalysis: towards ever greener biodiesel production. **Biotechnology Advances**, [S.L.], v. 27, n. 4, p. 398-408, jul. 2009. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.10.008>.

RODRIGUES, Rafael C. *et al.* Stabilization of enzymes via immobilization: multipoint covalent attachment and other stabilization strategies. **Biotechnology Advances**, [S.L.], v. 52, p. 107821, nov. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107821>.

SÁ, Amanda Gomes Almeida *et al.* A review on enzymatic synthesis of aromatic esters used as flavor ingredients for food, cosmetics and pharmaceuticals industries. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 69, p. 95-105, nov. 2017. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.004>.

SAFFARIONPOUR, Shima; OTTENS, Marcel. Recent Advances in Techniques for Flavor Recovery in Liquid Food Processing. **Food Engineering Reviews**, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 81-94, 15 nov. 2017. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1007/s12393-017-9172-8>.

SALVI, Harshada M.; KAMBLE, Manoj P.; YADAV, Ganapati D.. Synthesis of Geraniol Esters in a Continuous-Flow Packed-Bed Reactor of Immobilized Lipase: optimization of process parameters and kinetic modeling. **Applied Biochemistry And Biotechnology**, [S.L.], v. 184, n. 2, p. 630-643, 23 ago. 2017. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1007/s12010-017-2572-7>.

SANTOS, Philipe dos; MEIRELES, M. Angela A.; MARTÍNEZ, Julian. Production of isoamyl acetate by enzymatic reactions in batch and packed bed reactors with supercritical CO₂. **The Journal Of Supercritical Fluids**, [S.L.], v. 127, p. 71-80, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2017.03.019>.

SCIPY. **Scipy.integrate.odeint**. Disponível em: <https://docs.scipy.org/doc/scipy/reference/generated/scipy.integrate.odeint.html>. Acesso em: 03 nov. 2024.

SCIPY. **Scipy.optimize.differential_evolution**. Disponível em: https://docs.scipy.org/doc/scipy/reference/generated/scipy.optimize.differential_evolution.htm. Acesso em: 03 nov. 2024.

SIDDIQI, M. A.; LUCAS, K. Correlations for prediction on diffusion in liquids. **The Canadian Journal Of Chemical Engineering**. [S.L.], v. 64, n. 5, p. 839-843, out. 1986.

SIDDIQUI, Khawar Sohail et al. Evaluating Enzymatic Productivity—The Missing Link to Enzyme Utility. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 23, n. 13, p. 6908, 21 jun. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms23136908>.

SILVA, Natália C.A. *et al.* Immobilization of porcine pancreatic lipase on poly-hydroxybutyrate particles for the production of ethyl esters from macaw palm oils and pineapple flavor. **Biochemical Engineering Journal**, [S.L.], v. 82, p. 139-149, jan. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2013.11.015>.

SILVA, María José A. *et al.* Lipozyme TL IM as Catalyst for the Synthesis of Eugenyl Acetate in Solvent-Free Acetylation. **Applied Biochemistry And Biotechnology**, [S.L.], v. 176, n. 3, p. 782-795, 15 abr. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-015-1611-5>.

SIN, Gürkan; WOODLEY, John M.; GERNAEY, Krist V.. Application of modeling and simulation tools for the evaluation of biocatalytic processes: a future perspective. **Biotechnology Progress**, [S.L.], v. 25, n. 6, p. 1529-1538, 18 set. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/btpr.276>.

SINGH, Nisha; KUMAR, Raj; SACHAN, Pravin Kumar. Kinetic Study of Catalytic Esterification of Butyric Acid and Ethanol over Amberlyst 15. **Isrn Chemical Engineering**, [S.L.], v. 2013, p. 1-6, 23 out. 2013. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/520293>.

