



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

ANDRÉA DA SILVA PEREIRA

**MODELAGEM E SIMULAÇÃO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ETANOL A
PARTIR DO SUCO DO PEDÚNCULO DE CAJU, VISANDO A OTIMIZAÇÃO DAS
CONDIÇÕES OPERACIONAIS**

FORTALEZA

2016

ANDRÉA DA SILVA PEREIRA

MODELAGEM E SIMULAÇÃO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ETANOL A
PARTIR DO SUCO DO PEDÚNCULO DE CAJU, VISANDO OTIMIZAÇÃO DAS
CONDIÇÕES OPERACIONAIS

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal Do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Luciana Rocha Barros Gonçalves.

Coorientador: Prof. Dr. Samuel Jorge Marques Cartaxo

FORTALEZA
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P489m Pereira, Andréa da Silva.

Modelagem e simulação do processo de produção de etanol a partir do suco do pedúnculo do caju, visando a otimização das condições operacionais / Andréa da Silva Pereira. – 2016.

167 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Fortaleza, 2016.

Orientação: Prof. Dr. Luciana Gonçalves Rocha.

Coorientação: Prof. Dr. Samuel Jorge Marques Cartaxo.

1. Etanol. 2. Modelo mecanístico. 3. Modelo híbrido. 4. Otimização. 5. Ampliação de escala. I. Título.

CDD 660

ANDRÉA DA SILVA PEREIRA

MODELAGEM E SIMULAÇÃO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ETANOL A
PARTIR DO SUCO DO PEDÚNCULO DE CAJU, VISANDO OTIMIZAÇÃO DAS
CONDIÇÕES OPERACIONAIS

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal Do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química.

Aprovada em 08 de agosto de 2016.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Luciana Rocha Barros Gonçalves
Orientador – DEQ/UFC

Prof. Dr. Samuel Jorge Marques Cartaxo
Coorientador – DEQ/UFC

Prof. Dr. Álvaro Daniel Tales Pinheiro
Examinador externo – DEQ/UFERSA

Prof. Dr. André Casimiro de Macedo
Examinador interno – DEQ/UFC

*“Ninguém é tão grande que não possa aprender,
nem tão pequeno que não possa ensinar.”*

(Esopo)

*“A mente que se abre a uma nova ideia jamais
voltará ao seu tamanho original.”*

(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar meus passos durante a vida, dando-me saúde, coragem, equilíbrio, determinação e força para buscar meus sonhos.

Aos meus pais, Edinelton e Aurineide, pela educação, dedicação e amor incondicional oferecidos a mim. A meu irmão, Anderson, por todo carinho e proteção de irmão mais velho. Ao meu sobrinho amado, Felipe, que preenche meu coração de felicidade e me fortalece apenas com o sorriso. À todos vocês, minha família, agradeço por acreditarem no meu potencial.

Ao meu namorado e amigo, Leandro, que soube escutar com muita paciência todos os meus questionamentos e compreender quando me silenciava, você é realmente incrível. Além de tudo, ajudou-me sempre que solicitado, trazendo-me paz, companheirismo, apoio, carinho e amor. Muito obrigada por todo incentivo e entusiasmo com minhas conquistas.

A minha orientadora, professora Luciana, que desde o primeiro contato foi sempre muito atenciosa, compreendendo e estimulando minhas habilidades, permitindo-me seguir meu ritmo e apoiando minhas escolhas, realmente não tenho palavras para agradecer. Devo confessar minha total felicidade diante do entusiasmo que a senhora demonstra com este trabalho. Obrigada por ter investido e acreditado em mim, mesmo com minha entrada tardia ao grupo.

Ao professor e amigo Samuel, a quem agradeço e responsabilizo por minhas afinidades acadêmicas, que tornaram possíveis a realização desse trabalho. Lembro-me com muito carinho do meu tempo como “petiana” e também do seu encorajamento para que eu seguisse no mestrado, sempre mostrando-me que o caminho pode ser longo, mas ao mesmo tempo muito gratificante para quem tem amor pela profissão. Agradeço pelos conselhos, pelas boas conversas e pela coorientação.

Ao professor André Casimiro e a professora Valdez, que se mostraram sempre prontos à ajudar. Ao professor Fabiano, que contribuiu diretamente, tirando-me dúvidas e fazendo-me enxergar novas possibilidades. Agradeço ao professor Fabiano e ao professor Álvaro por aceitarem o convite para contribuírem ainda mais com este trabalho.

Aos amigos queridos, Madson, Maria e Neto, com quem compartilho ideias, desejos, opiniões e a mais sincera amizade. Todos vocês são a família que Deus me permitiu escolher, obrigada pelo incentivo e pelas conversas, cada um influenciou, à sua maneira, para que este momento acontecesse.

RESUMO

O etanol é o biocombustível de maior relevância para o mercado brasileiro e sua crescente demanda provoca o interesse por matérias-primas alternativas à cana-de-açúcar. Diante disso, o objetivo principal desse trabalho é propor um modelo matemático para representar o processo de fermentação alcoólica do suco do pedúnculo de caju a partir da levedura *Saccharomyces Cerevisiae*, possibilitando verificar o comportamento dos perfis de concentração de célula, açúcar e etanol, otimizando as condições operacionais que interferem na reação para *scale-up* do fermentador. Para isso, foram utilizados os dados experimentais de Pinheiro (2015), com variações de concentração inicial de célula de 3 a 10 g/L, temperatura de 26 a 42°C, concentração inicial de açúcares totais de 70 a 170 g/L e agitação de 80 a 800 rpm. A princípio, foi realizado um tratamento dos dados a partir de regressões e interpolações, buscando suavizar os ruídos das medidas experimentais e aumentar a quantidade de dados para o treinamento de redes neurais artificiais (RNAs). Foram propostos cinco modelos matemáticos: quatro mecanísticos e um híbrido que combina equações de balanço de massa com RNAs. O Modelo 1 considera que o consumo de substrato para manutenção celular é desprezível e que todas as células presentes no meio são viáveis, utilizando o modelo cinético de Ghose & Tyagi. O Modelo 2 se diferencia pela hipótese de morte e manutenção celular e o Modelo 3 deriva do modelo anterior com a inclusão da influência da temperatura. O Modelo 4 acrescenta a influência da concentração inicial de célula e agitação pela hipótese de um filme estagnado em torno da célula de *S. cerevisiae* floculante. Todos os parâmetros foram determinados pelo método não-linear de mínimos quadrados de Marquardt. Para o modelo híbrido (Modelo 5), as velocidades específicas são preditas pelas RNAs com função da concentração instantânea de célula e substrato, temperatura e agitação. Os resultados das simulações foram avaliados estatisticamente pelo desvio residual padrão (RSD), teste F modificado e intervalo de confiança, além da validação frente um novo ensaio. Observou-se que, dentre os modelos estudados, os Modelos 4 e 5 foram os mais abrangentes e adequados para o processo. Os modelos foram otimizados pelo método de enxame de partícula, indicado para buscas globais, baseados nos parâmetros de eficiência e produtividade da reação. Em seguida, realizou-se o *scale-up* do processo para um reator de 14 litros, utilizando o critério de P/V. A produtividade obtida foi de $6 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ nas condições operacionais ótimas de 143.2 g/L de concentração inicial de substrato, 36.5 °C de temperatura, 6.5 g/L de concentração inicial de célula e 80 rpm de agitação.

Palavras-chave: Fermentação alcoólica. Modelo matemático. Otimização.

ABSTRACT

Ethanol is the most relevant biofuel in the Brazilian market, its rising demand generates interest in using other raw materials as an alternative to sugar cane. Therefore, the main purpose of the present work is to study a mathematical model for the process of cashew apple juice alcoholic fermentation by *Saccharomyces Cerevisiae*, making possible to check cells, sugar and ethanol concentration profiles, to optimize reaction operation conditions interfering in the reaction for scaling up the fermenter. For this purpose, laboratory experiments data of Pinheiro (2015) were used with variations of the initial cell concentration from 3 to 10 g/L parameters were varied as follows: initial cell concentration from 3 to 10 g/L, temperature from 26 to 42 °C, initial total sugar concentration from 70 to 170 g/L and stirring speed from 80 to 800 RPM. Initially, regressions and interpolations were performed to treat data, seeking for smoothing experimental data noise and increasing the amount of data for training artificial neural networks (NNAs) and to estimate parameters. Five mathematical models were proposed: four mechanistic unstructured non segregated models and one hybrid model that combine NNAs and mass balances. Model 1 considers negligible the substrate consumption due to cells maintenance and that all cells are viable, using the Ghose & Tyagi's kinetic model. Model 2 differs by the hypothesis of death and cell maintenance, Model 3 derives from Model 2 with inclusion of the temperature. Model 4 adds the influence of initial concentration of cell and agitation by the hypothesis of a stagnant film surrounding the cells of flocculant *S. cerevisiae*. The set of parameters was determined by damped least-squares (DLS) method proposed by Marquardt. For the hybrid model (Model 5), the specific rates are predicted by NNAs as function of instant cell and substrate concentrations, temperature and stirring speed. Simulation results were statistically assessed by residual standard deviations (RSD), modified F-test and confidence interval (CI), apart from being validated by another experiment run used neither to estimate the set of parameters nor to train NNAs. Among the models studied, it was observed that the Model 4 and 5 were the most general and suitable in the studied process. The models were optimized by the bio-inspired method of particle swarm, indicated for global searches, based on the parameters efficiency and productivity of the reaction. After that, the scale up of the process for a 14 liters reactor was performed using the P/V criteria. The productivity obtained was 6 gL⁻¹h⁻¹ with the following optimal conditions: initial substrate concentration of 143.2 gL⁻¹, initial cell concentration of 6.5 gL⁻¹, temperature of 36.5 °C and stirring speed of 80 rpm.

Keywords: Alcoholic fermentation. Mathematical model. Optimization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Esquema simplificado da formação de compostos em processos fermentativos..	26
Figura 2.2 - Bioquímica simplificada da fermentação alcoólica	27
Figura 2.3 - Representação esquemática das contribuições entálpicas e entrópicas ao crescimento celular.....	28
Figura 2.4 - Representação esquemática das classes de modelos.....	32
Figura 2.4 - Processamento do sinal em um neurônio de uma RNA.	38
Figura 2.6 - Redes feedforward: (a) única camada e (b) múltiplas camadas.....	39
Figura 2.7 - Rede recursiva.....	39
Figura 2.8 - Arquitetura de uma RNA do tipo retropropagação.....	42
Figura 2.9 - Classificação dos métodos de otimização.....	46
Figura 2.10 - Fluxograma do PSO.....	50
Figura 2.11 - Topologias: (a) local e (b) global.....	51
Figura 3.1 - Representação esquemática do Biorreator Tec-Bio 1,5.....	54
Figura 3.2 - Diagrama do algoritmo implementado para o tratamento dos dados.	58
Figura 4.1 - Dados experimentais e Simulados para o teste 2: (●) Biomassa (Massa seca - g.L ⁻¹); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L ⁻¹); (●) Concentração de etanol (g.L ⁻¹); (—) Modelo 1, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.	66
Figura 4.2 - Dados experimentais e Simulados para o teste 4: (●) Biomassa (Massa seca - g.L ⁻¹); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L ⁻¹); (●) Concentração de etanol (g.L ⁻¹); (—) Modelo 1, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.	67
Figura 4.3 - Dados experimentais e Simulados para o teste 1: (●) Biomassa (Massa seca - g.L ⁻¹); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L ⁻¹); (●) Concentração de	

- etanol (g.L^{-1}); (—) Modelo 2, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais. 71
- Figura 4.4 - Dados experimentais e Simulados para o teste 6: (●) Biomassa (Massa seca - g.L^{-1}); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (●) Concentração de etanol (g.L^{-1}); (—) Modelo 2, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais. 72
- Figura 4.5 - Validação do Modelo 2 utilizando teste 8: (●) Biomassa (Massa seca - g.L^{-1}); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (●) Concentração de etanol (g.L^{-1}); (—) Modelo 2, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais. 75
- Figura 4.6 - Equação de Arrhenius modificada para o efeito da temperatura: (—) Máxima taxa específica de crescimento celular (h^{-1}); (—) Produção de etanol baseada no crescimento celular (g.g^{-1}); (—) Crescimento de célula baseado no consumo de açúcar totais (g.g^{-1}); (●) Média dos dados experimentais; (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais. 78
- Figura 4.8 - (—) Produção de etanol baseada no consumo de açúcar para o efeito da temperatura (g.g^{-1}); (●) Média dos dados experimentais; (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais. 79
- Figura 4.9 - Dados experimentais e Simulados para o teste 1: (●) Biomassa (Massa seca - g.L^{-1}); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (●) Concentração de etanol (g.L^{-1}); (—) Modelo 3, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais. 81
- Figura 4.10 - Dados experimentais e Simulados para o teste 8: (●) Biomassa (Massa seca - g.L^{-1}); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (●) Concentração de etanol (g.L^{-1}); (—) Modelo 3, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais. 82
- Figura 4.11 - Validação do Modelo 3 utilizando teste 10: (●) Biomassa (Massa seca - g.L^{-1}); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (●) Concentração de etanol (g.L^{-1}); (—) Modelo 2, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais. 84

Figura 4.12 - Superfície de resposta do Modelo 3 para o efeito da concentração inicial de substrato e da temperatura no tempo da fermentação, sendo a concentração inicial de célula e a agitação fixadas em 4 g/L e 150 rpm.	85
Figura 4.13 - Superfície de resposta do Modelo 3 para o efeito da concentração inicial de substrato e da temperatura na produção de etanol, sendo a concentração inicial de célula e a agitação fixadas em 4 g/L e 150 rpm: (—) Modelo 3; (●) Dados experimentais; (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.....	86
Figura 4.14 - Superfície de resposta do Modelo 3 para o efeito da concentração inicial de substrato e temperatura na % (v/v) de etanol na fermentação, sendo a concentração inicial de célula e a agitação fixadas em 4 g/L e 150 rpm.	87
Figura 4.15 - Superfície de resposta do Modelo 3 para o efeito da concentração inicial de substrato e temperatura na eficiência de etanol na fermentação, sendo a concentração inicial de célula e a agitação fixadas em 4 g/L e 150 rpm.	88
Figura 4.16 - Superfície de resposta do Modelo 3 para o efeito da concentração inicial de substrato e temperatura na produtividade de etanol na fermentação, sendo a concentração inicial de célula e a agitação fixadas em 4 g/L e 150 rpm.	88
Figura 4.17 - Concentração de substrato em torno da célula.....	89
Figura 4.18 - Resistências em série.	91
Figura 4.19 - Eficiência média de transporte de substrato pela camada limite em função da concentração celular: (●) Estimativa da eficiência para cada ensaio.....	96
Figura 4.20 - Dados experimentais e Simulados para o teste 1: (●) Biomassa (Massa seca - g.L ⁻¹); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L ⁻¹); (●) Concentração de etanol (g.L ⁻¹); (—) Modelo 4, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.	98
Figura 4.21 - Dados experimentais e Simulados para o teste 14: (●) Biomassa (Massa seca - g.L ⁻¹); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L ⁻¹); (●) Concentração de etanol (g.L ⁻¹); (—) Modelo 4.....	99

Figura 4.22 - Validação do Modelo 4 utilizando teste 18: (●) Biomassa (Massa seca - g.L ⁻¹); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L ⁻¹); (●) Concentração de etanol (g.L ⁻¹); (—) Modelo 4.	101
Figura 4.23 - Diagrama do Modelo 5.	104
Figura 4.24 - Simulações das RNAs para o Modelo 5: (●) Comparação entre as previsões das RNAs e os dados pseudo-experimentais; (—) Reta bissetriz, (---) Erro específico de 10%.	106
Figura 4.25 - Dados experimentais e Simulados para o teste 4: (●) Biomassa (Massa seca - g.L ⁻¹); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L ⁻¹); (●) Concentração de etanol (g.L ⁻¹); (—) Modelo híbrido (Modelo 5), (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.	108
Figura 4.26 - Dados experimentais e Simulados para o teste 16: (●) Biomassa (Massa seca - g.L ⁻¹); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L ⁻¹); (●) Concentração de etanol (g.L ⁻¹); (—) Modelo híbrido (Modelo 5), (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.	109
Figura 4.27 - Validação do Modelo 4 para influência da concentração inicial de açúcares, temperatura, concentração inicial de biomassa e agitação: (●) Biomassa (Massa seca - g.L ⁻¹); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L ⁻¹); (●) Concentração de etanol (g.L ⁻¹); (—) Modelo 4, (---) Intervalo de confiança de 90% para os dados experimentais.	111
Figura 5.1 - Diagrama da otimização do processo.	117
Figura 5.2 - Simulação do Modelo 4 para otimização da função mono-objetivo F ₂ ou multiobjetiva F ₃ : (—) Concentração de célula (g.L ⁻¹); (—) Concentração de açúcares redutores totais (g.L ⁻¹); (—) Concentração de etanol (g.L ⁻¹).	119
Figura 5.3 - Simulação do Modelo 5 para otimização da função objetivo F ₁ : (—) Concentração de célula (g.L ⁻¹); (—) Concentração de açúcares redutores totais (g.L ⁻¹); (—) Concentração de etanol (g.L ⁻¹).	120
Figura 5.4 - Simulação do Modelo 5 para otimização da função objetivo F ₂ : (—) Concentração de célula (g.L ⁻¹); (—) Concentração de açúcares redutores totais (g.L ⁻¹); (—) Concentração de etanol (g.L ⁻¹).	121

Figura 5.5 - Simulação do Modelo 5 para otimização da função objetivo F_3 : (—) Concentração de célula (g.L^{-1}); (—) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (—) Concentração de etanol (g.L^{-1}).	122
Figura 6.1 - Esquema com dimensões do biorreator encamisado de 1L utilizado nos experimentos.	126
Figura 6.2 - Esquema com dimensões do biorreator encamisado de 14L utilizado nos experimentos.	127
Figura 6.3 - Simulações dos modelos para (a) reator 1 e (b) reator 2: (●) Dados experimentais; (—) Modelo 4: modelo mecanístico; (---) Modelo 5: modelo híbrido.....	130
Figura 6.4 - Perfil da velocidade específica de transferência de massa para (a) reator 1 e (b) reator 2.....	131
Figura 6.5 - Simulação do modelo mecanístico para a ampliação de escala com (a) μ_{mix} estimado para o reator 1 e (b) μ_{mix} estimado para o reator 2: (●) Biomassa (Massa seca - g.L^{-1}); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (●) Concentração de etanol (g.L^{-1}); (—) Modelo mecanístico (Modelo 4), (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.	132
Figura 6.6 - Simulação do Modelo 4 para otimização do reator de 14 L: (—) Concentração de célula (g.L^{-1}); (—) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (—) Concentração de etanol (g.L^{-1}).	134
Figura II.1 - Simulação do Modelo 2 para os valores limite de concentração inicial de substrato: (a) $S_0 = 70\text{g/L}$ e (b) $S_0 = 170\text{ g/L}$. (●) Dados experimentais; (—) Modelo de Monod; (—) Modelo de Andrews; (—) Modelo de Ghose & Tyagi.	153
Figura II.2 - Validação do Modelo 2 utilizando teste 8: (●) Dados experimentais; (—) Modelo de Monod; (—) Modelo de Andrews; (—) Modelo de Ghose & Tyagi.	154
Figura II.3 - Efeito da temperatura para o modelo cinético de Andrews.	155
Figura II.4 - Efeito da temperatura para o modelo cinético de Ghose & Tyagi: (a) influência do substrato para $P = 50\text{ g/L}$ e (b) influência do produto para $S = 100\text{ g/L}$	155

Figura II.5 - Simulação do Modelo 3 para os valores limite de temperatura: (a) $T = 26\text{ }^{\circ}\text{C}$ e (b) $T = 42\text{ }^{\circ}\text{C}$. (●) Dados experimentais; (—) Modelo de Andrews; (—) Modelo de Ghose & Tyagi.	156
Figura II.6 - Validação do Modelo 3 utilizando teste 10: (●) Dados experimentais; (—) Modelo de Andrews; (—) Modelo de Ghose & Tyagi.	157
Figura III.1 - Comparação da simulação com os dados experimentais da fermentação do suco de caju utilizando <i>S. cerevisiae</i> : (●) Biomassa (Massa seca - g.L^{-1}); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (●) Concentração de etanol (g.L^{-1}); (—) Modelo 1: modelo sem morte e manutenção celular.	158
Figura III.2 - Comparação da simulação com os dados experimentais da fermentação do suco de caju utilizando <i>S. cerevisiae</i> : (●) Biomassa (Massa seca - g.L^{-1}); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (●) Concentração de etanol (g.L^{-1}); (—) Modelo 2: influência da concentração inicial de substrato.	159
Figura III.3 - Comparação da simulação com os dados experimentais da fermentação do suco de caju utilizando <i>S. cerevisiae</i> : (●) Biomassa (Massa seca - g.L^{-1}); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (●) Concentração de etanol (g.L^{-1}); (—) Modelo 3: influência da temperatura.	161
Figura III.4 - Comparação da simulação com os dados experimentais da fermentação do suco de caju utilizando <i>S. cerevisiae</i> : (●) Biomassa (Massa seca - g.L^{-1}); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (●) Concentração de etanol (g.L^{-1}); (—) Modelo 4: influência da concentração inicial de célula e agitação.	164
Figura III.5 - Comparação da simulação com os dados experimentais da fermentação do suco de caju utilizando <i>S. cerevisiae</i> : (●) Biomassa (Massa seca - g.L^{-1}); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (●) Concentração de etanol (g.L^{-1}); (—) Modelo 5: modelo híbrido.	167

LISTA DE QUADROS

Quadro 2.1 - Estruturação em nível populacional.	33
Quadro 2.2 - Estruturação em nível celular.	33
Quadro 2.3 - Combinação estrutura a nível populacional e celular.....	33
Quadro 2.4 - Estudos que utilizam modelagem híbrida e seus autores.	43
Quadro 2.5 - Teste F de hipótese de variâncias iguais.	44
Quadro 2.6 - Vantagens e desvantagens dos métodos de otimização não determinísticos.	47
Quadro 4.1 - Modelos matemáticos propostos para o Modelo 1.....	64
Quadro 4.2 - Modelos matemáticos propostos para o Modelo 2.....	69
Quadro 4.3 - Modelo matemático proposto para o Modelo 3.	76
Quadro I.1 - Teste 4: concentração e velocidade específica.....	146
Quadro I.2 - Teste 16: concentração e velocidade específica.....	147

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Tipos de matéria prima e seus carboidratos.	24
Tabela 2.2 - Modelos cinéticos propostos para a fermentação alcoólica, suas condições e autores.	36
Tabela 2.3 - Identificação de termos do PSO.	48
Tabela 3.1 - Matriz das condições operacionais.	53
Tabela 3.2 - Coeficientes de determinação para as perfis de concentração.	56
Tabela 3.3 - Erro experimental médio para a fermentação alcoólica.	56
Tabela 3.4 - Matriz das condições operacionais normalizadas.	57
Tabela 4.1 - Modelos cinéticos utilizados para predição da velocidade específica.	61
Tabela 4.2 - Desvio padrão residual e erro aparente com influência da concentração inicial de substrato.	62
Tabela 4.3 - Desvio padrão residual e erro aparente com influência da temperatura.	62
Tabela 4.4 - Parâmetros cinéticos do modelo de Ghose & Thyagi.	64
Tabela 4.5 - Análise estatística do testes para o Modelo 1: modelo sem morte e manutenção celular.	65
Tabela 4.6 - Análise estatística média para o Modelo 1.	68
Tabela 4.7 - Parâmetros estimados para o modelo que considera morte celular.	70
Tabela 4.8 - Análise estatística do testes para o Modelo 2: modelo com morte e manutenção celular.	73
Tabela 4.9 - Erro relativo ao final da fermentação para o Modelo 2.	73
Tabela 4.10 - Análise estatística média para o Modelo 2.	75
Tabela 4.11 - Valores das constantes para a equação de Arrhenius modificada.	78
Tabela 4.12 - Análise estatística do testes para o Modelo 3.	79
Tabela 4.13 - Erro relativo ao final da fermentação para o Modelo 3.	82
Tabela 4.14 - Análise estatística média para o Modelo 3.	83

Tabela 4.15 - Parâmetros estimados para o modelo que considera morte celular.....	94
Tabela 4.16 - Análise estatística do testes para o modelo com influência da agitação.	94
Tabela 4.17 - Parâmetros estimados para o Modelo 4.....	95
Tabela 4.18 - Análise estatística do testes para o Modelo 4.....	96
Tabela 4.19 - Erro relativo ao final da fermentação para o Modelo 4.....	100
Tabela 4.20 - Análise estatística média para o Modelo 4.....	101
Tabela 4.21 - Arquiteturas das redes neurais para o Modelo 5.	105
Tabela 4.22 - Desvios entre os dados preditos e os dados experimentais para o Modelo 5...	106
Tabela 4.23 - Análise estatística do Modelo 5.....	107
Tabela 4.24 - Erro relativo ao final da fermentação para o Modelo 4.....	110
Tabela 4.25 - Erro experimental aparente médio para o Modelo 5.	112
Tabela 5.1 - Limites laterais do espaço de busca.	116
Tabela 5.2 - Parâmetros para o PSO.....	117
Tabela 5.3 - Valores máximos das funções objetivo.....	117
Tabela 5.4 - Condições operacionais ótimas para cada função objetivo.	118
Tabela 6.1 - Condições operacionais para os reatores 1 e 2.....	129
Tabela 6.2 - Estimativa dos parâmetros da velocidade específica de transferência de massa para os reatores 1 e 2.....	131
Tabela 6.3 - Condições operacionais ótimas para os reatores 1 e 2.	135
Tabela I.1 - Teste 4: dados estimados para concentração e velocidade específica.	148
Tabela I.2 - Teste 16: dados estimados para concentração e velocidade específica.	149
Tabela I.3 - Teste 4: Dados pseudo-experimentais normalizados.....	150
Tabela I.4 - Teste 16: Dados pseudo-experimentais normalizados.....	151
Tabela II.1 - Parâmetros cinéticos estimados para os modelos.....	152
Tabela II.2 – Parâmetros da equação de Arrhenius modificado estimados para os modelos.	152

NOMENCLATURA

ATP	Trifosfato de adenosina
CoA	Coenzima A
D_a	Difusividade de massa
F_{tab}	valor tabelado para o Teste F de Fisher
I_{mix}	velocidade de agitação [rpm]
k	número do neurônio
k_d	velocidade específica de morte celular [h^{-1}]
k_s	coeficiente de transferência de massa
k_{mix}	constante de proporcionalidade da agitação
K_i	concentração de substrato onde se inicia a inibição [g/L]
K_s	concentração de substrato limitante [g/L]
m_s	velocidade específica da manutenção celular [h^{-1}]
n	número de pontos experimentais
n_r	número de repetições para o mesmo ensaio
n_v	número de variáveis
P	concentração de produto [g/L]
$P_{máx}$	concentração máxima de produto para inibir o crescimento microbiano [g/L]
P_i	fosfato inorgânico
r_s	velocidade instantânea de consumo do substrato [g/L.h]
r_p	velocidade instantânea de formação do produto [g/L.h]
r_x	velocidade instantânea de crescimento celular [g/L.h]
R_{mix}	resistência para transferência de massa [h]
R_c	resistência para reação [h]
S	concentração de substrato livre [g/L]
S^*	concentração de substrato na superfície da [g/L]
t	tempo [h]
t_{tab}	valor tabelado para o teste de t-Student's

x_j	valor do sinal de entrada no neurônio
X	concentração de célula [g/L]
X_d	concentração de célula morta [g/L]
X_v	concentração de célula viável [g/L]
X_T	concentração total de célula [g/L]
\bar{X}	valor médio da variável experimental para os ensaios repetidos
$Y_{X/S}$	conversão substrato em célula
$Y_{P/S}$	conversão substrato em produto
$Y_{P/X}$	conversão de célula em produto
y_i^{cal}	valor predito pelo modelo matemático
y_i^{exp}	valor da variável encontrado experimentalmente
y_k	valor de saída do neurônio
w_{kj}	valor do peso associado ao neurônio

Letras Gregas

β_{mix}	coeficiente de transferência de massa no filme estagnado [$L \cdot g^{-1}h^{-1}rpm^{-n}$]
\mathcal{E}^{exp}	erro experimental aparente
μ	velocidade específica [h^{-1}]
$\mu_{máx}$	velocidade específica máxima de crescimento celular [h^{-1}]
μ_{mix}	velocidade específica de transferência de massa [h^{-1}]
μ_s	velocidade específica de consumo de substrato [h^{-1}]
μ_p	velocidade específica de formação do produto [h^{-1}]
μ_x	velocidade específica de crescimento celular [h^{-1}]
η	eficiência da concentração de substrato na camada limite
δ_s	espessura da camada limite [m]

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	23
2.1	Fermentação Alcoólica.....	23
<i>2.1.1</i>	<i>Micro-organismo</i>	<i>23</i>
<i>2.1.2</i>	<i>Substrato</i>	<i>24</i>
<i>2.1.3</i>	<i>Bioquímica da fermentação alcoólica</i>	<i>25</i>
2.2	Fatores que influenciam a fermentação	29
<i>2.2.1</i>	<i>Concentração inicial de substrato.....</i>	<i>29</i>
<i>2.2.2</i>	<i>Temperatura.....</i>	<i>29</i>
<i>2.2.3</i>	<i>Concentração inicial de micro-organismo</i>	<i>30</i>
<i>2.2.4</i>	<i>Agitação</i>	<i>30</i>
2.3	Modelo matemático de processos fermentativos.....	31
<i>2.3.1</i>	<i>Modelos mecanísticos para fermentação alcoólica</i>	<i>32</i>
<i>2.3.2</i>	<i>Redes neurais artificiais</i>	<i>36</i>
<i>2.3.3</i>	<i>Modelo híbrido para fermentação alcoólica.....</i>	<i>42</i>
<i>2.3.4</i>	<i>Discriminação entre modelos</i>	<i>43</i>
2.4	Otimização dos Processos	45
<i>2.4.1</i>	<i>Enxame de Partículas (PSO)</i>	<i>47</i>
3	DADOS EXPERIMENTAIS	52
3.1	Metodologia para obtenção dos dados experimentais	52
<i>3.1.1</i>	<i>Micro-organismo e meio de cultivo.....</i>	<i>52</i>
<i>3.1.2</i>	<i>Ensaaios experimentais</i>	<i>53</i>
3.2	Tratamento dos dados experimentais	54
<i>3.2.1</i>	<i>Regressão não linear e Interpolação</i>	<i>54</i>
<i>3.2.2</i>	<i>Normalização dos dados pseudo-experimentais</i>	<i>56</i>
<i>3.2.3</i>	<i>Implementação do algoritmo.....</i>	<i>57</i>
4	MODELAGEM MATEMÁTICA	59
4.1	Modelo 1: Modelo Mecanístico.....	62
<i>4.1.1</i>	<i>Metodologia</i>	<i>62</i>
<i>4.1.2</i>	<i>Resultados e discussão.....</i>	<i>64</i>

4.2	Modelo 2: Modelo Mecanístico.....	68
4.2.1	<i>Metodologia</i>	<i>68</i>
4.2.2	<i>Resultados e discussão.....</i>	<i>69</i>
4.3	Modelo 3: Modelo Mecanístico.....	75
4.3.1	<i>Metodologia</i>	<i>75</i>
4.3.2	<i>Resultados e discussão.....</i>	<i>77</i>
4.4	Modelo 4: Modelo Mecanístico.....	89
4.4.1	<i>Metodologia</i>	<i>89</i>
4.4.2	<i>Resultados e discussão.....</i>	<i>94</i>
4.5	Modelo 5: Modelo Híbrido	102
4.5.1	<i>Metodologia</i>	<i>102</i>
4.5.2	<i>Resultados e discussão.....</i>	<i>104</i>
4.6	CONCLUSÃO.....	112
5	OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO	115
5.1	Metodologia.....	115
5.2	Resultados e Discussão	117
5.3	Conclusão	123
6	AMPLIAÇÃO DE ESCALA	124
6.1	Introdução	124
6.2	Metodologia.....	126
6.2.1	<i>Fermentador de 1 L.....</i>	<i>126</i>
6.2.2	<i>Fermentador de 14 L.....</i>	<i>127</i>
6.2.3	<i>Desenvolvimento do critério de scale-up</i>	<i>127</i>
6.2.4	<i>Dados experimentais.....</i>	<i>129</i>
6.3	Resultados e Discussão	129
6.4	Conclusão	135
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	136
	REFERÊNCIAS	138
	ANEXO I: TRATAMENTO DOS DADOS EXPERIMENTAIS.....	146
	ANEXO II: MODELO CINÉTICO	152
	ANEXO III: SIMULAÇÕES.....	158

1. INTRODUÇÃO

O etanol combustível pode ser obtido por rota petroquímica a partir da hidratação do etileno (método mais complexo e obsoleto no Brasil) e por rota bioquímica através da fermentação da biomassa agrícola por ação de micro-organismos. Os biocombustíveis apresentam alguns benefícios, tais como: redução da dependência energética em relação aos combustíveis fósseis, redução das emissões de dióxido de carbono, sem mencionar os benefícios aos agricultores (SOREN, 2011).

Dados recentes mostram o crescente otimismo do setor, pois em 2014 a produção de etanol no Brasil atingiu recorde de 28,6 bilhão de litros produzidos (UNICA, 2015b). Outro incentivo foi o ajuste do teor de etanol presente na gasolina, que passou de 25 para 27%, vigorando desde o dia 16 de fevereiro de 2015 (UNICA, 2015a).

Atualmente, a cana-de-açúcar é a principal matéria-prima utilizada para a produção desse biocombustível, no entanto, o aumento da demanda coloca em dúvida a capacidade do setor de atender o mercado interno e externo (SIQUEIRA, 2011). Sabe-se também que a produção de etanol a partir da cana-de-açúcar já é uma tecnologia madura e sem grandes perspectivas de aumento de rendimento, principalmente na fase industrial (BNDES, 2008).

Pensando nisso, buscou-se utilizar uma matéria-prima alternativa e de baixo custo, o suco extraído do pedúnculo de caju (PINHEIRO, 2011). Para a economia do Nordeste brasileiro, a cultura do caju é de fundamental importância, sendo o Estado do Ceará destaque na exportação de castanha de caju. Dessa forma, observa-se que o potencial do fruto não está sendo totalmente explorado, pois estima-se uma produção de 111,7 mil toneladas de castanha de caju e 1 milhão de toneladas de caju (ADECE, 2013).

Assim, a utilização deste coproduto para a produção de etanol não só trará benefícios econômicos ao processo, mas também resolverá um problema de descarte, agregando valor à cadeia produtiva da castanha e do caju (ROCHA, 2010).

Nessa temática, destaca-se a atuação do Grupo de Pesquisa e Desenvolvimento de Bioprocessos (GPBIO) da Universidade Federal do Ceará (UFC) que possui diversas publicações relacionadas ao tema, podendo-se destacar a produção de etanol de primeira geração (PACHECO *et al.*, 2010; PINHEIRO, 2011; GONDIM *et al.*, 2014) e de segunda geração (ROCHA *et al.*, 2011; RODRIGUES *et al.*, 2011; COSTA *et al.*, 2013; BARROS *et al.*, 2014; COSTA *et al.*, 2015).

De acordo com os estudos reportados, a produção de etanol a partir do suco do pedúnculo do caju aponta possibilidades para a agroindústria. Nesse sentido, faz-se necessário o melhoramento do processo de produção através da otimização das condições operacionais da fermentação. A modelagem matemática do processo permite avaliar por simulações condições não testadas experimentalmente, e dessa forma prever o comportamento dos perfis de concentração inicial de célula, substrato e produto mediante variações das condições da reação, resultando em um modo ótimo de operação do sistema (NIELSEN; VILLADSEN, 1994).

Neste contexto, este trabalho tem como objetivo geral a concepção de um modelo matemático (mecanístico ou híbrido) satisfatório para a fermentação alcoólica a partir do suco do pedúnculo de caju, visando a otimização das suas condições operacionais. Para isso, as seguintes etapas foram realizadas:

- Avaliação da influência das condições operacionais na velocidade da reação (concentração inicial de substrato, temperatura, concentração inicial de célula, agitação);
- Proposição de modelos matemáticos mecanísticos e híbridos na tentativa de prever o comportamento da fermentação alcoólica;
- Estimativa de parâmetros do modelo cinético não estruturado e não segregado, apresentado por Pinheiro (2011), utilizando o método determinístico de mínimos quadrados de Levenberg-Marquardt;
- Predição das velocidades específicas de crescimento celular, consumo de substrato e produção de etanol por redes neurais artificiais;
- Otimização das condições operacionais, com base na maximização da eficiência e da produtividade do processo, pelo método de enxame de partícula.

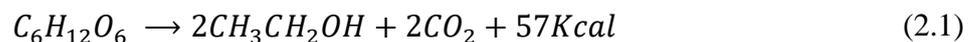
2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

A fermentação pode ser definida como um fenômeno natural que ocorre pela ação de leveduras, bactérias e fungos, possibilitando a transformação da matéria-prima. As enzimas secretadas por esses micro-organismos são indispensáveis para a degradação dessas matérias, utilizadas para realizar a fermentação e para o desenvolvimento celular (LEÃO; AMORIM, 2005).

A fermentação alcoólica é um processo biológico anaeróbico no qual açúcares são convertidos em energia celular com produção de etanol e dióxido de carbono como resíduos metabólicos, catalisado por enzimas. Nesses processos, utilizam-se predominantemente as leveduras como micro-organismos, com o objetivo de produzir energia para realização de suas atividades fisiológicas, crescimento e reprodução, onde o etanol surge meramente como um subproduto desse processo (LIMA; BASSO; AMORIM, 2001).

Gay-Lussac e seus colaboradores propuseram a Equação (2.1) para representar a fermentação alcoólica, onde 1 mol de glicose é convertido em 2 moles de etanol, 2 moles de dióxido de carbono e 57 Kcal de energia (LEHNINGER *et al.*, 1995; KOLB, 2002).



2.1.1 Micro-organismo

As leveduras são os micro-organismos mais utilizados na obtenção do álcool por via fermentativa, sendo o gênero *Saccharomyces* o de maior importância industrial e um dos grupos mais estudados pela comunidade científica (PACHECO, 2010). São micro-organismos facultativos, ou seja, em aerobiose transforma parte do açúcar em biomassa, CO₂ e água e em anaerobiose converte os açúcares em etanol e CO₂ (LIMA *et al.*, 2001).

A fermentação alcóolica ocorre no citoplasma e é realizada para obter energia química necessária à sobrevivência celular, nesse processo existe a formação de etanol e CO₂, já a respiração celular (ciclo de Krebs) ocorre na mitocôndria (AMORIM *et al.*, 1996).

A *Saccharomyces cerevisiae* apresenta propriedades que a diferencia no processo de fermentação alcóolica, sendo estas: rápido crescimento celular, consumo eficiente de glicose,

boa capacidade de produção de etanol, além de possuir uma maior tolerância a eventuais estresses ambientais (PISKUR *et al.*, 2006).

Assim, as leveduras *S. cerevisiae* floculantes apresentam notoriedade por sua característica de formar pequenos flóculos que são depositados no fundo do fermentador ao final da reação. Desse modo, o micro-organismo é separado do meio fermentado, causando uma redução nos custos do processo, uma vez que a centrifugação do meio torna-se desnecessária (GONG *et al.*, 1999). A intensidade da agitação imposta à reação é essencial para manter os flóculos em suspensão durante a fermentação (LEI *et al.*, 2007).