SHARIF, Nawaz. Effects of pH on Enzyme Activity in Pakistan. **Journal Of Chemistry**, [S.L.], v. 3, n. 3, p. 49-59, 25 out. 2024. AJPO JOURNALS. <http://dx.doi.org/10.47672/jchem.2512>.

SHARMA, Chander K. *et al.* Synthesis of medically important ethyl cinnamate ester by porcine pancreatic lipase immobilized on poly(AAc-co-HPMA-cl-EGDMA) hydrogel. **Journal Of Applied Polymer Science**, [S.L.], v. 121, n. 5, p. 2674-2679, 29 mar. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/app.33146>.

SHARUDDIN, Shafferina Dayana Anuar et al. A review on pyrolysis of plastic wastes. **Energy Conversion And Management**, [S.L.], v. 115, p. 308-326, maio 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2016.02.037>.

SHELDON, Roger A.. Fundamentals of green chemistry: efficiency in reaction design. **Chem. Soc. Rev.**, [S.L.], v. 41, n. 4, p. 1437-1451, 2012. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c1cs15219j>.

SHELDON, Roger A.; BASSO, Alessandra; BRADY, Dean. New frontiers in enzyme immobilisation: robust biocatalysts for a circular bio-based economy. **Chemical Society Reviews**, [S.L.], v. 50, n. 10, p. 5850-5862, 2021. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/d1cs00015b>.

SHELDON, Roger A.; BRADY, Dean. Broadening the Scope of Biocatalysis in Sustainable Organic Synthesis. **ChemSuschem**, [S.L.], v. 12, n. 13, p. 2859-2881, abr. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cssc.201900351>.

SHELDON, Roger A.; WOODLEY, John M.. Role of Biocatalysis in Sustainable Chemistry. **Chemical Reviews**, [S.L.], v. 118, n. 2, p. 801-838, 6 set. 2017. **American Chemical Society (ACS)**. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00203>.

SHELDON, Roger A.; VAN PELT, Sander. Enzyme immobilisation in biocatalysis: why, what and how. **Chem. Soc. Rev.**, [S.L.], v. 42, n. 15, p. 6223-6235, 27 mar. 2013. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c3cs60075k>.

SHINDE, Somnath D.; YADAV, Ganapati D.. Insight into Microwave-Assisted Lipase Catalyzed Synthesis of Geranyl Cinnamate: optimization and kinetic modeling. **Applied Biochemistry And Biotechnology**, [S.L.], v. 175, n. 4, p. 2035-2049, 29 nov. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-014-1367-3>.

SHU, Chengliang *et al.* Biocatalytic production of ethyl butyrate from butyric acid with immobilized *Candida rugosa* lipase on cotton cloth. **Journal Of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, [S.L.], v. 72, n. 3-4, p. 139-144, nov. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcatb.2011.05.011>.

SOUZA, M. C. M. de et al. Production of flavor esters catalyzed by lipase B from *Candida antarctica* immobilized on magnetic nanoparticles. **Brazilian Journal Of Chemical Engineering**, [S.L.], v. 34, n. 3, p. 681-690, jul. 2017. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0104-6632.20170343s20150575>.

SRIVASTAVA, Shashwat; PADHIYAR, Nitin. A comparative study of reverse flow chromatographic reactor and fixed bed reactor: a multi-objective optimization approach. **Chemical Engineering Research And Design**, [S.L.], v. 193, p. 294-305, maio 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cherd.2023.03.022>.

STENCEL, Lauren M.; LEADBEATER, Nicholas E.. Application of a new interface for rapid optimisation of bio-catalysed processes: proteolytic digestion and an enzyme-catalysed transesterification as examples. **New J. Chem.**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 242-247, 2014. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c3nj00784g>.

STORN, Rainer; PRICE, Kenneth. Differential Evolution: a simple and efficient heuristic for global optimization over continuous spaces. **Journal Of Global Optimization**, [S.L.], n. 11, p. 341-359, nov. 1997.

TADINI, Carmen Cecilia *et al.* **Operações Unitárias na Indústria de Alimentos**. Rio de Janeiro: Ltc, 2019.

TAMBORINI, Lucia *et al.* Flow Bioreactors as Complementary Tools for Biocatalytic Process Intensification. **Trends In Biotechnology**, [S.L.], v. 36, n. 1, p. 73-88, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.09.005>.

THANGARAJ, Baskar; SOLOMON, Pravin Raj. Immobilization of Lipases – A Review. Part I: enzyme immobilization. **ChemBioeng Reviews**, [S.L.], v. 6, n. 5, p. 157-166, out. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cben.201900016>.

TODERO, Larissa M. *et al.* Enzymatic synthesis of isoamyl butyrate catalyzed by immobilized lipase on poly-methacrylate particles: optimization, reusability and mass transfer studies. **Bioprocess And Biosystems Engineering**, [S.L.], v. 38, n. 8, p. 1601-1613, 3 maio 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00449-015-1402-y>.

TOLEDO, María Victoria *et al.* Influence of Water on Enzymatic Esterification of Racemic Ketoprofen with Ethanol in a Solvent-Free System. **Topics In Catalysis**, [S.L.], v. 62, n. 12-16, p. 968-976, 28 maio 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11244-019-01184-z>.

TOMKE, Prerana D.; RATHOD, Virendra K.. Ultrasound assisted lipase catalyzed synthesis of cinnamyl acetate via transesterification reaction in a solvent free medium. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S.L.], v. 27, p. 241-246, nov. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.04.022>.

TOWLER, Gavin; SINNOTT, Ray. **Chemical engineering design: principles, practice, and economics of plant and process design**. 2. ed. S.L.: Butterworth-Heinemann, 2013.

TUFVESSON, Pär *et al.* Process considerations for the scale-up and implementation of biocatalysis. **Food And Bioproducts Processing**, [S.L.], v. 88, n. 1, p. 3-11, mar. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2010.01.003>.

TUFVESSON, Pär *et al.* Advances in the Process Development of Biocatalytic Processes. **Organic Process Research & Development**, [S.L.], v. 17, n. 10, p. 1233-1238, 17 set. 2013. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/op4001675>.

TYN, M. T.; CALUS, W. F. Diffusion coefficients in the dilute binary liquid mixtures. **Journal of Chem. & Eng. Data**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 106-109, jan. 1975.

VADGAMA, Rajeshkumar N.; ODANETH, Annamma A.; LALI, Arvind M.. Green synthesis of isopropyl myristate in novel single phase medium Part I: batch optimization studies. **Biotechnology Reports**, [S.L.], v. 8, p. 133-137, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2015.10.006>.

VALENCIA, Pedro *et al.* Effect of particle size distribution on the simulation of immobilized enzyme reactor performance. **Biochemical Engineering Journal**, [S.L.], v. 49, n. 2, p. 256-263, abr. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2010.01.002>.

WAHAB, Roswanira Abdul *et al.* Enzymatic production of a solvent-free menthyl butyrate via response surface methodology catalyzed by a novel thermostable lipase from *Geobacillus zalihae*. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, [S.L.], v. 28, n. 6, p. 1065-1072, 2 nov. 2014. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/13102818.2014.978220>.

WALDROP, Grover L.. Protein Function | Kinetics of Enzyme Inhibition. **Encyclopedia Of Biological Chemistry III**, [S.L.], p. 14-20, 2021. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-819460-7.00027-x>.

WANG, Guan *et al.* Developing a Computational Framework To Advance Bioprocess Scale-Up. **Trends In Biotechnology**, [S.L.], v. 38, n. 8, p. 846-856, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.01.009>.

WANG, Lu *et al.* Continuous biosynthesis of geranyl butyrate in a circulating fluidized bed reactor. **Food Bioscience**, [S.L.], v. 27, p. 60-65, fev. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2018.05.007>.