As leveduras floculantes apresentam baixas taxas de crescimento celular, podendo ser atribuído a limitações internas de transferência de massa entre a glicose e o flóculo (VICENTE *et al.*, 1998). No entanto, a taxa crescimento é de importância secundária para o rendimento em etanol (LANDAETA *et al.*, 2013).

Outro fato que deve ser levado em consideração para facilitar a formação de etanol é a concentração de leveduras no biorreator, pois constata-se experimentalmente que maiores concentrações propiciam fermentações mais rápidas, com maior produtividade e controle contra contaminantes, além de restringir o crescimento do próprio micro-organismo. Dessa maneira, faz-se necessário elevadas concentrações de substrato para suportar tal concentração (OLIVEIRA, 2006).

2.1.2 Substrato

A matéria prima para a produção de etanol deve conter açúcar ou outro tipo de carboidrato e sua escolha requer alguns aspectos, tais como volume de produção, rendimento industrial e custo de fabricação (FIGUEIREDO, 2008).

Tabela 2.1 - Tipos de matéria prima e seus carboidratos.

Matéria prima	Tipo de carboidrato
Caju	Glicose + frutose
Cana-de-açúcar e Sorgo	Sacarose
Mandioca, Batata doce e Milho	Amido

A Tabela 2.1 mostra exemplos de matérias-primas potenciais para a produção de etanol e seus respectivos carboidratos. Essas podem ser divididas em duas categorias: diretamente fermentáveis, possuem açúcares que podem ser convertidos diretamente em etanol

(caju, cana-de-açúcar e sorgo) e indiretamente fermentáveis, necessitam ser hidrolisados a açúcares fermentáveis (milho, batata doce e madeira) (LIN e TANAKA, 2006; WESCHENFELDER, 2011).

Apesar de as matérias-primas indiretamente fermentáveis apresentarem rendimentos superiores para o processo, essas também possuem custo operacional mais elevado, pois necessitam transformar o amido em açúcares fermentáveis (WESCHENFELDER, 2011).

Dessa forma, Neelakandan e Usharani (2009), Karuppaya *et al.*, (2010), Rocha (2010) e Pinheiro (2011) avaliaram o potencial do pedúnculo do caju como fonte de matéria-prima na produção de etanol. Para avaliar a utilização industrial de uma certa matéria prima, deve-se considerar a quantidade de carbono disponível, as condições exigidas pela mesma para seu armazenamento, exigências de pré-tratamento para extração do substrato, assim como avaliar qual será o comportamento do meio durante e depois da fermentação (LIMA *et al.*, 2001).

Conforme Pinheiro (2011), a suplementação do suco de caju com sulfatos e fosfatos é desnecessária, pois os resultados mostraram cinéticas bastante similares para a fermentação do suco de caju com ou sem a adição desses nutrientes. Assim, constatou-se que o suco de caju *in natura* já apresenta todos os nutrientes necessários para o crescimento do micro-organismo.

Desse modo, o suco de caju torna-se um substrato de baixo custo que possui composição rica em açúcares redutores, fibras, vitaminas e sais minerais para utilização como meio de cultura na produção de etanol (ROCHA, 2010).

2.1.3 Bioquímica da fermentação alcoólica

A levedura *Saccharomyces* é um micro-organismo de metabolismo aeróbio facultativo, possuindo a habilidade de se ajustar metabolicamente, tanto em condições de aerobiose como de anaerobiose. Na presença do suco de caju (glicose + frutose), a *Saccharomyces cerevisiae* produz, além de etanol e gás carbônico, outros produtos da fermentação alcoólica, como acetaldeído, glicerol, 2,3-butilenoglicol, ácido lático, ácido propiônico, ácido cítrico, ésteres e, em pequenas proporções, álcoois superiores e ácidos carboxílicos (HASHIZUME, 2001).

A Figura 2.1 sintetiza a rota metabólica da produção dos principais compostos em processos fermentativos. Como apresentado, parte do substrato é destinada à geração de produtos secundários da fermentação, os quais são produzidos como consequência da reprodução e manutenção celular. Dessa forma, em condições anaeróbias, a levedura irá formar glicerol e outros subprodutos que diminuem o rendimento total de etanol (LORA e VENTURINI, 2012).

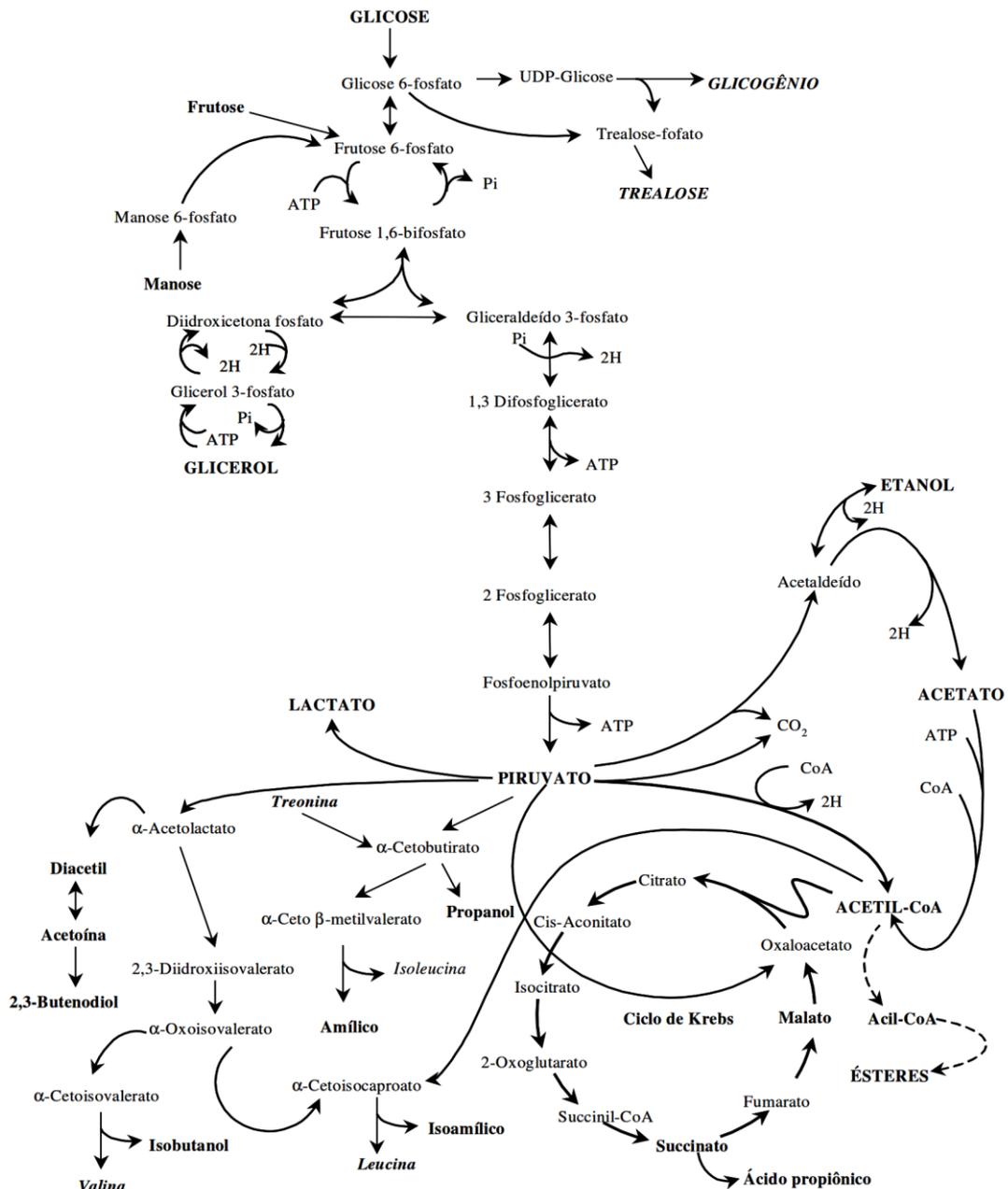


Figura 2.1 - Esquema simplificado da formação de compostos em processos fermentativos.

Fonte: DIAS, 2001.

O glicerol é o composto secundário mais abundante presente na fermentação, desempenhando uma importante função fisiológica, por ser um protetor osmótico. Seu papel fundamental é equilibrar o potencial de oxidação e redução endocelular da levedura e atuar como osmorregulador em resposta a altas pressões osmóticas da solução de açúcar na fermentação (BALLI, 2003). A formação do glicerol pode ocorrer pelo estresse físico (pressão osmótica), químico (presença de sulfito no mosto) e microbiológico (contaminação bacteriana) (BASSO, 1994). Aumentando a concentração inicial de açúcar, a produção de glicerol também aumenta, em função do estresse osmótico (YALÇIN & OZBAS, 2004).

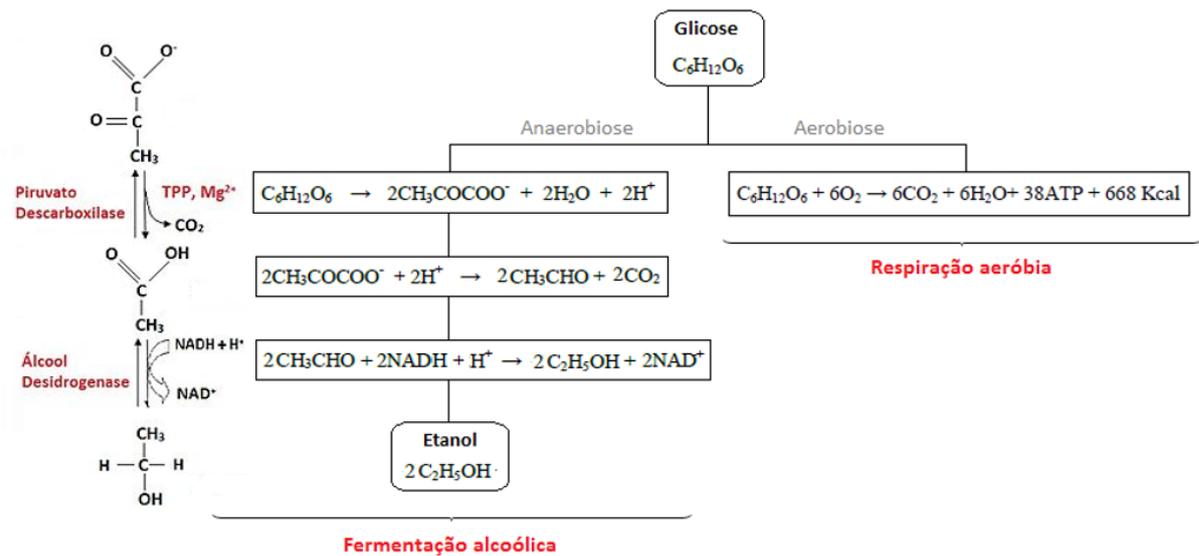


Figura 2.2 - Bioquímica simplificada da fermentação alcoólica

A Figura 2.2 apresenta de forma simplificada as principais etapas da fermentação, onde a glicose é convertida a ácido pirúvico (piruvato) através de uma série de reações catalisadas por enzimas específicas, etapa denominada de glicólise. Na ausência de oxigênio, o ácido pirúvico é descarboxinado formando acetaldeído e dióxido de carbono (MURRAY, 2007; LORA e VENTURINI, 2012), por fim, o acetaldeído é reduzido a etanol. A generalização desse processo pode ser obtida a partir da Equação de Gay-Lussac mostrado abaixo.



Na presença de oxigênio, o ácido pirúvico é oxidado a dióxido de carbono e água, seguindo assim o ciclo de Krebs. A oxigenação em processos de fermentação alcoólica ocorre quando se deseja multiplicar as células de micro-organismo presente no meio ao invés de produzir etanol.

Pela estequiometria da reação, observa-se que 1 mol de glicose (180g) produz 2 moles de etanol (92g), 2 moles de dióxido de carbono (88g) e 57 Kcal de energia. Sabe-se que 5 a 10% do açúcar metabolizado são utilizados pelo micro-organismo para a reprodução e manutenção celular (LORA E VENTURINI, 2012), mas se considerarmos que todo o açúcar seja utilizado na fermentação alcoólica, o rendimento teórico ($Y_{P/S}$) para a produção de etanol é de 0,511 $g_{\text{etanol}}/g_{\text{glicose}}$.

Uma abordagem mais inovadora para o estudo da fermentação é a partir da bioenergética do crescimento, que estuda os fluxos de energias tendo como base fundamental a aplicação das leis termodinâmicas à explicações dos fenômenos físico-químicos que ocorrem nos seres vivos.

Assim como todos os sistemas, os microrganismos não podem criar a energia de que necessitam. Portanto, saber quais são as condições para que um processo seja espontâneo possibilita identificar as reações químicas que têm capacidade para sustentar o crescimento e a atividade microbiana.

A entropia (ΔS) de um sistema indica a probabilidade de um sistema sofrer modificações, quando maior é a entropia, mais próximo este se encontra do equilíbrio (menor é a probabilidade deste sofrer transformações espontâneas e menor será a extensão destas), mas não nos diz qual a quantidade de energia que estas libertam e que é susceptível de ser utilizada. Nesse sentido, o conceito da energia livre de Gibbs (ΔG) representa a quantidade máxima de energia libertada por um processo que ocorre a temperatura e pressão constantes que é utilizável para o crescimento celular.

No caso da célula microbiana em que as alterações de volume são insignificantes a variação de entalpia é próxima da variação de energia interna do sistema ($\Delta H \cong \Delta U$) e pode ser medida nos sistemas biológicos como calor libertado pela respiração celular.

A Figura 2.3 ilustra a relação entre a geração de calor e a energia livre dissipada para o crescimento, sendo a fermentação governada pela entropia do processo (mais próxima do equilíbrio) e a respiração celular governada pela entalpia (Stockar e Liu,). Ou seja, a respiração aeróbia é, termodinamicamente, sempre mais favorável que a respiração anaeróbia e conseqüentemente o rendimento teórico nunca é obtido.

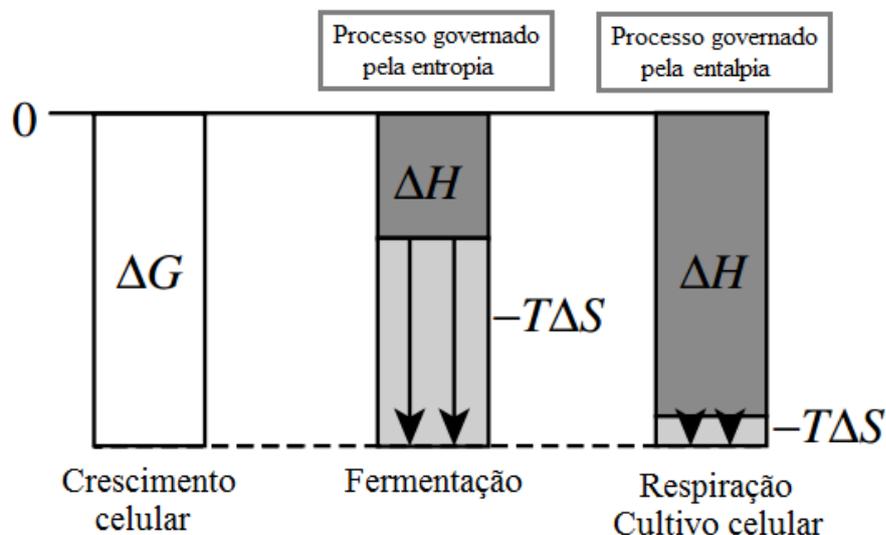


Figura 2.3 – Representação esquemática das contribuições entálpicas e entrópicas ao crescimento celular.

2.2 FATORES QUE INCLUENCIAM A FERMENTAÇÃO

O desempenho do processo fermentativo é afetado pelas condições operacionais, dentre os quais podemos citar: concentração inicial de substrato (açúcar), temperatura, concentração inicial de micro-organismo (*Saccharomyces cerevisiae*) no meio e agitação (LIMA *et al.*, 2001). A seguir, será apresentada uma breve fundamentação que justifica a análise desses fatores, impactando diretamente na eficiência de conversão de substrato em produto.

2.2.1 Concentração inicial de substrato

Em um processo descontínuo (batelada), a quantidade de biomassa alcançada depende da concentração inicial de substrato, que limita o crescimento e a eficiência do micro-organismo em converter o substrato no produto de interesse.

O crescimento celular exibe um comportamento de saturação com o aumento da concentração do substrato, mas em alguns casos a concentração de açúcar pode ser suficientemente grande para extrapolar a região de saturação, passando a ocorrer inibição pelo substrato (FAKRUDDIN *et al.*, 2012).

Para a fermentação alcoólica, observou-se que esse efeito inibidor ocorre para concentrações superiores a 150 g/L (THATIPAMALA *et al.*, 1992) e mais especificamente para a fermentação do suco de caju, os melhores resultados foram encontrados na faixa de 90 a 130 g/L de concentração inicial de substrato, apresentando inibição para concentrações acima de 130 g/L (PINHEIRO *et al.*, 2011).

2.2.2 Temperatura

A temperatura é uma condição operacional de alta relevância, pois impacta diretamente na eficiência e desenvolvimento do processo fermentativo (OLIVEIRA, 2006).

A temperatura ideal para micro-organismos produtores de etanol é considerada em torno de 30°C, pois os danos térmicos provocam desnaturação das proteínas e ácidos nucleicos para células de levedura (WALKER, 1994). O rendimento máximo da fermentação do suco de caju por *S. cerevisiae* foi observado quando a reação foi conduzida a 30 °C, sendo essa considerada a temperatura ótima (DEENANATH *et al.*, 2013). Para a produção industrial de etanol, a temperatura ótima encontra-se na faixa de 26 a 35°C (LIMA *et al.*, 2001).

Para fermentação a 40°C, observou-se um decréscimo significativo nos parâmetros de produtividade, conversão e concentração final de biomassa (ATALA *et al.*, 2001). Esse fato pode ser resultado do rompimento das ligações de hidrogênio e das interações hidrofóbicas.

Assim, conclui-se que o aumento da temperatura desfavorece a fermentação e consequentemente a produção de etanol.

2.2.3 Concentração inicial de micro-organismo

As leveduras possuem múltiplas habilidades metabólicas, podendo alterar a estequiometria da fermentação em resposta a alterações no meio, impactando no rendimento do processo (LIMA, BASSO e AMORIM; 2001). São micro-organismos facultativos, possui capacidade de transformar parte do açúcar em biomassa, CO₂ e água (aerobiose) e em etanol e CO₂ (anaerobiose) (LIMA *et al.*, 2001).

Verificou-se, experimentalmente, que elevadas concentrações de leveduras na reação permitem fermentações mais rápidas, com maior produtividade e controle contra contaminantes, inibindo o crescimento do próprio micro-organismo.

Existe discordância quanto a concentração celular ótima para a produção de etanol. Tahir (2010) determinou 3 % (v/v) de inóculo como sendo valor ótimo para a fermentação, no entanto, Lim *et al.* (2013) utilizou 10 % (v/v) de célula, sendo observado que para concentrações superiores a 12 % (v/v) não apresentam aumento na produção de etanol.

2.2.4 Agitação

A agitação mecânica é responsável pelo grau de dispersão nos reatores do tipo tanque, como no caso de fermentadores, provocando maior taxa de transferência de massa (SHAH *et al.*, 2009).

A intensidade da agitação em um biorreator durante o processo de fermentação é diretamente proporcional à transferência de oxigênio e a produtividade (AHMAD *et al.*, 1994; ALDIGUIER *et al.*, 2004 e TANG *et al.* 2010). As pesquisas divergem quanto à influência da agitação no rendimento da fermentação.

Estudo com variação de agitação na faixa de 200 a 500 rpm para um fermentador de 150 L foi realizado, evidenciando uma agitação ótima de 300 rpm (SHAH *et al.*, 2011). Alguns autores propõem que a intensidade da agitação pouco influencia no rendimento de reação (MOHAN, RAMESH e REDDY, 2012). Esses propõem que o efeito da agitação é somente

manter o gradiente de concentração entre o interior e o exterior das células, resultando no menor tempo de reação.