WANG, Rui *et al.* Localized Weighted Sum Method for Many-Objective Optimization. **Ieee Transactions On Evolutionary Computation**, [S.L.], v. 22, n. 1, p. 3-18, fev. 2018. Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE). <http://dx.doi.org/10.1109/tevc.2016.2611642>.

WANG, Xia *et al.* Biodiesel production in packed-bed reactors using lipase–nanoparticle biocomposite. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 102, n. 10, p. 6352-6355, maio 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.03.003>.

WANG, Yun *et al.* Synthesis of benzyl cinnamate by enzymatic esterification of cinnamic acid. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 198, p. 256-261, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.028>.

WANG, Zhixin *et al.* Experimental Evidence for the Role of Dynamics in pH-Dependent Enzymatic Activity. **The Journal Of Physical Chemistry B**, [S.L.], v. 128, n. 24, p. 5814-5822, 10 maio 2024. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jpcc.4c00219>.

WYNN, James P. *et al.* Biobased Technology Commercialization: the importance of lab to pilot scale-up. **Metabolic Engineering For Bioprocess Commercialization**, [S.L.], p. 101-119, 2016. Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-41966-4_6.

WOODLEY, John M.. New opportunities for biocatalysis: making pharmaceutical processes greener. **Trends In Biotechnology**, [S.L.], v. 26, n. 6, p. 321-327, jun. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.03.004>.

WOODLEY, John M.. Reaction Engineering for the Industrial Implementation of Biocatalysis. **Topics In Catalysis**, [S.L.], v. 62, n. 17-20, p. 1202-1207, 1 mar. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11244-019-01154-5>.

XIU, Guo-Hua; JIANG, Lei; LI, Ping. Mass-Transfer Limitations for Immobilized Enzyme-Catalyzed Kinetic Resolution of Racemate in a Batch Reactor. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, [S.L.], v. 39, n. 11, p. 4054-4062, 21 out. 2000. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ie0003234>.

XU, Qitong; MENG, Zhenyu. Differential Evolution with multi-stage parameter adaptation and diversity enhancement mechanism for numerical optimization. **Swarm And Evolutionary Computation**, [S.L.], v. 92, p. 101829, fev. 2025. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.swevo.2024.101829>.

XU, Youqiang; MINHAZUL, Karim A. H. M.; LI, Xiuting. The occurrence, enzymatic production, and application of ethyl butanoate, an important flavor constituent. **Flavour And Fragrance Journal**, [S.L.], v. 35, n. 6, p. 601-615, 17 ago. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ffj.3613>.

YAMANI, Mohamed Anass El *et al.* A two-group epidemiological model: stability analysis and numerical simulation using neural networks. **International Journal Of Modeling, Simulation, And Scientific Computing**, [S.L.], v. 14, n. 05, p. 1-16, 29 ago. 2022. World Scientific Pub Co Pte Ltd. <http://dx.doi.org/10.1142/s1793962323500290>.

ZHANG, Yuwei *et al.* High titer (>200 g/L) lactic acid production from undetoxified pretreated corn stover. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 388, p. 129729, nov. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129729>.

ZHANG, Jiayi *et al.* Study on the Adsorption of Trace Water in N-Methyl-pyrrolidone Solvents by A-Type Molecular Sieves. **Acs Omega**, [S.L.], v. 9, n. 13, p. 15481-15492, 19 mar. 2024. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acsomega.4c00298>.

ZHAO, Xuebing *et al.* Lipase-catalyzed process for biodiesel production: enzyme immobilization, process simulation and optimization. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 44, p. 182-197, abr. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.12.021>.

ZHONG, Le *et al.* Production and use of immobilized lipases in/on nanomaterials: a review from the waste to biodiesel production. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 152, p. 207-222, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiomac.2020.02.258>.

ZIARANI, Ghodsi Mohammadi *et al.* Application of SiO₂-Pr-SO₃H as an efficient catalyst in the Ritter reaction. **Research On Chemical Intermediates**, [S.L.], v. 39, n. 7, p. 3157-3163, 2 out. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11164-012-0828-y>.

ZIELIŃSKI, Błażej *et al.* DetPy (Differential Evolution Tools): a python toolbox for solving optimization problems using differential evolution. **Softwarex**, [S.L.], v. 29, p. 102014, fev. 2025. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.softx.2024.102014>.

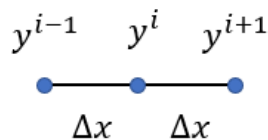
ZOU, Xiaoqiang *et al.* Enzymatic synthesis of structured lipids enriched with conjugated linoleic acid and butyric acid: strategy consideration and parameter optimization. **Bioprocess**

And Biosystems Engineering, [S.L.], v. 43, n. 2, p. 273-282, 8 out. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00449-019-02223-5>.

APÊNDICE A – DISCRETIZAÇÃO DAS EQUAÇÕES DIFERENCIAIS PARCIAIS (EDP's) PELO MÉTODO DE DIFERENÇAS FINITAS

Neste item, foi realizada a dedução da discretização por diferenças finitas das equações diferenciais parciais (EDP's) empregadas na modelagem dos reatores descontínuos heterogêneos para síntese de butanoato de etila catalisada por Novozym 435. A representação do procedimento de discretização pode ser observada na Figura A-1, sendo os esquemas de diferenças finitas regressivas de primeira ordem e centrais de primeira e segunda ordem obtidos a partir das equações A-1, A-2 e A-3, respectivamente.

Figura A-1 – Representação da discretização de um domínio contínuo em pontos discretos igualmente espaçados



Fonte: Elaborado pelo autor.

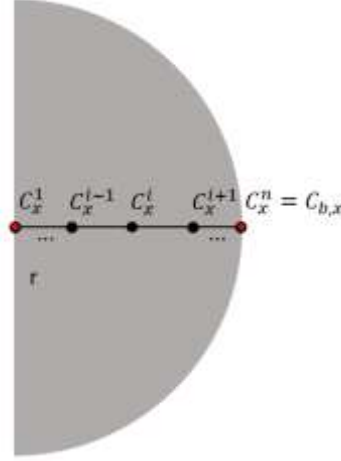
$$\frac{dy}{dx} = \frac{(y^i - y^{i-1})}{\Delta x} \quad (\text{A-1})$$

$$\frac{dy}{dx} = \frac{(y^{i+1} - y^{i-1})}{2\Delta x} \quad (\text{A-2})$$

$$\frac{d^2y}{dx^2} = \frac{(y^{i+1} - 2y^i + y^{i-1})}{\Delta x^2} \quad (\text{A-3})$$

Os esquemas de diferenças finitas foram utilizados para discretização do domínio do raio da partícula de biocatalisador (r) para o modelo IDR, como representado na Figura A-2. Para discretização das equações de balanço na fase *bulk*, Equação 12, foi empregado o esquema de diferenças regressivas (Equação A-1) na derivada em relação a r , resultando na Equação A-4.

Figura A-2 - Representação da discretização do domínio da partícula de biocatalisador para o modelo IDR



Fonte: Elaborado pelo autor.

$$\frac{\partial C_{b,x}}{\partial t} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,x} \frac{\partial C_x}{\partial r} \Big|_{r=R} \quad (12)$$

$$\frac{dC_x^n}{dt} = -\frac{3V_c}{RV_b} D_{e,x} \frac{(C_x^n - C_x^{n-1})}{\Delta r} \quad (A-4)$$

Nos balanços da fase sólida, Equação 14, os esquemas de diferenças centrais de primeira (Equação A-2) e segunda ordem (Equação A-3) foram empregados nas derivadas do primeiro e segundo termos do lado direito da equação, respectivamente, obtendo a Equação A-5 para os pontos internos do domínio de discretização.