No entanto, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* portadora do gene FLO5 α é um tipo de micro-organismo floculante, sendo o uso de agitadores durante o processo de suma importância, uma vez que na ausência da agitação, observa-se a floculação do micro-organismo, diminuindo o rendimento da conversão de açúcar em etanol. Contudo, a agitação proporciona uma maior transferência de oxigênio no meio, modificando sua rota metabólica para respiração aeróbica, diminuindo a conversão do substrato em etanol (SHAH *et al.*, 2011).

Dessa maneira, a intensidade da agitação deve ser suficiente para homogeneizar, mas sem causar grande transferência de oxigênio no meio reacional. Para isso, o estudo sobre a agitação mecânica no meio com *S. cerevisiae* floculante faz-se necessário para avaliar sua influência nos parâmetros fermentativos.

2.3 MODELO MATEMÁTICO DE PROCESSOS FERMENTATIVOS

A modelagem matemática de processos fermentativos pode ser definida como a tentativa de representar matematicamente os balanços de massa para cada componente da reação, relacionando às complexas transformações bioquímicas que ocorrem no processo e às velocidades com que acontecem (BONOMI; SCHMIDELL, 2001).

Os processos fermentativos reais apresentam alto grau de complexidade devido as leis físico-químicas, bioquímicas e genéticas envolvidas, uma alternativa é utilizar modelos baseados na idealidade do sistema, que descrevem apenas algumas propriedades do processo (VOLESKY; VOTRUBA, 1992). Para os autores, a elaboração do modelo deve possuir uma compensação entre grau de complexidade e esforço computacional.

Para Sinclair e Kristiansen (1987), um modelo fermentativo deve considerar somente aspectos relevantes nos quais tem-se interesse, possibilitando assim quantificar a taxa de crescimento celular, de consumo de substrato e formação de produtos. Desse modo, o modelo seria um conjunto de relações entre as variáveis de interesse de um sistema em estudo, tendo como objetivo (TOSETTO, 2002):

- i. Prever o comportamento do processo, uma vez que é impossível testar experimentalmente todas as possíveis condições operacionais e escalas do processo em análise;

- ii. Determinar as condições operacionais economicamente ótimas do processo;
- iii. Limitar as condições operacionais do processo;
- iv. Analisar mudanças no processo, visando sua otimização;
- v. Definir a estratégia de controle e a sensibilidade do processo diante de perturbações.

De forma geral, os modelos podem ser divididos em duas classes: modelos mecanísticos e modelos fenomenológicos (VELTEN; FRIEDE, 2009; PERRY & GREEN, 2008; TOWLER & SINNOTT, 2012; SMITH, 2005).

Os modelos mecanísticos, também chamados de caixa branca, são baseados no formalismo matemático, produzindo geralmente equações diferenciais conduzidos pelos princípios fundamentais (conservação de massa, energia ou quantidade de momento), equações de velocidade (expressões cinéticas que descrevem a geração ou consumo de espécies dentro do sistema) e equações termodinâmicas.

Já os modelos fenomenológicos ou caixa-preta são aqueles constituídos somente com base em dados experimentais, relacionando com observações do comportamento dos dados medidos do sistema a ser modelado, sendo comum o uso de redes neurais artificiais (RNA).

Também existem abordagens que integram ambos os casos anteriormente descritos, buscando utilizar leis físicas com base em dados experimentais, misturando os modelos caixa branca com os modelos caixa preta, os chamados modelos híbridos ou caixa cinza (Figura 2.4).

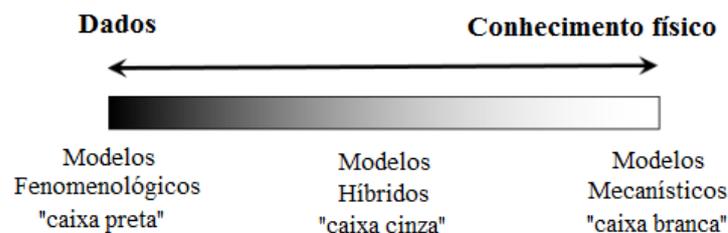


Figura 2.4 - Representação esquemática das classes de modelos.

2.3.1 Modelos mecanísticos para fermentação alcoólica

Para modelar uma fermentação, faz-se necessário um conjunto de equações de balanço de massa (substrato, célula e produto) e dessa forma, a compreensão dos tipos de modelos cinéticos é fundamental.

Os modelos cinéticos podem ser classificados quanto ao número de componentes usados na representação celular e quanto à heterogeneidade da população microbiana (BONOMI; SCHMIDELL, 2001), mostrados nos Quadros 2.1 e 2.2, respectivamente.

Modelos não estruturados	Modelos estruturados
O micro-organismo é visto como uma espécie reagente simples, possivelmente com uma composição química fixa, sem considerar variações nos componentes intracelulares.	As células são descritas com maiores detalhes, considerando, por exemplo, componentes intracelulares, permitindo descrever o estado das células e sua adaptação às mudanças do meio ambiente.

Quadro 2.1 - Estruturação em nível populacional.

Modelos não segregados	Modelos segregados
A população é considerada homogênea, isto é, todas as células apresentam o mesmo comportamento.	As células são consideradas discretas, como indivíduos de uma população heterogênea, com distribuição de idade, de tamanho e de propriedades celulares.

Quadro 2.2 - Estruturação em nível celular.

O Quadro 2.3 apresenta a combinação estrutural em nível populacional e celular, onde a complexidade aumenta do canto superior esquerdo (não estruturado - não segregado) para o canto inferior direito (estruturado - segregado).

	Não estruturado	Estruturado
Não segregado	As células de micro-organismos são consideradas como soluto.	As células são tratadas como indivíduos de múltiplos componentes, porém com composição média semelhante.
Segregado	As células são tratadas como seres individuais distintos, porém descrito como único componente.	As células são consideradas como indivíduos distintos e formados por múltiplos componentes

Quadro 2.3 - Combinação estrutura a nível populacional e celular.

O modelo mais encontrado na literatura para descrever a fermentação alcoólica é o tipo não estruturado e não segregado (MOULIN; BONE; GALZY, 1980), pois a taxa de fermentação muda continuamente conforme o substrato é consumido e o produto é formado e portanto, é pouco aconselhável a utilização de modelos que consideram as células como indivíduos distintos constituídos de vários componentes.

Os balanços materiais na etapa de fermentação com crescimento microbiano, consumo de substrato e formação de etanol para reator batelada estão apresentados a seguir:

$$\frac{dX}{dt} = r_x \quad (2.3)$$

$$\frac{dS}{dt} = -r_s \quad (2.4)$$

$$\frac{dP}{dt} = r_p \quad (2.5)$$

Os modelos não estruturados e não segregados, em sua maioria, baseiam-se na determinação da velocidade específica de crescimento do micro-organismo (μ), definido como a taxa de crescimento microbiano dividido pela concentração de biomassa contida no meio. A Equação (2.7) relaciona a taxa de crescimento microbiano com a velocidade específica de crescimento celular.

$$\mu = \frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt} = \frac{r_x}{X} \quad (2.6)$$

$$r_x = \mu \cdot X \quad (2.7)$$

Para relacionar a velocidade específica de crescimento com as taxas de consumo de substrato e de aparecimento de produto, as relações não são tão simples e necessitam de parâmetros de rendimento de reação denominados Y .

Os parâmetros $Y_{X/S}$ e $Y_{P/S}$ relacionam a quantidade de massa celular produzida em base seca e a massa de produto com a quantidade de substrato consumido. As definições matemáticas para $Y_{X/S}$ e $Y_{P/S}$ são mostradas nas Equações (2.8) e (2.10).

$$Y_{X/S} = \frac{\frac{dX}{dt}}{-\frac{dS}{dt}} = \frac{r_x}{r_s} \quad (2.8)$$

$$r_s = \frac{r_x}{Y_{X/S}} = \frac{\mu \cdot X}{Y_{X/S}} \quad (2.9)$$

$$Y_{P/S} = \frac{\frac{dP}{dt}}{-\frac{dS}{dt}} = \frac{r_p}{r_s} \quad (2.10)$$

$$r_P = Y_{P/S} \cdot r_S = \frac{Y_{P/S}}{Y_{X/S}} \cdot \mu \cdot X \quad (2.11)$$

Substituindo as Equações (2.3), (2.4) e (2.5) nas equações de balanço de massa para célula, substrato e produto, respectivamente, temos:

$$\frac{dX}{dt} = \mu \cdot X = \mu_X \cdot X \quad (2.12)$$

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{\mu}{Y_{X/S}} \cdot X = -\mu_S \cdot X \quad (2.13)$$

$$\frac{dP}{dt} = \frac{Y_{P/S}}{Y_{X/S}} \cdot \mu \cdot X = \mu_P \cdot X \quad (2.14)$$

A equação cinética mais simples e comum para descrever a velocidade específica de crescimento é a equação de Monod, Equação (2.15), que assume a presença de único substrato como limitante para o crescimento (HAN; LEVENSPIEL, 1988).

$$\mu = \frac{\mu_{m\acute{a}x} \cdot S}{K_s + S} \quad (2.15)$$

Sabe-se que a equação de Monod não é aplicável para descrever processos onde existam múltiplas condições limitantes de substrato (FERREIRA, 2000) e onde há presença de produtos metabólicos tóxicos (LUONG, 1984). A cinética para a fermentação alcoólica já foi estudada por diversos autores e alguns modelos estão apresentados na Tabela 2.2, levando em conta a limitação pelo substrato e a possível inibição pelo produto, substrato e concentração celular.

Krzystek *et al.* (1994) propuseram vários modelos matemáticos para a produção de etanol a partir da sacarose por *Saccharomyces cerevisiae*. Os modelos foram baseados nos processos metabólicos mais importantes proposto por Roels (1983), assumindo condições estritamente anaeróbicas, tais como: a síntese de precursores de biomassa, a produção de etanol, formação de glicerol, polimerização de precursores de biomassa e manutenção dos processos.

A fim de determinar a influência da concentração inicial de açúcares redutores na produção de etanol por *Saccharomyces cerevisiae* floculante a partir do suco de caju, Pinheiro (2011) utilizou de alguns modelos cinéticos e observou que para a faixa de 70 a 170 g.L⁻¹ de substrato, o modelo de Ghose & Tyagi foi o que conseguiu descrever mais fielmente o processo, sendo este utilizado quando se tem inibição pelo produto e pelo substrato.

Tabela 2.2 - Modelos cinéticos propostos para a fermentação alcoólica, suas condições e autores.

Modelo	Condição	Autores
$\mu_i = \mu_{m\acute{a}x} \cdot \frac{S_i}{\left(S_i + K_s + \frac{S_i^2}{K_i}\right)} \cdot \left(1 - \frac{P_i}{P_{m\acute{a}x}}\right)$	Substrato limitante Inibição pelo substrato Inibição linear pelo produto	GHOSE E TYAGI (1979)
$\mu_i = \mu_{m\acute{a}x} \cdot \left(1 - \frac{P_i}{P_{m\acute{a}x}}\right)^{Y_N} \cdot \left(\frac{S_i}{K_s + S_i}\right)$	Substrato limitante Sem inibição pelo substrato Inibição de potência pelo produto	LEVENSPIEL (1980)
$\mu_i = \mu_{m\acute{a}x} \cdot \left(\frac{S_i}{K_s + S_i}\right) \cdot \left(\frac{K_p}{P_i + K_p}\right) \cdot \left(1 - \frac{P_i}{P_{m\acute{a}x}}\right)$	Substrato limitante Sem inibição pelo substrato Inibição parabólica pelo produto	SEVELY ET AL. (1980) citado por DOURADO (1987)
$\mu_i = \mu_{m\acute{a}x} \cdot e^{-K_1 P_i - K_2 S_i} \cdot \left(\frac{S_i}{K_s + S_i}\right)$	Substrato limitante Inibição exponencial pelo substrato Inibição exponencial pelo produto	JIN ET AL. (1981) citado por DOURADO (1987)
$\mu_i = \mu_{m\acute{a}x} \cdot \left(\frac{S_i}{K_s + S_i}\right) \cdot \left(1 - \frac{P_i}{P_{m\acute{a}x}}\right)^{Y_N} \cdot \left(1 - \frac{X_i}{X_{m\acute{a}x}}\right)^{Y_M}$	Substrato limitante Sem inibição pelo substrato Inibição de potência pelo produto Inibição por altas concentrações de biomassa	LEE; PAGAN; ROGERS (1983)
$\mu_i = \mu_{m\acute{a}x} \cdot \frac{S_i}{\left(S_i + K_s + \frac{S_i^2}{K_i}\right)} \cdot \left(1 - \frac{P_i}{P_{m\acute{a}x}}\right)^{Y_N}$	Substrato limitante Inibição pelo substrato Inibição de potência pelo produto	TOSETTO (2002)

Fonte: PORTO, 2005.

2.3.2 Redes neurais artificiais

Os modelos do tipo caixa preta possuem a vantagem de obter um modelo matemático preciso em curto período de tempo, sem que haja um conhecimento detalhado do processo. Entretanto, esse tipo de abordagem impossibilita a realização de extrapolações, sendo necessário que os experimentos cubram todo o domínio de aplicação do modelo.

O mais utilizado modelo do tipo caixa preta são as redes neurais artificiais (RNA), sendo mais uma ferramenta para modelagem de processos. As RNA são uma descrição genérica para uma classe de modelos computacionais inspiradas na estrutura de neurônios biológicos. Portanto, elas conseguem reconhecer padrões, reorganizar dados e “aprender” comportamentos dinâmicos complexos de sistemas físicos (SILVA *et al.*, 2000).

Uma RNA pode ser definida como sendo uma estrutura de processamento (rede), passível de implementação em dispositivos eletrônicos, composta por um número de unidades interconectadas (neurônios artificiais), sendo que cada unidade apresenta um comportamento específico de entrada/saída (computação local), determinado pela sua função de transferência, pelas interconexões com outras unidades, dentro de um raio de vizinhança, e possivelmente pelas entradas externas (FERNANDES, 2008).

Uma rede neural artificial é um circuito composto por uma grande quantidade de unidades simples de processamento inspiradas no sistema neural e apresentam diversas características comuns (NIGRIN, 1993), entre elas:

- i. O processamento básico de informação ocorre em diversas unidades simples denominadas de neurônios artificiais ou simplesmente neurônios (ou nós);
- ii. Os neurônios estão interconectados gerando redes de neurônios, ou redes neurais;
- iii. A informação (sinais) é transmitida entre neurônios através de conexões ou sinapses;
- iv. A eficiência de uma sinapse, representada por um peso associado, corresponde à informação armazenada pelo neurônio e, portanto, pela rede neural;
- v. O conhecimento é adquirido do ambiente através de um processo de aprendizagem que é, basicamente, responsável por adaptar os pesos das conexões aos estímulos recebidos do ambiente.

A Figura 2.4 ilustra o funcionamento de um neurônio artificial, que pode ser resumido nos seguintes passos: (a) os sinais são recebidos do neurônio anterior; (b) os sinais são multiplicados por pesos correspondentes a cada ligação; (c) a junção somadora soma todos os sinais de entrada ponderados pelos pesos das conexões; (d) a função de ativação é geralmente utilizada com o propósito de limitar a saída do neurônio e introduzir não-linearidade no modelo; (e) o limiar b_k tem o papel de aumentar ou diminuir a influência do valor da entrada líquida para a ativação do neurônio k ; (f) os sinais ativos seguem para o neurônio subsequente (PELLICCI, 2001).

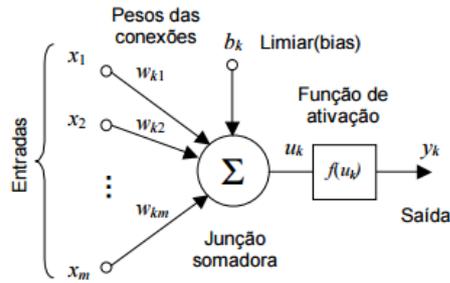


Figura 2.5 - Processamento do sinal em um neurônio de uma RNA.

Fonte: ZUBEN & CASTRO.

A Equação (2.16) expressa matematicamente a saída do neurônio k , onde x_0 é um sinal de entrada de valor 1 e peso associado $w_{kj} = b_k$.

$$y_k = f(u_k) = f\left(\sum_{j=0}^m w_{kj} \cdot x_j\right) = f\left(\sum_{j=1}^m w_{kj} \cdot x_j + b_k\right) \quad (2.16)$$

O projeto de uma rede neural artificial requer a definição de três características: a estrutura, o algoritmo de aprendizagem e a função da ativação (HAYKIN, 1994).

A estrutura de uma RNA corresponde aos padrões de conectividade entre os neurônios da rede, que podem apresentar apenas conexões diretas (sempre no sentido da entrada para a saída da rede) ou então apresentar conexões diretas e recorrentes (responsáveis pela realimentação de informação).

O algoritmo de aprendizagem é o método de determinação dos parâmetros livres da rede, tais como: pesos das conexões, função de ativação, número de camadas e número de neurônios por camada na rede. Existem basicamente três paradigmas de aprendizagem: aprendizagem não-supervisionada, supervisionada e por reforço.

A função de ativação representa o efeito da entrada e do estado atual de um neurônio na definição do seu próximo estado.

2.3.2.1 Estrutura da RNA

As Figuras 2.6 e 2.7 apresentam os métodos de propagação da informação recebida para a topologia dos neurônios, que podem distinguir-se entre redes de propagação para frente (*feedforward*) e redes realimentadas (*feedback*).

Para as redes de propagação para frente o fluxo de informação é unidirecional. São atualmente mais populares por existirem métodos de aprendizado bastante difundidos e relativamente simples, sendo comumente representadas em camadas. O método mais usado é o retropropagação, pois são capazes de aproximar, com maior ou menor precisão, dependendo do número de neurônios da RNA, qualquer função não-linear (BARRETO, 2002).

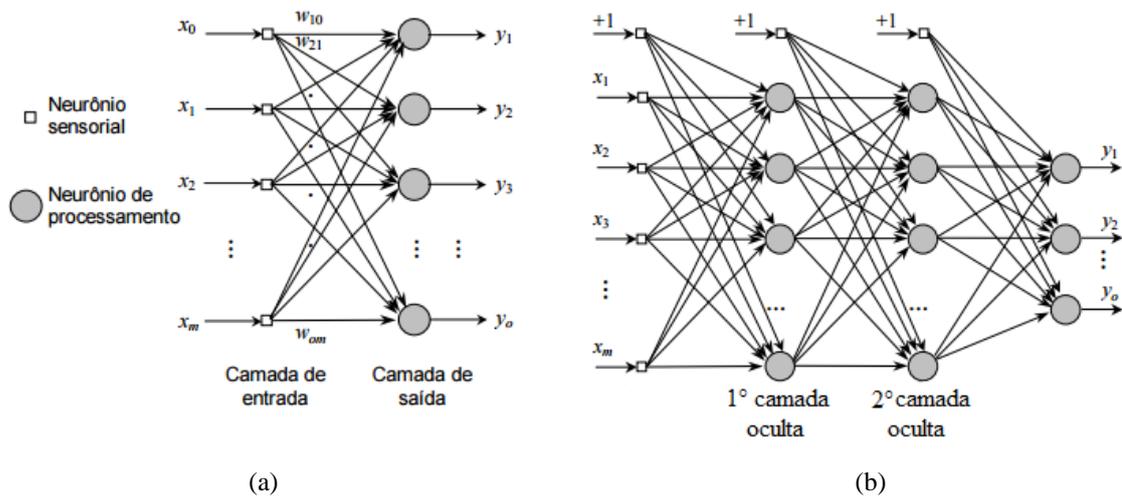


Figura 2.6 - Redes feedforward: (a) única camada e (b) múltiplas camadas.

Fonte: ZUBEN & CASTRO.

No caso das redes realimentadas ou recursivas (com ciclos), têm-se ligações entre os neurônios sem restrições e o comportamento dinâmico desempenha um papel fundamental nesse tipo de modelo (DE AZEVEDO *et al.*, 1991). Em alguns casos, os valores de ativação da rede passam por um processo de relaxação até chegarem a um estado estável. O modelo que se apresentará como representante é a rede auto-associativa (HOPFIELD, 1982).

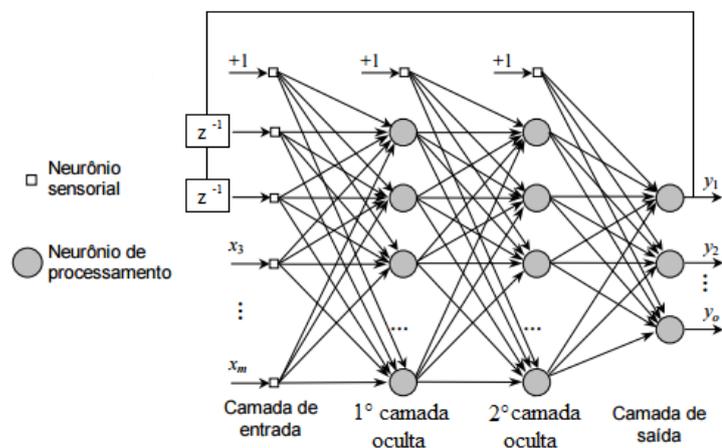


Figura 2.7 - Rede recursiva.

Fonte: ZUBEN & CASTRO.

As principais desvantagens dessa estrutura são: a incerteza se a rede irá parar em um ponto de equilíbrio e o tempo necessário ao transitório da rede ser possivelmente longo. No entanto, o uso de representação de conhecimento localizada, facilitando extração de explicações, ausência de método de aprendizagem e transitório da rede interpretado como metáfora de raciocínio, são vantagens inerentes ao método (BARRETO, 2002).

As RNAs podem ser divididas em três tipos de camadas: camada de entrada, camadas intermediárias ou ocultas (podendo não possuir) e camada de saída. A forma pela qual os neurônios estão interconectados está intimamente relacionada ao algoritmo a ser utilizado no seu treinamento.

2.3.2.2 Algoritmo de aprendizagem

Definidos o tipo e a topologia da rede, passa-se para a fase de treinamento da mesma, com o propósito de determinar os pesos de cada interconexão (ALVES, 2003).

O treinamento da rede pode ter algoritmo supervisionado, quando os pesos são ajustados de acordo com a diferença entre a saída desejada com a obtida, ou não supervisionado, quando não necessita de saída desejada conhecida e a própria rede realiza automaticamente um mapa com dados de entrada para prever o conjunto de saída. Existem também processos semi-supervisionados (CHAPELLE *et al.*, 2006), mas estes não serão considerados neste trabalho.

No aprendizado supervisionado, existe a ideia de um supervisor que verifica a saída da rede e, caso ela não coincida com a desejada, faz um ajuste nos pesos das conexões visando minimizar esta diferença. O tipo de treinamento de retropropagação é um dos algoritmos mais populares relacionado a este tipo de aprendizado (WERBOS, 1974; RUMELHART & MCCLELLAND, 1986), mas também existem extensões deste algoritmo para redes recorrentes (PINEDA, 1987; ALMEIDA, 1987).

Alguns problemas de engenharia podem ser apresentados na forma de um problema de aprendizado supervisionado, tais como: classificação e reconhecimento de padrões, predição de séries temporais, identificação de sistemas, controle de processos e projeto de filtros em processamento de sinais.

Para o aprendizado não supervisionado, não existe supervisor e nenhuma medida de erro é utilizada para realimentar a rede, já que os dados de saída desejados são desconhecidos. É conhecido também como aprendizado auto supervisionado, pois a rede se adapta as regularidades estatísticas nos dados de entrada, criando representações internas que codificam

as características dos dados, tornando-se capaz de diferenciar a quais classes os novos padrões pertencem (VILLANUEVA, 2011).

2.3.2.3 Função de ativação

A função de ativação é uma propriedade bastante relevante quando se trata de uma RNA com múltiplas camadas, pois seus principais propósitos são limitar a saída do neurônio e introduzir não-linearidade ao modelo. Isso se deve a escolha de funções de ativação não lineares e diferenciável para as camadas ocultas, a fim de solucionar problemas não linearmente separáveis, direcionando o ajuste de pesos (HAYKIN, 2001).

McCulloch e Pitts (1943) propuseram a função de ativação aplicada em praticamente todos os modelos de RNAs, mas não é a única maneira de produzir o valor de saída do neurônio.

2.3.2.4 Rede neural do tipo retropropagação

Para a modelagem e simulação de processos químicos e bioquímicos, a RNA mais utilizada é a feedforward de múltiplas camadas com treinamento supervisionado por correção do erro, também chamado de retropropagação (TONIN, 2005). Esta configuração é comumente empregada em problemas de regressão de dados, incluindo o problema de predição de séries temporais.

A arquitetura de uma RNA com algoritmo de retropropagação ou “backpropagation” está apresentado na Figura 2.8, que após combinação linear das funções de ativação internas aplicadas nos neurônios das camadas oculta (tipo sigmoidal) e de saída (tipo linear), são formadas as saídas finais de cada neurônio (PUMA-VILLANUEVA, 2011).

Um aspecto relevante diz respeito ao valor das taxas de aprendizagem. O algoritmo pode apresentar uma aprendizagem fixa, tendendo a ser lento na convergência das superfícies de erros, ou adaptativa, adequando-se a todas as superfícies de erro, encontrado no algoritmo de retropropagação denominado “trainrp”.

Pode-se sintetizar a dinâmica do algoritmo trainrp (resilient backpropagation) em duas etapas: a propagação do efeito de um vetor de entrada através da rede e a propagação do sinal de erro gerado na saída da rede em sentido contrário ao das conexões sinápticas, comumente chamado de retropropagação. Quando os padrões são entregues às entradas e seu efeito se propaga através da rede, os pesos sinápticos são atualizados muito suavemente, mesmo quando estes estão distantes dos valores ótimos (RIEDMILLER e BRAUN, 1993).

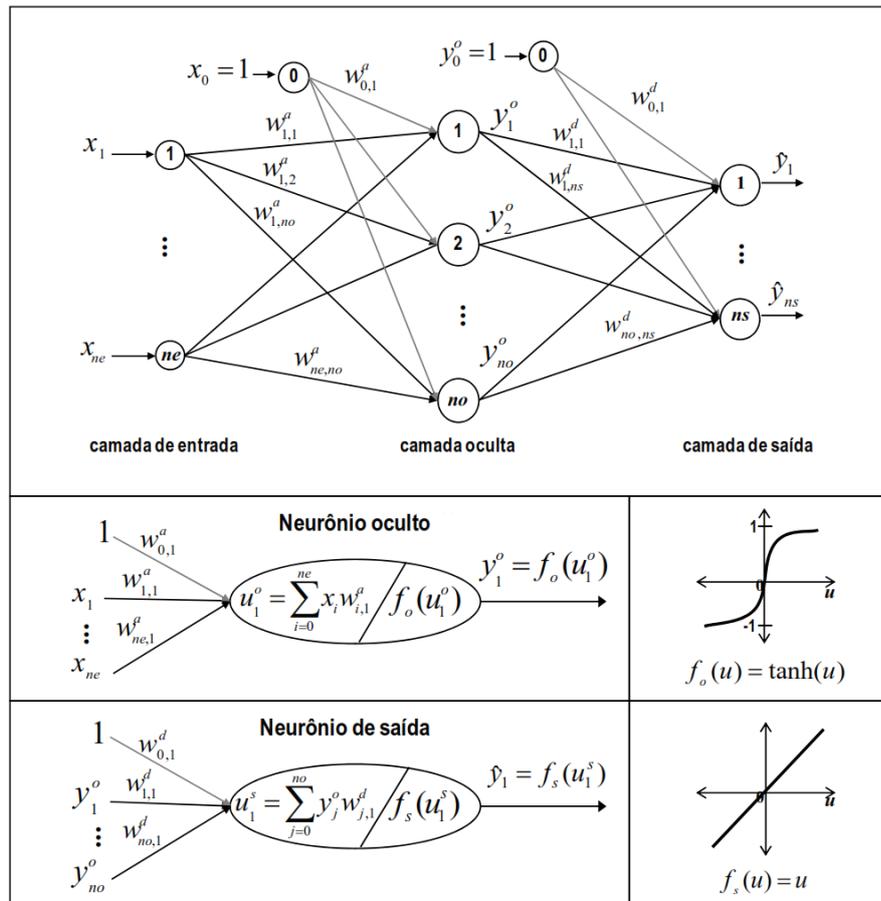


Figura 2.8 - Arquitetura de uma RNA do tipo retropropagação.

Fonte: VILLANUEVA, 2011.

2.3.3 Modelo híbrido para fermentação alcoólica

Há uma grande dificuldade em se determinar parâmetros confiáveis e adequados para modelos de processos biotecnológicos, por conta da alta complexidade do metabolismo microbiano e à não linearidade de sua cinética.

Dessa forma, buscar um caminho mais rápido e simples para descrever processos fermentativos pode ser mais vantajoso. A modelagem híbrida surge como uma alternativa de combinar conhecimentos prévios do processo, através de balanços de massas, com RNA que descrevem as cinéticas desconhecidas do processo.

Vários autores já propuseram a estratégia de modelagem híbrida em seus estudos e concluíram que são confiáveis e eficientes em predições acuradas, Quadro 2.4. De forma geral, é fundamentada na combinação das equações de balanço material com redes neurais artificiais, que funcionam como estimadoras das velocidades específicas de formação de biomassa e produto e consumo de substrato.

Autores	Estudo
Thompson e Kramer (1994)	Aplicaram uma estratégia de modelagem híbrida em um estudo de caso no qual previa-se a formação de biomassa e de penicilina em um cultivo descontínuo alimentado.
Costa <i>et al.</i> (1999)	Utilizaram a metodologia de modelagem híbrida para representar as cinéticas de crescimento celular para os processos de produção de penicilina e etanol.
Silva <i>et al.</i> (2000)	Aplicaram um algoritmo do tipo redes neurais híbrido para descrever o processo de produção de cefalosporina C por <i>C. acremonium</i> .
Bravo, Diez e Shene (2004)	Propuseram um modelo híbrido para simular mudanças nas concentrações de substratos (glicose e frutose) durante a síntese de sorbitol.
Saraceno <i>et al.</i> (2010)	Propuseram um modelo híbrido para determinar as condições ótimas (temperatura, pH, agitação e concentração de substrato) da fermentação do queijo de ricota para a produção de etanol.

Quadro 2.4 - Estudos que utilizam modelagem híbrida e seus autores.

2.3.4 Discriminação entre modelos

A validação de um modelo é geralmente realizada por inspeção visual do comportamento das curvas do modelo frente aos conjuntos de dados experimentais não utilizado na sua elaboração ou na etapa de estimativa de parâmetros, além da análise do desvio padrão residual.

Entretanto, é recomendável que essa avaliação seja acompanhada de uma análise estatística específica, considerando erros experimentais inerentes aos processos biológicos (BONOMI e SCHMIDELL, 2001).

O desvio padrão residual (Residual Standard Deviation – RSD) é um dos testes mais encontrados na literatura para avaliar a qualidade de predição de um modelo. Cleran *et al.* (1991) propôs a Equação (2.17), onde n o número de pontos experimentais.

$$RSD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i^{exp} - y_i^{cal})^2}{n}} \quad (2.17)$$

Uma forma de representar a dispersão dos dados experimentais entre ensaios independentes é a partir de um intervalo de confiança. A precisão de um intervalo de confiança é obtida pela multiplicação da incerteza (desvio padrão) pelo fator de abrangência para determinado nível de confiança. Uma forma de expressar esse intervalo é através do teste de t-Student para média amostral, sendo t_{tab} função do nível de confiança $(1 - \alpha)$ e número de repetições $(n_r - 1)$.

$$I. C. = \bar{X} \pm t_{tab} \cdot \frac{S}{\sqrt{n_r}} \quad (2.18)$$

Os testes de hipótese podem ser utilizados para verificar a adequação de um modelo matemático. Nesse contexto, o Teste F de Fisher é aplicado para avaliar se existe diferença significativa entre dois conjuntos de dados, em termos de precisão.

O Quadro 2.5 resume o procedimento para o teste de hipótese de variâncias iguais de duas populações com distribuições aproximadamente normais (σ_1^2 e σ_2^2) e tamanho de amostras aleatórias independentes n_1 e n_2 , cuja variâncias são S_1 e S_2 (NAVIDI, 2012).

	Hipótese	Estatística do teste F	Aceitar se	Resultado
H_0	$\sigma_1^2 = \sigma_2^2$	$F_{cal} = \frac{S_1^2}{S_2^2}$	$F_{cal} < F_{tab}$	Não existe diferença significativa entre os conjuntos de dados.
H_1	$\sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$		$F_{cal} > F_{tab}$	Existe diferença significativa entre os conjuntos de dados.

Quadro 2.5 - Teste F de hipótese de variâncias iguais.

Uma forma de calcular o desvio dos dados experimentais é a partir da variância do erro, uma forma alternativa para o Teste F (BONOMI e SCHMIDELL, 2001; FROMENT e BISCHOFF, 1190). Com as equações a seguir, torna-se possível relacionar a estimativa da variância do erro do modelo (S_m) e a estimativa da variância do erro experimental (S_e^2).

$$S_m^2 = \frac{\sum_i^n (y_i^{exp} - y_i^{cal})^2}{n - p} \quad (2.19)$$

$$S_e^2 = \frac{\sum_i^n (\bar{y}_i - y_i^{exp})^2}{n - n_v} \quad (2.20)$$

$$F_{cal} = \frac{S_m^2}{S_e^2} \quad (2.21)$$

Há casos em que a estimativa do erro experimental é mais conveniente para a análise, assim, aplicando a condição de $F_{cal} < F_{tab}$ (não existe diferença significativa entre as variâncias dos conjuntos de dados), o modelo pode ser considerado estatisticamente adequado e o erro experimental aparente é expresso pela Equação (2.24). O F_{tab} é função de três parâmetros: nível de confiança ($1 - \alpha$), graus de liberdade ($n - p$) e $(n - n_v)$.

$$S_m^2 = \frac{\sum_j^{n/3} [(X_j^{exp} - X_j^{cal})^2 + (S_j^{exp} - S_j^{cal})^2 + (P_j^{exp} - P_j^{cal})^2]}{n - p} \quad (2.22)$$

$$S_e^2 = \frac{\varepsilon^2 \sum_j^{n/3} [(X_j^{exp})^2 + (S_j^{exp})^2 + (P_j^{exp})^2]}{n - n_v} \quad (2.23)$$

$$\varepsilon^{exp} > \sqrt{\frac{S_m^2 \cdot (n - p)}{F_{tab} \cdot \sum_j^{n/3} [(X_j^{exp})^2 + (S_j^{exp})^2 + (P_j^{exp})^2]}} \quad (2.24)$$

Dessa maneira, o modelo pode ser considerado estatisticamente adequado se o erro experimental médio dos dados for maior que o erro experimental aparente ($\varepsilon^{exp} > \varepsilon^{aparente}$). É sabido que erros experimentais típicos para variáveis medidas em processos fermentativos é de aproximadamente 10%, devido à falta de reprodutibilidade e flutuações naturais do processo (PAIVA *et al.*, 1996).

2.4 OTIMIZAÇÃO DOS PROCESSOS

As variáveis de projeto e as variáveis operacionais em problemas de engenharia possuem geralmente interações não-lineares e complexas. Por essa razão, o espaço de busca pode conter várias soluções ótimas, como em problemas de maximização (máximos locais ou soluções subótimas). Apesar dessas desvantagens, muitos problemas não podem ser tratados com métodos analíticos e acabam utilizando algoritmos de otimização.

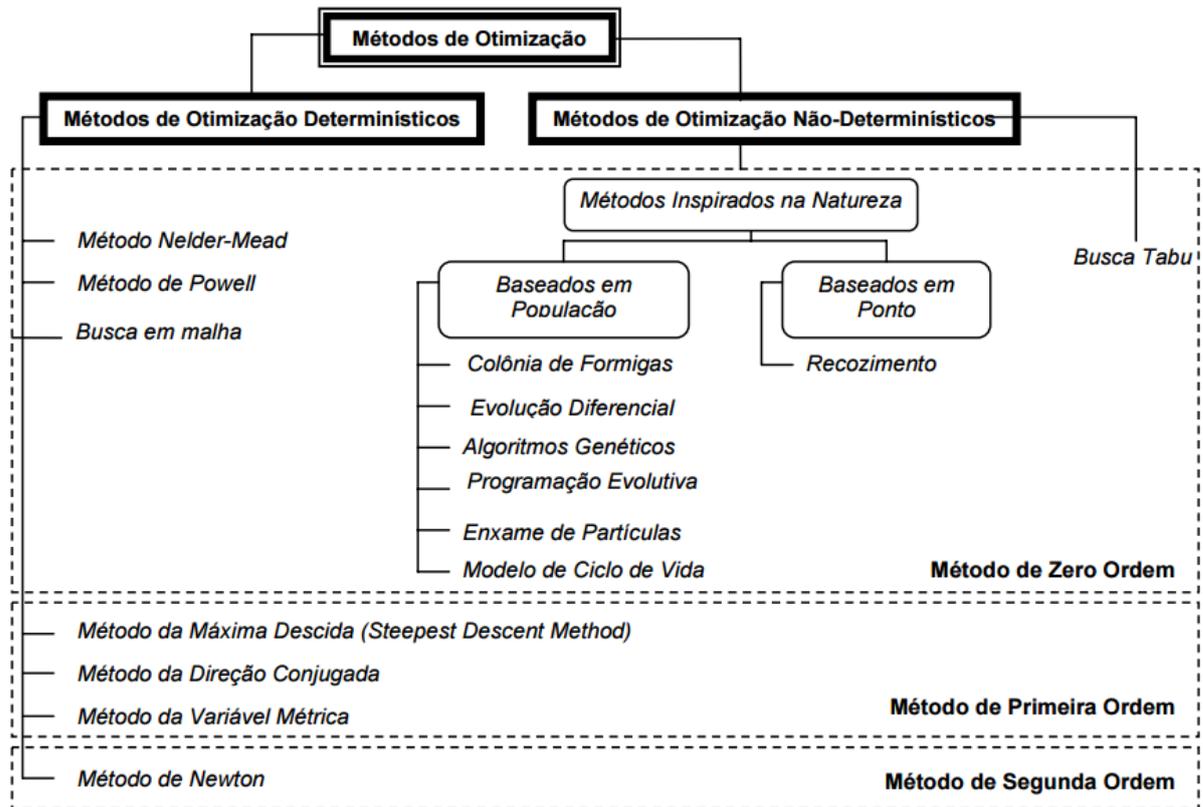


Figura 2.9 - Classificação dos métodos de otimização.

Fonte: BORGES, 2008.

Os métodos de otimização determinísticos ou clássicos se baseiam em informações de derivadas de primeira e segunda ordem para determinar a direção da busca, apresentando uma rápida convergência próxima ao ponto ótimo da função objetivo (VANDERPLAATS, 1999; EDGAR *et al.*, 2001). Entretanto, a falta de continuidade das funções a serem otimizadas ou das restrições impostas, assim como a presença de funções não convexas e multimodais ocasionam problemas numéricos ao método, podendo resultar em estimativas de ótimos locais.

Os métodos de otimização não determinísticos, estocásticos ou randômicos são algoritmos bio-inspirados em populações, em analogia a processos físicos ou em abordagem puramente estruturais (COELHO, 2003). Fundamenta-se em um método construtivo para a obtenção da população inicial e uma técnica de busca local para melhorar a solução da população, considerando que os indivíduos (soluções) dessa população são evoluídos de acordo com regras específicas que consideram o intercâmbio de informações entre os indivíduos, conduzindo a população para uma solução ótima (SERAPIÃO, 2009).