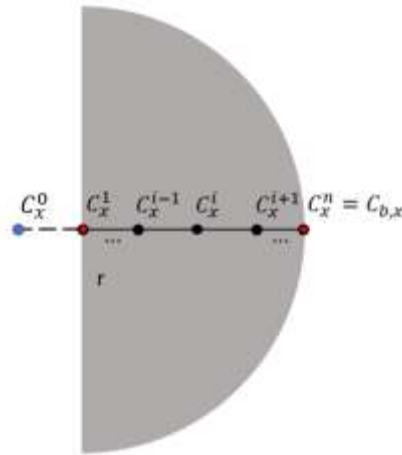
$$\frac{\partial C_x}{\partial t} = D_{e,x} \left(\frac{2}{r} \frac{\partial C_x}{\partial r} + \frac{\partial^2 C_x}{\partial r^2} \right) \pm v \quad (14)$$

$$\frac{dC_x^i}{dt} = D_{e,x} \left[\left(\frac{C_x^{i+1} - C_x^{i-1}}{r^i \Delta r} \right) + \left(\frac{C_x^{i+1} - 2C_x^i + C_x^{i-1}}{\Delta r^2} \right) \right] \pm v^i \quad (A-5)$$

Em $r = 0$, uma condição de contorno de simetria é definida, ou seja, o gradiente de concentração nesse ponto discreto é nulo. Para que essa condição seja atendida, é necessário considerar um ponto imaginário (C_x^0) fora do domínio do biocatalisador, como ilustrado na

Figura A-3, para incorporar a condição de contorno ao problema.

Figura A-3 - Representação da discretização do domínio da partícula de biocatalisador para o modelo IDR considerando o ponto imaginário em $r = 0$



Fonte: Elaborado pelo autor.

Reescrevendo a Equação A-5 em $r = 0$, tem-se a Equação A-6.

$$\frac{dC_x^1}{dt} = D_{e,x} \left[\left(\frac{C_x^2 - C_x^0}{r^1 \Delta r} \right) + \left(\frac{C_x^2 - 2C_x^1 + C_x^0}{\Delta r^2} \right) \right] \pm v^1 \quad (\text{A-6})$$

O gradiente de C_x em $r = 0$ pode ser representado pela Equação A-7, empregando-se o esquema de diferenças centrais de primeira ordem.

$$\frac{dC_x}{dr} = \frac{C_x^2 - C_x^0}{2\Delta r} \quad (\text{A-7})$$

Isolando o ponto imaginário C_x^0 , tem-se a Equação A-8.

$$C_x^0 = C_x^2 - 2\Delta r \frac{dC_x}{dr} \quad (\text{A-8})$$

Sabendo que o gradiente de C_x em $r = 0$ é nulo (Equação A-9), devido à condição

de contorno de simetria, e substituindo essa informação na Equação A-8, tem-se a Equação A-10.

$$\frac{dC_x}{dr} = 0 \quad (\text{A-9})$$

$$C_x^0 = C_x^2 \quad (\text{A-10})$$

Logo, substituindo a Equação A-10 na Equação A-6, obtém-se a Equação A-11, que pode ser simplificada no formato da Equação A-12.

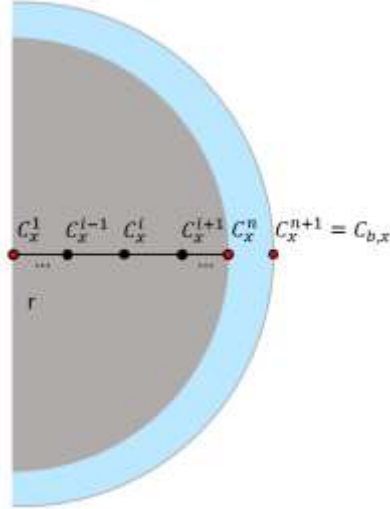
$$\frac{dC_x^i}{dt} = D_{e,x} \left[\left(\frac{C_x^2 - C_x^1}{r^1 \Delta r} \right) + \left(\frac{C_x^2 - 2C_x^1 + C_x^0}{\Delta r^2} \right) \right] \pm v^1 \quad (\text{A-11})$$

$$\frac{dC_x^i}{dt} = 2D_{e,x} \left(\frac{C_x^2 - C_x^1}{\Delta r^2} \right) \pm v^1 \quad (\text{A-12})$$