O Quadro 2.6 resume as principais vantagens e desvantagens desses métodos (VANDERPLAATS, 1999; EDGAR *et al.*, 2001).

Vantagens	Desvantagens
<ul style="list-style-type: none"> - Dispensam o uso de derivadas da função para direcionar a busca dos pontos ótimos; - Não investem todo esforço computacional em um único ponto, mas sim sobre uma população de pontos; - São reconhecidos como métodos de busca global, capazes de escapar de ótimos locais. 	<ul style="list-style-type: none"> - Seus desempenhos variam de execução para execução, pelo fato de serem métodos estocásticos; - São muito mais demorados que os métodos clássicos do ponto de vista do número de avaliações da função objetivo.

Quadro 2.6 – Vantagens e desvantagens dos métodos de otimização não determinísticos.

Dentre as abordagens evolutivas, aqui será destacado a baseada em algoritmos de enxames, sendo suas principais propriedades apresentadas a seguir (MILLONAS, 1994):

- i. Proximidade: os agentes devem ser capazes de interagir.
- ii. Qualidade: os agentes devem ser capazes de avaliar seus comportamentos.
- iii. Diversidade: permite ao sistema reagir a situações inesperadas.
- iv. Estabilidade: nem todas as variações ambientais devem afetar o comportamento de um agente.
- v. Adaptabilidade: capacidade de adequação a variações ambientais.

A otimização por enxame também é considerada um ramo da computação natural, versão computacional do processo de extrair ideias da natureza para desenvolver sistemas computacionais (CASTRO, 2006). As técnicas mais difundidas de inteligência de enxames são a otimização por colônia de formigas, otimização por enxame de partículas, algoritmo *shuffled frog-leaping*, algoritmos de coleta de alimentos por bactérias e algoritmos de colônia de abelhas.

Por apresentar um modelo comparativamente simples, flexível, bastante difundido, altamente distribuído, de rápida convergência a um ponto ótimo, com baixas exigências de memória e poder de processamento, a otimização por enxame de partícula será abordada nesse trabalho com mais ênfase.

2.4.1 Enxame de Partículas (PSO)

A otimização por enxame de partículas (Particle Swarm Optimization – PSO) teve origem com a publicação de um estudo sobre o comportamento coletivo de bandos de pássaros (HEPPNER e GRENANDER, 1990). Esse estudo mostrou a busca por alimento de uma distribuição aleatória de pássaros que voavam seguindo apenas seus instintos. Notou-se que quando um pássaro encontra alimento, outros pássaros da vizinhança dirigem-se ao local (informação compartilhada ao coletivo) e dessa maneira, o local onde houver um maior número de pássaros, será tido como a localização onde há mais alimento. Esta atitude mostra uma cooperação entre os pássaros do bando, que a princípio só seguiam seus instintos e conhecimentos adquiridos na procura, e posteriormente passaram a contar com o melhor conhecimento dos pássaros da sua vizinhança e de todo o bando.

James Kennedy e Russel Eberhart (1995), inspirados no comportamento social dos pássaros estudados por Heppner e Grenander, desenvolveram um algoritmo de otimização que veio a ser conhecido como enxame de partículas. A Tabela (2.3) mostra a analogia entre as características do enxame inteligente (bando de pássaros) com o modelo proposto, que visa otimizar a função de interesse através da tentativa de simular a coreografia realizada pelos pássaros em busca de recursos.

Tabela 2.3 - Identificação de termos do PSO.

Termo	Significado
Partícula	Pássaro
Enxame	Bando de pássaros
Espaço de busca	Área sobrevoada pelos pássaros
Posição	Localização de cada pássaro durante o voo
Solução ótima	Localização do pássaro onde ele encontrou o alimento
Fitness	Função de avaliação
pbest	Melhor posição conhecida pelo pássaro (experiência pessoal)
gbest	Melhor posição conhecida pelo enxame (experiência coletiva)

O PSO utiliza uma população chamada enxame, onde cada indivíduo dentro do enxame é denominado de partícula. Segundo Jiao, Lian e Gu (2008), uma partícula i em uma iteração k se desloca através do espaço de busca com dois atributos:

- A posição atual dentro do espaço de busca N-dimensional $X_i^k = (x_1^k, \dots, x_n^k, \dots, x_N^k)$ do problema, com $x_n^{min} \leq x_n^k \leq x_n^{max}$ para todo $n \in [1, N]$, onde x_n^{min} e x_n^{max} são os limites da coordenada n .

- Sua velocidade que é representada vetorialmente por $V_i^k = (v_1^k, \dots, v_n^k, \dots, v_N^k)$ nesse mesmo espaço N-dimensional do problema.

A cada iteração a velocidade e posição de todas as partículas são atualizadas de acordo com dois melhores valores encontrados durante a busca. O primeiro é o melhor valor encontrado pela partícula até o momento, chamado *pbest*. Outro melhor valor que é encontrado pelo PSO é o melhor valor encontrado até o momento por qualquer indivíduo da população, este melhor valor global é chamado de *gbest*. Após encontrar os dois melhores valores, a posição e a velocidade das partículas são obtidas pelas Equações 2.25 e 2.26.

$$V_i^{k+1} = w \cdot V_i^k + c_1 \cdot r_1 \cdot (pbest_i^k - X_i^k) + c_2 \cdot r_2 \cdot (gbest^k - X_i^k) \quad (2.25)$$

$$X_i^{k+1} = X_i^k + V_i^{k+1} \quad (2.26)$$

Onde r_1 e r_2 são números gerados aleatoriamente no intervalo entre [0, 1] e c_1 e c_2 são chamados de parâmetro cognitivo e social, respectivamente. O termo $c_1 \cdot r_1 \cdot (pbest_i^k - X_i^k)$ representa a distância entre a partícula i e sua melhor posição até a k -ésima iteração. Este termo dispersa a busca em várias regiões do espaço solução de maneira a encontrar o mínimo global. Já o termo $c_2 \cdot r_2 \cdot (gbest^k - X_i^k)$ representa a distância entre a partícula i e a melhor posição encontrada pela população até a k -ésima iteração. Por fim, o parâmetro w , introduzido por Shi e Eberhart (1998) tem como finalidade melhorar as habilidades de exploração do algoritmo no âmbito de busca, reduzindo a importância do controle da velocidade máxima (POLI *et al.*, 2007).

As Equações 2.27 e 2.28 definem como os melhores valores pessoais ($pbest_i^k$) e global ($gbest^k$) são no tempo k , respectivamente.

$$pbest_i^{k+1} = \begin{cases} pbest_i^k & \text{se } f(pbest_i^k) < f(x_i^{k+1}) \\ x_i^{k+1} & \text{se } f(pbest_i^k) \geq f(x_i^{k+1}) \end{cases} \quad (2.27)$$

$$gbest^{k+1} = \min\{f(pbest_i^{k+1}), f(gbest^k)\} \quad (2.28)$$

Resumidamente, a Figura 2.10 mostra o fluxograma básico de otimização por PSO. Propõe-se uma dada população inicial de partículas com os valores dos vetores de velocidade e posição gerados aleatoriamente, aplica-se o cálculo do fitness a cada partícula desta população

e depois de avaliadas são gerados os *pbest* e o *gbest*, isto é, a melhor posição encontrada pela partícula e pelo enxame. A partir das novas posições, caso o critério de parada tenha sido atingido, a solução do problema encontrada é apresentada.

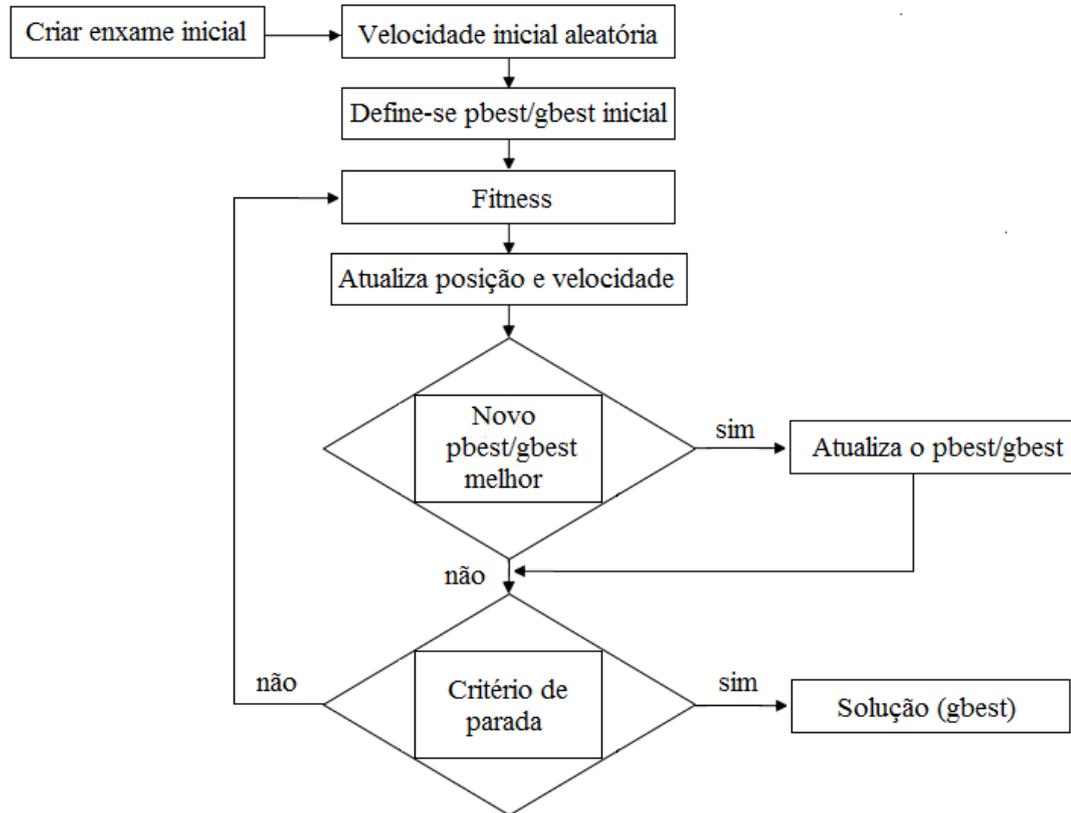


Figura 2.10 - Fluxograma do PSO.

Logo, a evolução do algoritmo do PSO está associada à trajetória percorrida pelo enxame e ao tempo gasto para encontrar a melhor solução do problema. Relacionado a isso, os números de partículas e de iterações, os limites do espaço de busca e os limites de velocidade, devem ser escolhidos adequadamente conforme o problema, pois há vantagens e desvantagens relacionadas a cada parâmetro.

O número de partículas e de iterações estão diretamente relacionados a probabilidade de o algoritmo encontrar a melhor solução para o problema, porém, resultaria em maior número de testes e atualizações, conseqüentemente em maior tempo computacional (COSTA, 2014).

Já o espaço de busca e a velocidade são normalmente limitados por valores máximos e mínimos. As partículas podem se aproximar mais rapidamente a solução ótima, com o aumento da velocidade, mas deixam de explorar regiões que podem conter máximos ou mínimos locais relevantes para a solução do problema. Caso contrário, para uma baixa velocidade, o número

de iterações para as partículas convergirem é maior, aumentando a probabilidade de explorar melhor do espaço de busca (COSTA, 2014).

O PSO também é influenciado pela estrutura ou topologia de comunicação entre as partículas, pois determinam como as partículas do enxame trocam informação. A Figura 2.11 apresenta as principais topologias utilizadas como mecanismos de comunicação entre as partículas: a topologia local e a topologia global.

Na topologia local, o enxame está organizado em formato de anel e cada partícula deste possui dois vizinhos dinâmicos, ou seja, as partículas podem mudar de posição ao se movimentarem. As informações são trocadas apenas com seus vizinhos diretos, tornando a troca de informação entre as partículas mais lenta. Contrariamente, a topologia global permite uma convergência mais acelerada, pois a partícula utiliza além do seu conhecimento, a experiência da partícula melhor posicionada no espaço de busca, mas isso não garante a qualidade da solução obtida (ROSENDO, 2010).

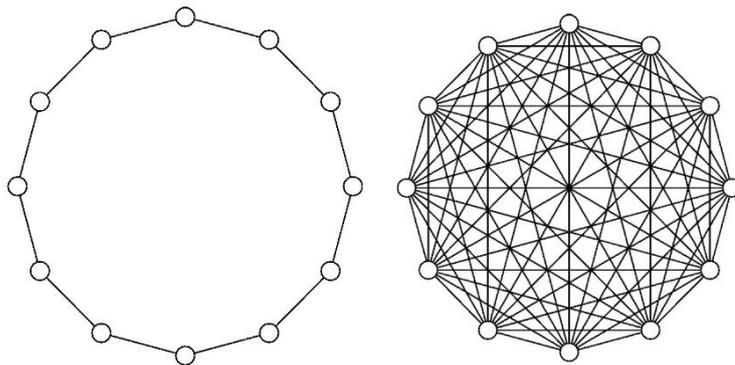


Figura 2.11 - Topologias: (a) local e (b) global.

Fonte: ROSENDO, 2010.

3. DADOS EXPERIMENTAIS

Nesta seção, estão descritos alguns procedimentos executados por Pinheiro (2015) nos ensaios de fermentação alcoólica a partir do suco de caju por *S. cerevisiae* floculante, que são relevantes para este trabalho. O conjunto de dados experimentais utilizados para elaboração e validação dos modelos propostos aqui, também foram obtidos por Pinheiro (2015).

Posteriormente, fez-se um tratamento dos dados experimentais através de regressão não linear, interpolação e normalização dos mesmos, de forma a amenizar os ruídos das medidas experimentais e aumentar o conjunto de dados, bem como padronizar escalas para evitar que uma dimensão sobreponha outras.

3.1 METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO DOS DADOS EXPERIMENTAIS

Diversos fatores afetam o rendimento da fermentação alcoólica, sendo o principal a manutenção das condições operacionais pré-estabelecidas durante a fermentação, uma vez que os sistemas fermentativos são bastante sensíveis a mudanças operacionais (MENDES, 2012). A otimização dos parâmetros operacionais (concentração inicial de substrato, temperatura, intensidade de agitação e concentração inicial de células) são constantemente alvos de estudos, pois influencia diretamente no processo (DRAGONE *et al.*, 2011).

3.2.1 Micro-organismo e meio de cultivo

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* (CCA008) utilizada nos ensaios fermentativos de Pinheiro (2015) foi obtida a partir do banco de culturas do Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular – LACAM – UFSCar, sendo esta uma levedura floculante portadora do gene FLO5 α .

O meio de cultivo usado por Pinheiro (2015) para a produção de etanol foi o suco de caju obtido a partir da prensagem do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale L.*). Ressalta-se que o suco apresenta açúcares redutores (glicose + frutose) entre 100 e 120 g/l. Após a extração, o suco foi centrifugado a 6000 rpm durante 10 minutos e o seu pH foi ajustado para 4,5 utilizando H₂SO₄ na concentração de 1 mol/L. A esterilização se deu em autoclave a 110 °C por 10 minutos.

3.2.2 Ensaios experimentais

A produção de etanol foi conduzida em biorreator batelada de 1 L (Tec-Bio, Modelo 1,5, Tecnal, SP, Brasil), utilizando 750 mL de suco de caju, sendo o mesmo ilustrado na Figura 3.1. Pinheiro (2015) conduziu uma serie de experimentos em diferentes condições operacionais. Os ensaios fermentativos ocorreram nas temperaturas de 26, 30, 34, 38 e 42 °C, concentrações iniciais de células de 3, 4, 5, 8 e 10 g/L, velocidade de agitação de 80, 150, 300, 490, 650 e 800 rpm e concentrações iniciais de substrato de 70, 80, 90, 110, 130 e 170 g/L, durante um período de 10 ou 12 h. A Tabela 3.1 mostra a combinação dessas condições durante a fermentação.

Os dados experimentais foram medidos a cada 2h de fermentação, dessa forma, 240 pontos experimentais foram obtidos para cada componente (substrato, célula e produto), totalizando em 720 pontos experimentais para as 19 combinações operacionais. É importante ressaltar que nessa totalização estão incluídas as medidas com duplicatas em cada instante.

Tabela 3.1 - Matriz das condições operacionais.

Número do teste	Tempo (h)	S ₀ (g/L)	Temperatura (°C)	X ₀ (g/L)	Agitação (rpm)
1	0-12	70	30	4	150
2	0-12	80	30	4	150
3	0-12	90	30	4	150
4	0-12	110	30	4	150
5	0-12	130	30	4	150
6	0-12	170	30	4	150
7	0-10	100	26	5	150
8	0-10	100	30	5	150
9	0-10	100	34	5	150
10	0-10	100	38	5	150
11	0-10	100	42	5	150
12	0-10	100	34	3	150
13	0-10	100	34	8	150
14	0-10	100	34	10	150
15	0-10	110	34	7	80
16	0-10	110	34	4	300
17	0-10	110	34	5	490
18	0-10	110	34	5	650
19	0-10	110	34	5	800

Fonte: Pinheiro (2015).

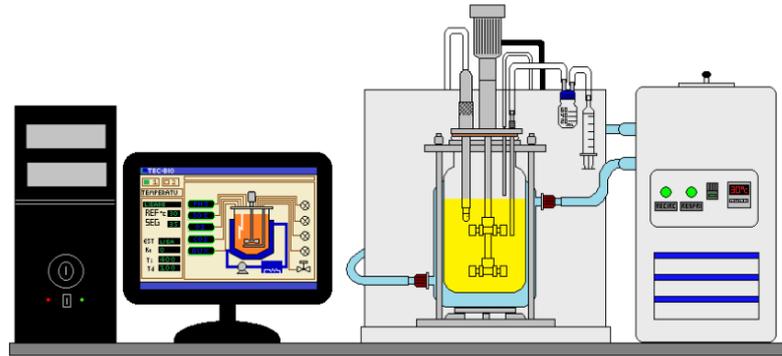


Figura 3.1 - Representação esquemática do Biorreator Tec-Bio 1,5.

Fonte: (PINHEIRO, 2011).

3.2 TRATAMENTO DOS DADOS EXPERIMENTAIS

3.2.1 Regressão não linear e Interpolação

Entende-se por tratamento dos dados experimentais, a correção ou transformação dos mesmos buscando adequá-los à análise desejada (BORZANI *et al*, 2001). É recomendável que os dados destinados à calibração de modelos matemáticos e treinamento de redes neurais sejam ajustados de modo a reduzir os erros de medidas experimentais, bem como para aumentar a quantidade de dados disponíveis por predição de pontos intermediários (HORTA, 2008).

A regressão é uma técnica de análise que utiliza a relação entre variáveis quantitativas para determinar um modelo matemático de forma que o efeito de uma possa ser previsto através da outra variável. Além da regressão, a interpolação também foi necessária, pois os algoritmos de ajustes do tipo RNA requerem uma quantidade relativamente grande de dados.

Para o alisamento dos dados experimentais obtidos por Pinheiro (2015), utilizou-se um modelo de regressão não linear, aplicado ao método de mínimos quadrados para determinar os parâmetros da função para cada condição operacional.

Em suma, o algoritmo implementado para o tratamento dos dados requer como entrada o conjunto de dados experimentais de todos os ensaios, incluindo duplicatas, a função para regressão e o intervalo de tempo no qual os dados serão interpolados. Como saída, obtêm-se todos os gráficos de regressão e de velocidades específicas, assim como os dados interpolados para ambos, chamados de dados pseudo-experimentais.

O modelo de Boltzmann, Equação (3.1), foi escolhido por se ajustar bem a variação de substrato, célula e produto com o tempo. Para tanto, o coeficiente de determinação (R^2) foi empregado com o objetivo de certificar o grau de explicação de cada ajuste.

$$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{\frac{(x-x_0)}{dx}}} + A_2 \quad (3.1)$$

De posse dos perfis de concentração para o substrato, célula e produto de todos os testes, calcularam-se as velocidades específicas de consumo da glicose, crescimento celular e produção de etanol. Para isso, aplicou-se a definição demonstrada a partir das Equações (2.12), (2.13) e (2.14), derivando a equação de Boltzmann e dividindo pela concentração celular instantânea para todos os 19 ensaios.

$$\mu_x(t) = \frac{\frac{dX(t)}{dt}}{X(t)} \quad (3.2)$$

$$\mu_s(t) = \frac{\frac{dS(t)}{dt}}{X(t)} \quad (3.3)$$

$$\mu_p(t) = \frac{\frac{dP(t)}{dt}}{X(t)} \quad (3.4)$$

Para exemplificar o procedimento realizado no tratamento dos dados experimentais, encontram-se no Anexo I os gráficos que mostram o comportamento das concentrações e das velocidades específicas com o tempo de fermentação para o teste número 4 e 16, pois estes apresentaram menor e maior variação nos pontos experimentais, respectivamente.

Como o R^2 expressa a quantidade de variabilidade nos dados que é explicado pelo modelo de regressão, nota-se pela Tabela 3.2 que o ajuste para o modelo de concentração celular é inferior aos demais, justificado pela grande dificuldade de medir a concentração inicial de célula. No entanto, considerou-se a qualidade das regressões satisfatórias, pois para a maioria dos testes os coeficientes de determinação são próximos a unidade.

Após o alisamento, tornou-se conveniente estimar as concentrações e as velocidades específicas em intervalos menores de tempo (30 min), quadruplicando a quantidade de dados destinados ao posterior treinamento das RNAs (ver Anexo I). Para evitar extrapolações, padronizou-se os tempos de fermentação em 10h.

A Tabela 3.4 apresenta uma estimativa do erro experimental médio, uma vez que foram fornecidas repetições de um mesmo ensaio. Percebe-se que os erros podem variar apreciavelmente ao longo do tempo de reação, sendo decorrente não apenas das medidas experimentais (técnicas analíticas) e das flutuações que ocorrem ao longo do ensaio, mas

principalmente da dificuldade de produtividade entre os ensaios, problema inerente aos processos biotecnológicos. Esses valores foram calculados para verificar de forma mais específica a adequação dos modelos propostos.

Tabela 3.2 - Coeficientes de determinação para os perfis de concentração.

Número do teste	R ² (célula)	R ² (substrato)	R ² (produto)
1	0,98	0,99	0,99
2	0,88	0,99	0,99
3	0,99	0,99	0,99
4	0,99	1,00	1,00
5	0,99	0,99	0,99
6	0,99	1,00	0,99
7	0,96	1,00	0,99
8	0,89	0,99	0,97
9	0,96	0,99	0,99
10	0,78	0,99	0,98
11	0,92	0,97	0,99
12	0,99	0,98	1,00
13	0,90	0,98	0,97
14	1,00	0,97	1,00
15	0,97	1,00	0,99
16	0,66	0,99	0,97
17	0,98	0,99	0,99
18	1,00	0,99	1,00
19	0,97	0,99	0,98

Tabela 3.3 - Erro experimental médio para a fermentação alcoólica.

	Biomassa	Substrato	Produto	Fermentação
Erro médio (%)	11.83	16.21	11.93	13.32

3.2.2 Normalização dos dados pseudo-experimentais

De posse dos dados pseudo-experimentais, é adequada a normalização dos mesmos para aplicação em métodos de inteligência artificial, pois existe uma melhora significativa na distribuição dos dados.

A normalização substitui a necessidade de harmonizar escalas, que numericamente corresponde à minimização dos problemas de adaptação de escalas de grandezas muito

diferentes. Nesse trabalho, optou-se pela normalização mín-máx, Equação (3.5), com intervalo unitário.

$$z_i^n = \frac{z_i - z_i^{\min}}{z_i^{\max} - z_i^{\min}} \quad (3.5)$$

As condições operacionais mostradas na Tabela 3.1 foram normalizadas e estão apresentadas na Tabela 3.3, com valor máximo 1 e mínimo 0. No Anexo I também são mostradas as tabelas normalizadas dos dados pseudo-experimentais para os testes 4 e 16.

Tabela 3.4 - Matriz das condições operacionais normalizadas.

Número do teste	Tempo	S₀	Temperatura	X₀	Agitação
1	0-10	0.000	0.250	0.143	0.097
2	0-10	0.100	0.250	0.143	0.097
3	0-10	0.200	0.250	0.143	0.097
4	0-10	0.400	0.250	0.143	0.097
5	0-10	0.600	0.250	0.143	0.097
6	0-10	1.000	0.250	0.143	0.097
7	0-10	0.300	0.000	0.286	0.097
8	0-10	0.300	0.250	0.286	0.097
9	0-10	0.300	0.500	0.286	0.097
10	0-10	0.300	0.750	0.286	0.097
11	0-10	0.300	1.000	0.286	0.097
12	0-10	0.300	0.500	0.000	0.097
13	0-10	0.300	0.500	0.714	0.097
14	0-10	0.300	0.500	1.000	0.097
15	0-10	0.400	0.500	0.571	0.000
16	0-10	0.400	0.500	0.143	0.306
17	0-10	0.400	0.500	0.286	0.569
18	0-10	0.400	0.500	0.286	0.792
19	0-10	0.400	0.500	0.286	1.000

3.2.3 Implementação do algoritmo

A etapa de tratamento dos dados foi realizada a partir de um algoritmo implementado em linguagem de programação Python/IPython Notebook versão 2.7.8. A Figura 3.2 traz o diagrama que resume o funcionamento do algoritmo, onde os dados experimentais de concentração são inseridos no programa e após regressão e interpolação são gerados gráficos

para cada ensaio. Em seguida, os dados alisados de concentração e as velocidades específicas são normalizados e os resultados são exportados para uma planilha no Excel.

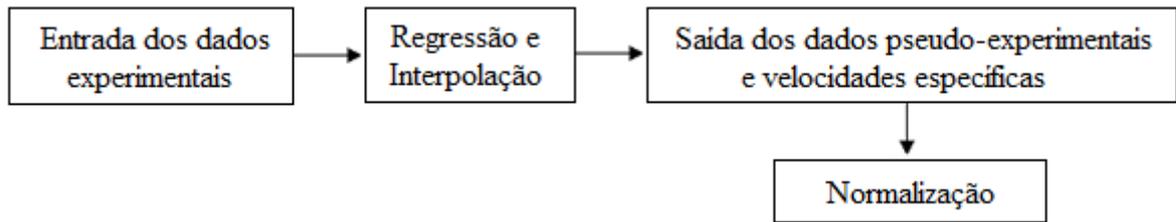


Figura 3.2 – Diagrama do algoritmo implementado para o tratamento dos dados.

4. MODELAGEM MATEMÁTICA

Neste capítulo, são propostos cinco modelos matemáticos para a fermentação alcoólica do cujo do pedúnculo do caju por *S. cerevisiae*, contemplando as variações nas condições operacionais da reação, tais como: concentração inicial de célula, temperatura, concentração inicial de substrato e intensidade da agitação.

Para uma melhor compreensão do desenvolvimento desse trabalho, os modelos matemáticos serão expostos da seguinte maneira:

- i. Modelo 1: modelo mecanístico não estruturado e não segregado que utiliza o modelo cinético proposto por Ghose & Tyagi e estudado por Pinheiro (2011), que afirma ser o mais adequado para representar a fermentação em estudo.
- ii. Modelo 2: modelo mecanístico não estruturado e não segregado com hipótese de morte e manutenção celular para influência da concentração inicial de substrato.
- iii. Modelo 3: modelo mecanístico derivado do Modelo 2 com inclusão da influência da temperatura para os perfis de concentração de biomassa, açúcar e etanol ao longo da fermentação.
- iv. Modelo 4: modelo mecanístico derivado do Modelo 3 com inclusão da influência da concentração inicial de célula e agitação do meio nos perfis de concentração.
- v. Modelo 5: modelo híbrido que combina balanços materiais com RNAs como estimadores das velocidades específicas de consumo de açúcares redutores totais, crescimento da biomassa e produção de etanol. Aqui, as velocidades específicas são funções da concentração celular instantânea, temperatura do meio, concentração de substrato instantânea e agitação.

Os modelos matemáticos foram submetidos a validação, com o objetivo de avaliar a adequação aos dados experimentais, e as mesmas análises estatísticas, como alternativa de discriminar os modelos empregados.

Todas as equações dos modelos matemáticos foram resolvidas numericamente através de programa implementado em linguagem Python/IPython Notebook versão 2.7.8 associada a alguns de seus módulos científicos, por apresentar vantagens como: modelo de desenvolvimento comunitário e aberto, linguagem de alto nível, interpretada, orientada a objetos e muito versátil. Também concilia uma sintaxe concisa e clara com recursos poderosos de suas bibliotecas, oferecendo ferramentas disponíveis por linguagens de mais baixo nível como Java e C++.

▪ **Modelo cinético**

Para os Modelos 2 e 3, quatro modelos cinéticos foram avaliados quanto à sua capacidade para prever a taxa de crescimento específico (μ) com hipótese de morte e manutenção celular para a produção de etanol, assim como realizado por Pinheiro (2011). Os modelos são apresentados na Tabela 4.1 e foram selecionados de modo a avaliar diferentes cinéticas de limitação, tais como: sem inibição, inibição pelo substrato, inibição pelo produto e inibição pelo substrato e pelo produto simultaneamente (BIROL *et al.*, 1998).

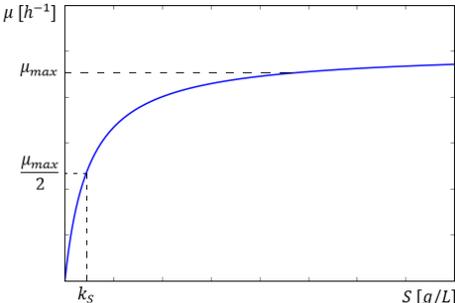
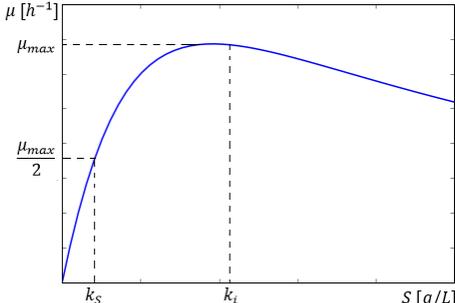
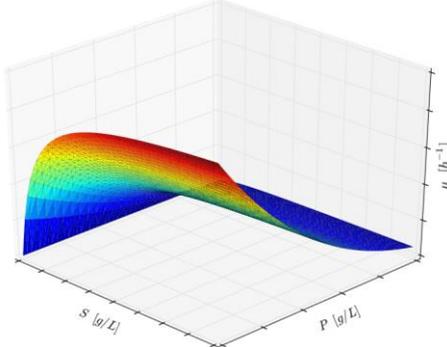
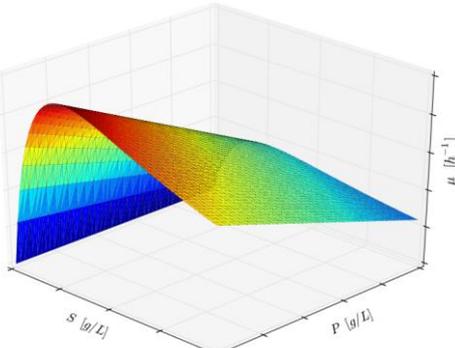
Considerou-se que não existe consumo preferencial de um substrato em relação a outro (glicose e frutose), sendo ambos tratados como açúcares redutores. Assim, o comportamento das velocidades específicas de crescimento celular são semelhantes, não havendo o fenômeno chamado diauxia e os modelos para único substrato foram utilizados.

Dessa forma, tornou-se possível identificar o modelo cinético mais adequado para representar a fermentação em estudo, com base nos modelos matemáticos propostos. As tabelas com os parâmetros estimados, os gráficos para os valores limites de concentração inicial de substrato (70 g/L e 170 g/L) e de temperatura (26 °C e 42 °C) e a validação para os Modelos 2 e 3 são mostradas no Anexo II.

Para a influência da concentração de substrato, constata-se que o modelo de Levenspiel não conseguiu ajustar os parâmetros para o conjunto de dados experimentais e o modelo de Monod apresentou comportamento linear com brusca mudança na derivada da concentração pelo tempo.

A Tabela 4.2 traz o desvio padrão residual (RSD) e o erro experimental aparente do modelo para os ensaios com variação na concentração inicial de substrato. Assim, nota-se que os modelos de Andrews e Tyagi & Ghose foram igualmente satisfatórios, permanecendo para a análise da influência da temperatura da reação.

Tabela 4.1 – Modelos cinéticos utilizados para predição da velocidade específica.

Modelos	Equações	Representação Gráfica
Monod	$\mu_x = \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S}$	
Andrews	$\mu_x = \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_i}}$	
Levenspiel	$\mu_x = \left(\frac{\mu_{\max} S}{K_S + S} \right) \times \left(1 - \frac{P}{P_{\max}} \right)^n$	
Ghose & Tyagi	$\mu_x = \left(\frac{\mu_{\max} S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_i}} \right) \times \left(1 - \frac{P}{P_{\max}} \right)$	

As Figuras II.3 e II.4 (ver Anexo II) ilustram o efeito da temperatura na velocidade específica para os modelos de Andrews (inibição pelo substrato) e Ghose & Tyagi (inibição por substrato e produto), respectivamente, através da equação de Arrhenius modificado (RIVERA,

2006). Verifica-se que para cada temperatura é obtida uma máxima velocidade específica de crescimento celular (μ_{\max}) com valor ótimo alcançado em 34°C para ambos os modelos, porém, apresentam comportamento diferente para as demais temperaturas, possibilitando discriminar os modelos.

Observou-se que as velocidades específicas previstas pelo modelo de Andrews apresentavam maiores desvios quando comparados ao modelo de Ghose & Tyagi, como mostrado na Tabela 4.3. Portanto, o modelo de Ghose & Tyagi é o mais adequado para prever a taxa de crescimento específico, ratificando o modelo cinético escolhido por Pinheiro (2011), e por esse motivo será utilizado ao longo deste capítulo, onde será apresentado a metodologia aplicada e os resultados obtidos de forma mais detalhada.

Tabela 4.2 – Desvio padrão residual e erro aparente com influência da concentração inicial de substrato.

Concentração	Monod		Andrews		Ghose & Tyagi	
	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$
Célula	0.56	8.33	0.56	8.46	0.54	8.33
Substrato	3.96	5.89	3.22	4.84	3.18	4.83
Produto	2.74	7.61	2.11	6.05	2.17	6.28
Fermentação		6.72		5.41		5.42

Tabela 4.3 – Desvio padrão residual e erro aparente com influência da temperatura.

Concentração	Andrews		Ghose & Tyagi	
	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$
Célula	0.70	9.39	0.70	9.52
Substrato	7.76	11.32	5.04	7.39
Produto	3.77	10.68	3.22	9.15
Fermentação		11.17		7.79

4.1 MODELO 1: MODELO MECANÍSTICO

4.1.1 Metodologia

No intuito de analisar qual o modelo que melhor descreve a influência da concentração inicial de substrato na produção de etanol, Pinheiro (2011) avaliou em seu trabalho alguns modelos cinéticos com e sem a presença de inibições, para representar a fermentação alcoólica do suco de caju.

Dentre os modelos avaliados em seu estudo, o modelo cinético proposto por Ghose & Tyagi, Equação (4.1), foi o que descreveu mais fielmente o processo. Este modelo representa satisfatoriamente a cinética do processo fermentativo nas condições de substrato limitante, inibição pelo substrato e inibição linear pelo produto. Conclui-se que para concentrações de açúcares redutores totais entre 70 e 170 g/L, tem-se a presença de inibições e portanto, o modelo de Ghose & Tyagi pode ser empregado (PINHEIRO, 2011).

$$\mu = \left(\frac{\mu_{\max} \times S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}} \right) \times \left(1 - \frac{P}{P_{\max}} \right) \quad (4.1)$$

Para a dedução do Modelo 1, utilizaram-se as seguintes hipóteses simplificadoras:

- O modelo cinético não estruturado e não segregado, onde o micro-organismo é visto como uma espécie reagente simples, sem considerar variações nos componentes intracelulares e população homogênea, isto é, todas as células apresentam o mesmo comportamento;
- A cinética da reação é função da concentração de substrato e de produto (modelo de Ghose & Tyagi);
- Sistema em mistura perfeita, justificada pela presença de agitador mecânico;
- Reação isotérmica (fermentador com sistema de controle de temperatura);
- Volume constante;
- Todas as células presentes são viáveis;
- O consumo de substrato para manutenção celular foi considerado desprezível.

As equações dos modelos podem ser obtidas através de balanços de massa e são mostradas resumidamente no Quadro 4.1. Pinheiro (2011), estimou os parâmetros cinéticos pelo método não-linear de mínimos quadrados de Marquardt a partir de uma rotina de ajuste desenvolvida em FORTRAN versão 6.1.

Para estimar os parâmetros mostrados na Tabela 4.4, fez-se uso dos testes 1 a 6, pois estes apresentam variação de substrato (70 a 170 g/L), mas mantém constantes as demais condições operacionais: temperatura de 30°C, concentração da biomassa de 4 g/L e intensidade de agitação de 150 rpm.

Tabela 4.4 - Parâmetros cinéticos do modelo de Ghose & Thyagi.

μ_{\max} (h ⁻¹)	K_s (g/L)	K_i (g/L)	P_{\max} (g/L)	$Y_{x/s}$ (g/g)	$Y_{p/x}$ (g/g)
0.130	6.96	127.7	164.2	0.0276	15.96

Modelo 1: sem morte e manutenção celular
$\frac{dX}{dt} = \mu \cdot X$ $\frac{dS}{dt} = -\frac{\mu}{Y_{X/S}} \cdot X$ $\frac{dP}{dt} = Y_{P/X} \cdot \mu \cdot X$ $\mu = f(S, P)$

Quadro 4.1 - Modelos matemáticos propostos para o Modelo 1.

Os testes 1 a 6 foram simulados e estatisticamente analisados para verificar a qualidade de ajuste do modelo matemático. Os ensaios que representam limites de adequação dos modelos são mostrados para comparação e controle do seu comportamento frente aos dados experimentais. O RSD e o erro aparente dos dados experimentais para probabilidade de 95% (Teste F modificado) foram calculados para todos os ensaios com $N = 12$ e $p = 6$ (número de pontos experimentais e de parâmetros estimados no modelo, respectivamente), assim como os intervalos de confiança dos dados experimentais para o nível de confiança de 90%, possibilitando incluir visualmente a incerteza das duplicatas.

4.1.2 Resultados e discussão

Esse modelo é baseado no estudo prévio do efeito da concentração inicial de açúcares redutores totais na fermentação alcoólica (PINHEIRO, 2008) e as simulações dos testes 1 a 6 estão apresentados em Anexo III.

Seguindo a metodologia apresentada, os testes 2 e 4 foram destacados por evidenciar extremos de adequação dos modelos aos dados experimentais para a produção de etanol e estão apresentados nas Figuras 4.1 e 4.2. Isso pode ser confirmado estatisticamente pela Tabela 4.5, que avalia a qualidade de predição do modelo pelo cálculo do desvio padrão residual (RSD) e pelo erro experimental aparente (Teste F).

Tabela 4.5 - Análise estatística dos testes para o Modelo 1: modelo sem morte e manutenção celular.

Ensaio	Biomassa		Substrato		Produto	
	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$
1	0.36	5.18	3.02	6.51	1.39	4.40
2	0.97	12.12	3.43	6.35	0.93	2.79
3	0.39	5.36	3.47	5.14	3.31	8.22
4	0.53	6.84	7.51	8.96	6.04	12.87
5	0.36	4.74	6.13	5.82	3.98	8.64
6	0.45	5.56	11.12	7.32	3.00	7.35

Observa-se que os RSDs são relativamente baixos, com exceção do valor de 11.12 g/L para a concentração de 170 g/L de substrato. Contudo, o Teste F indica que, se o erro experimental dos dados disponíveis forem maiores que os erros aparentes calculados, o modelo tem 95% de probabilidade de ser adequado para descrever o processo.