Assim, as Equações A-4, A-5 e A-12 foram empregadas como constituintes do sistema de equações diferenciais ordinárias (EDO's) para simulação da síntese de butanoato de etila por N435 através do modelo IDR.

Para o modelo EIDR, a mesma lógica de dedução foi utilizada, diferindo essencialmente na representação da condição de fluxo definida em $r = R$, como apresentado na Figura A-4.

Figura A-4 - Representação da discretização do domínio da partícula de biocatalisador para o modelo EIDR



Fonte: Elaborado pelo autor.

Em $r = R$, a Equação A-5 assume o formato da Equação A-13.

$$\frac{dC_x^n}{dt} = D_{e,x} \left[\left(\frac{C_x^{n+1} - C_x^{n-1}}{r^i \Delta r} \right) + \left(\frac{C_x^{n+1} - 2C_x^n + C_x^{n-1}}{\Delta r^2} \right) \right] \pm v^n \quad (\text{A-13})$$

O gradiente de C_x em $r = R$ pode ser representado pela Equação A-14.

$$\frac{dC_x}{dr} = \frac{C_x^{n+1} - C_x^{n-1}}{2\Delta r} \quad (\text{A-14})$$

Isolando o termo C_x^{n+1} (Equação A-15) e considerando o gradiente de concentração equivalente ao fluxo de material convectivo (Equação A-16), obtém-se a Equação A-17.

$$C_x^{n+1} = C_x^{n-1} + 2\Delta r \frac{dC_x}{dr} \quad (\text{A-15})$$

$$D_{e,x} \frac{dC_x}{dr} = k_{f,x} (C_{b,x} - C_{s,x}) \quad (\text{A-16})$$

$$\frac{dC_x}{dr} = \frac{k_{f,x}}{D_{e,x}} (C_{b,x} - C_{s,x}) \quad (\text{A-17})$$

Substituindo a Equação A-17 em A-15, tem-se a Equação A-18.

$$C_x^{n+1} = C_x^{n-1} + 2\Delta r \frac{k_{f,x}}{D_{e,x}} (C_x^{n+1} - C_x^n) \quad (\text{A-18})$$

Por fim, substituindo a Equação A-18 em A-13, obtém-se a Equação A-19, que pode ser simplificada no formato da Equação A-20, sendo a última empregada para representação da condição de contorno de especificação do fluxo convectivo na superfície do biocatalisador no modelo EIDR.

$$\begin{aligned} \frac{dC_x^n}{dt} = D_{e,x} \left[\left(\frac{C_x^{n-1} + 2\Delta r \frac{k_{f,x}}{D_{e,x}} (C_x^{n+1} - C_x^n) - C_x^{n-1}}{r^i \Delta r} \right) \right. \\ \left. + \left(\frac{C_x^{n-1} + 2\Delta r \frac{k_{f,x}}{D_{e,x}} (C_x^{n+1} - C_x^n) - 2C_x^n + C_x^{n-1}}{\Delta r^2} \right) \right] \pm v^n \quad (\text{A-19}) \end{aligned}$$

$$\frac{dC_x^n}{dt} = 2 \left[k_{f,x} (C_x^{n+1} - C_x^n) \left(\frac{1}{R} + \frac{1}{\Delta r} \right) + \frac{D_{e,x}}{\Delta r^2} (C_x^{n-1} - C_x^n) \right] \pm v^n \quad (\text{A-20})$$