A Tabela 3.3 mostra os erros experimentais médios para o conjunto de dados utilizados nessa fermentação e dessa forma, percebe-se que para a concentração de biomassa no ensaio 2 e para o produto no ensaio 4 a condição não foi obedecida, significando que o Modelo 1 não é adequado para descrever o processo. Esse resultado combinado à análise dos RSDs, podem ser consequência da inadequação da hipótese de que todas as células presentes na fermentação são viáveis e por considerar a manutenção celular desprezível.

O erro máximo do I.C. delimita o espaço de variação dos dados experimentais para dado intervalo de confiança. As Figuras 4.1 e 4.2 fornecem uma representação visual entre as variáveis observadas a partir dos dados experimentais e as variáveis preditas a partir do modelo para um nível de significância de 90%.

Percebe-se que o modelo não conseguiu se adaptar ao comportamento dos dados para o perfil de concentração de etanol para o teste 4, uma vez que parte dos pontos estão fora do intervalo de confiança das duplicatas, confirmando que as mudanças físicas do processo não foram inteiramente captadas.

Logo, o modelo apresentado mostrou-se inadequado para estimar as concentrações de etanol considerando a variação da concentração inicial de substrato, não sendo indicado para descrever o comportamento do processo.

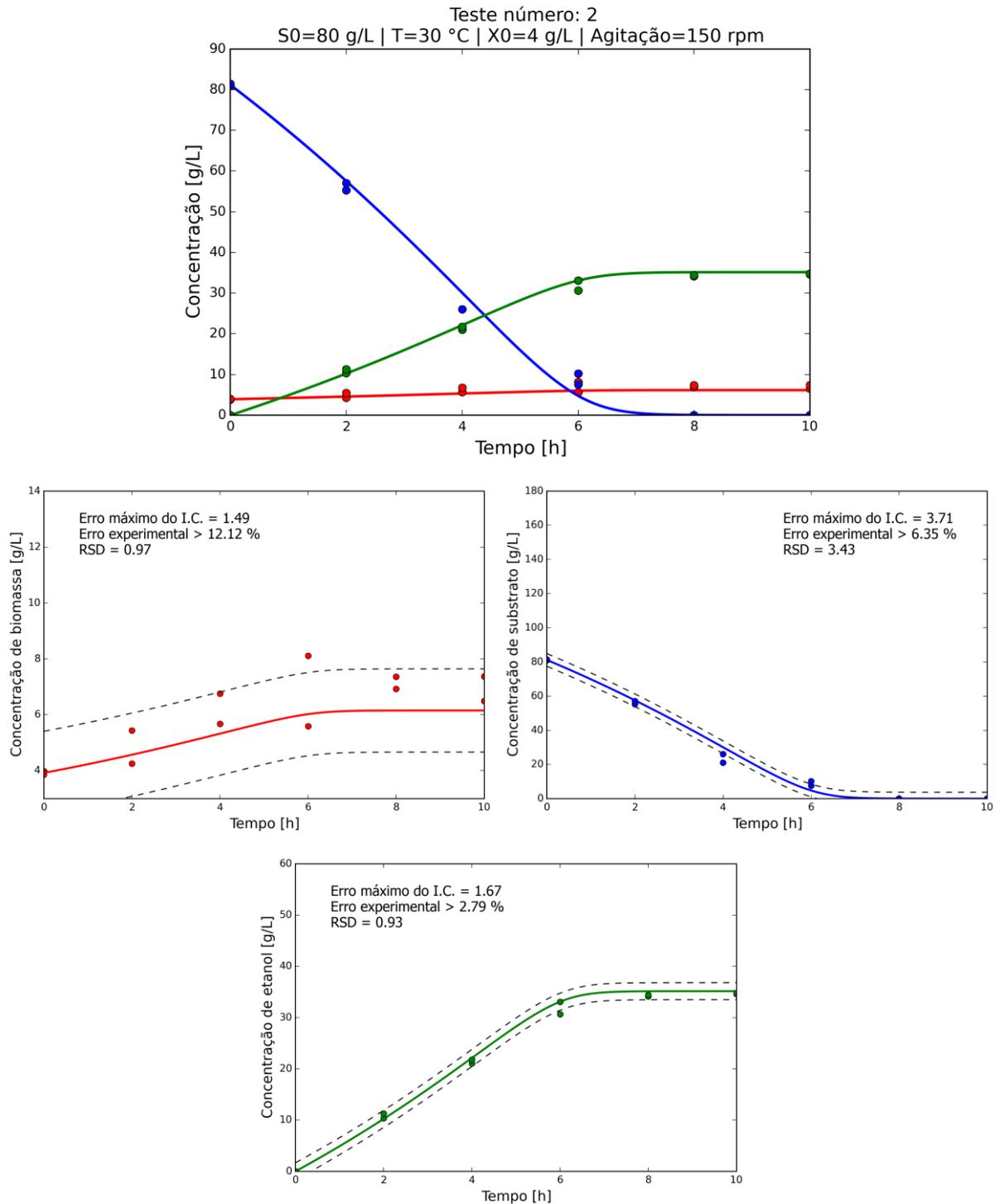


Figura 4.1 - Dados experimentais e Simulados para o teste 2: (●) Biomassa (Massa seca - $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de açúcares redutores totais ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de etanol ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (—) Modelo 1, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.

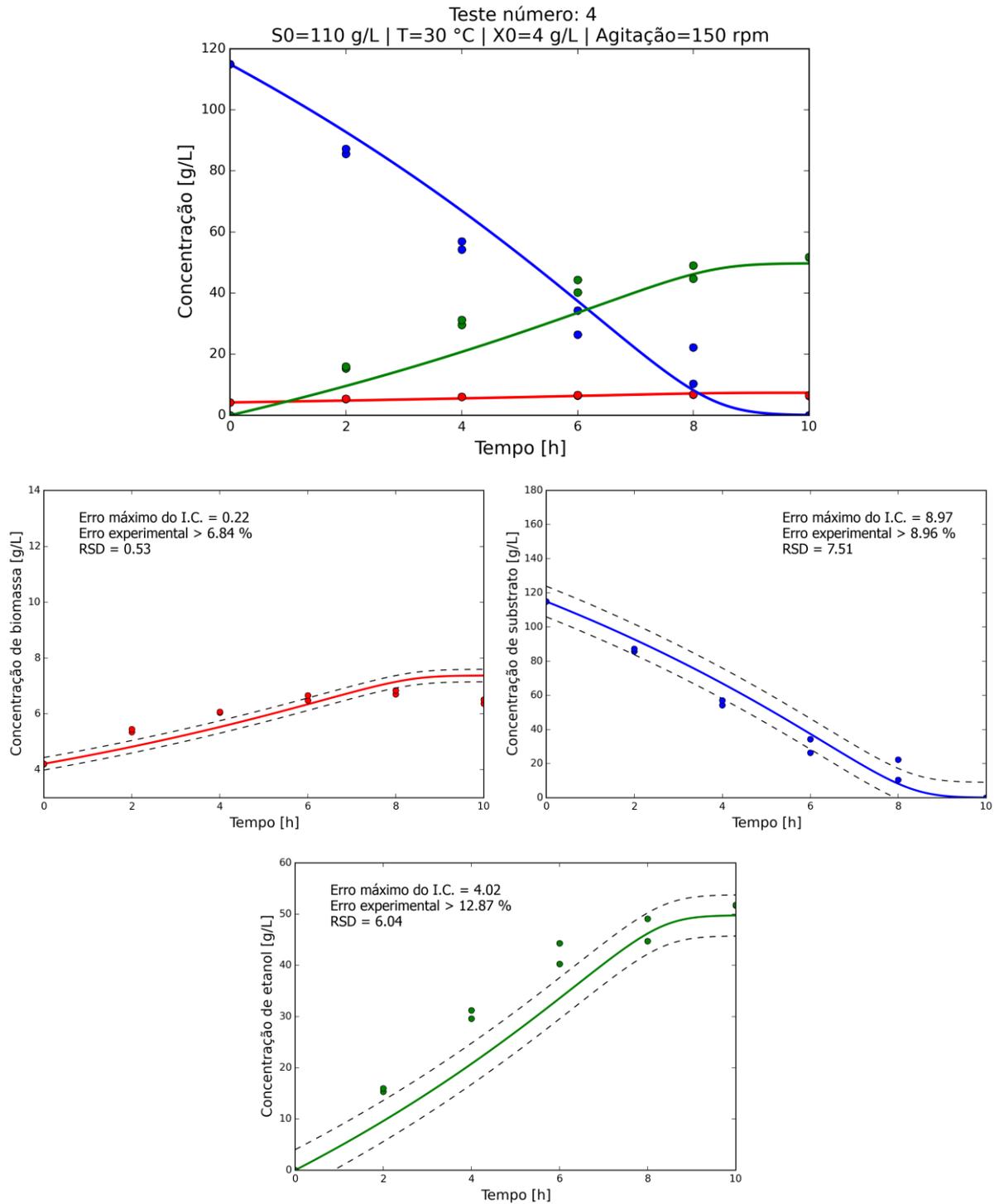


Figura 4.2 - Dados experimentais e Simulados para o teste 4: (●) Biomassa (Massa seca - $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de açúcares redutores totais ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de etanol ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (—) Modelo 1, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.

A Tabela 4.6 traz um resumo das análises estatísticas médias para futura discriminação entre os modelos, onde os erros experimentais aparentes foram calculados com $N = 72$ e $p = 6$ e os RSDs com base em todos os 6 ensaios.

Tabela 4.6 - Análise estatística média para o Modelo 1.

	Biomassa	Substrato	Produto
$\varepsilon_{exp}(\%) >$	8.37	7.36	10.19
RSD	0.57	5.05	3.66

Os RSDs indicam que os maiores desvios entre os dados teóricos e os experimentais são nos perfis de concentração de substrato, no entanto, apresentam escalas maiores que tornam o erro aparente menor. O erro experimental aparente da fermentação para o Modelo 1 com influência da concentração de substrato foi de 8.34% ($\varepsilon_{exp} > 8.34\%$).

4.2 MODELO 2: MODELO MECANÍSTICO

4.2.1 Metodologia

Para o Modelo 2, propôs-se uma adaptação ao modelo apresentado por Pinheiro (2011), com o objetivo de inferir com maior precisão as concentrações de célula, substrato e produto ao longo da reação, dentro dos limites estatísticos do Teste F. Desse modo, as hipóteses simplificadoras consideradas para este modelo foram:

- O modelo cinético não estruturado e não segregado, onde o micro-organismo é visto como uma espécie reagente simples, sem considerar variações nos componentes intracelulares e população homogênea;
- A cinética da reação é função da concentração de substrato e de produto (modelo de Ghose & Tyagi);
- Sistema em mistura perfeita, justificada pela presença de agitador mecânico;
- Reação isotérmica (fermentador com sistema de controle de temperatura);
- Volume constante;
- Há morte e manutenção celular.

O Quadro 4.2 traz as equações obtidas a partir dos balanços de massa aplicadas as hipóteses para o desenvolvimento do Modelo 2. A princípio, implementou-se um algoritmo para resolver o sistema de equações diferenciais ordinárias (EDOs) e estimar os parâmetros cinéticos a partir dos experimentos, utilizado para a otimização o método determinístico de mínimos quadrados de Levenberg-Marquardt.

Modelo 2: com morte e manutenção celular
$\frac{dX_v}{dt} = \mu \cdot X_v - k_d \cdot X_v$
$\frac{dX_d}{dt} = k_d \cdot X_v$
$\frac{dS}{dt} = -\left(\frac{\mu}{Y_{X/S}} + m_s\right) \cdot X_v$
$\frac{dP}{dt} = Y_{P/X} \cdot \mu \cdot X_v$
$X_T = X_v + X_d$
$\mu = f(S, P)$

Quadro 4.2 - Modelos matemáticos propostos para o Modelo 2.

Nesse modelo, os parâmetros cinéticos e a velocidade específica de morte e manutenção celular foram todos estimados a partir dos dados experimentais dos testes 1 a 6, sendo necessário a aplicação da Equação (4.2) para expressar a concentração total de célula presente no ensaio no instante medido. Dessa forma, a biomassa mensurada a partir da densidade óptica representa a quantidade de células viáveis mais as células não viáveis para a fermentação, de forma que a constância da massa medida significa que não há mais crescimento celular.

$$X_T = X_v + X_d \quad (4.2)$$

Após as estimativas dos parâmetros do modelo, os testes 1 a 6 foram simulados e analisados estatisticamente pelos RSDs, Teste F modificado (N = 12 e p = 8) e intervalo de confiança, de forma similar ao realizado para o Modelo 1. Em seguida, a condição operacional para o teste 8 (S₀ = 100g/L) foi simulada e confrontada com os dados experimentais, como forma de validar o modelo para influência da concentração inicial de substrato.

4.2.2 Resultados e discussão

Os parâmetros estimados são mostrados na Tabela 4.7 e as simulações para os testes 1 a 6 estão apresentados no Anexo III. Cada parâmetro apresenta um significado físico que deve ser levado em consideração para analisar se os valores estimados são coerentes para o processo.

Tabela 4.7 - Parâmetros estimados para o modelo que considera morte celular.

μ_{\max} (h ⁻¹)	K_s (g/L)	K_i (g/L)	P_{\max} (g/L)	$Y_{x/s}$ (g/g)	$Y_{p/x}$ (g/g)	m_s (h ⁻¹)	k_d (h ⁻¹)
0.200	23.587	103.502	201.443	0.031	15.700	0.272	0.054

Os parâmetros cinéticos expressam a máxima velocidade específica de crescimento celular (μ_{\max}), a concentração de substrato limitante quando a velocidade de crescimento específica é igual à metade do seu valor (K_s), a concentração de substrato em que se inicia a inibição (K_i) e a concentração de produto onde cessa o crescimento microbiano (P_{\max}).

Observa-se que a relação entre os parâmetros K_s e K_i seguiu a tendência relatada na literatura (BORGES, 2008; TOSETTO, 2002), pois espera-se que a condição $K_i > K_s$ seja satisfeita, caso contrário, os parâmetros não teriam sentido físico, visto a impossibilidade de ocorrer inibição pelo substrato antes mesmo da máxima velocidade específica de crescimento celular ser alcançada.

Os parâmetros estequiométricos relacionam de forma geral os rendimentos entre célula, substrato e produto, representando a conversão de célula em produto ($Y_{p/x}$) e de substrato em célula ($Y_{x/s}$). Nota-se que os parâmetros de rendimentos não foram afetados pela mudança do modelo matemático, mantendo aproximadamente a mesma relação entre as variáveis, mostrando que a inclusão do termo de morte e manutenção celular só afetam os parâmetros cinéticos. Esse resultado já era esperado, uma vez que $Y_{p/x}$ e $Y_{x/s}$ são funções da estequiometria da reação, evidenciando que os parâmetros estimados são fisicamente admissíveis.

Outra relação interessante é entre a máxima velocidade específica de crescimento e a velocidade específica de morte celular (k_d), pois espera-se que ocorra um saldo positivo de células viáveis no começo da fermentação e isso só pode ser obtido com $\mu_{\max} > k_d$. Observa-se que a velocidade específica para manutenção celular (m_s) é maior que a máxima velocidade específica de crescimento celular (μ_{\max}), justificando a quantidade relativamente pequena de células mortas ao decorrer da reação.

Para ilustrar a qualidade do Modelo 2, as simulações dos testes 1 e 6 são mostrados nas Figuras 4.3 e 4.4 como o melhor e o pior ajuste aos dados experimentais para a produção de etanol, respectivamente.

A Tabela 4.8 resume a análise estatística dos 6 testes utilizados na estimativa dos parâmetros para avaliar a qualidade de predição do modelo pelo cálculo do desvio padrão residual e pelo erro experimental aparente.

Percebe-se uma redução significativa nos RSDs e nos erros aparentes para a concentração de substrato e de produto, quando comparados ao Modelo 1, comprovando que o modelo que considera morte e manutenção celular representa mais fielmente o processo.

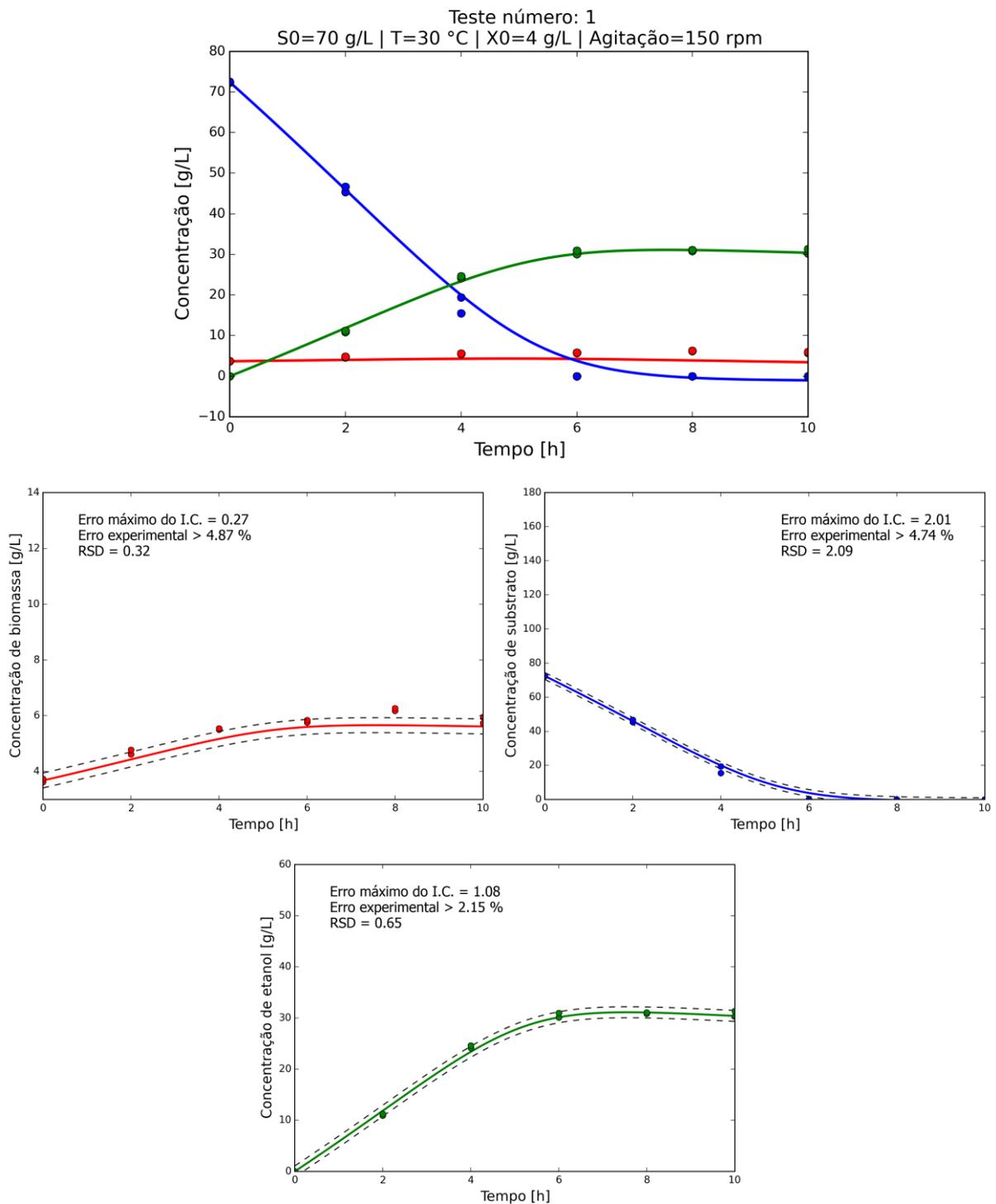


Figura 4.3 - Dados experimentais e Simulados para o teste 1: (●) Biomassa (Massa seca - $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de açúcares redutores totais ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de etanol ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (—) Modelo 2, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.

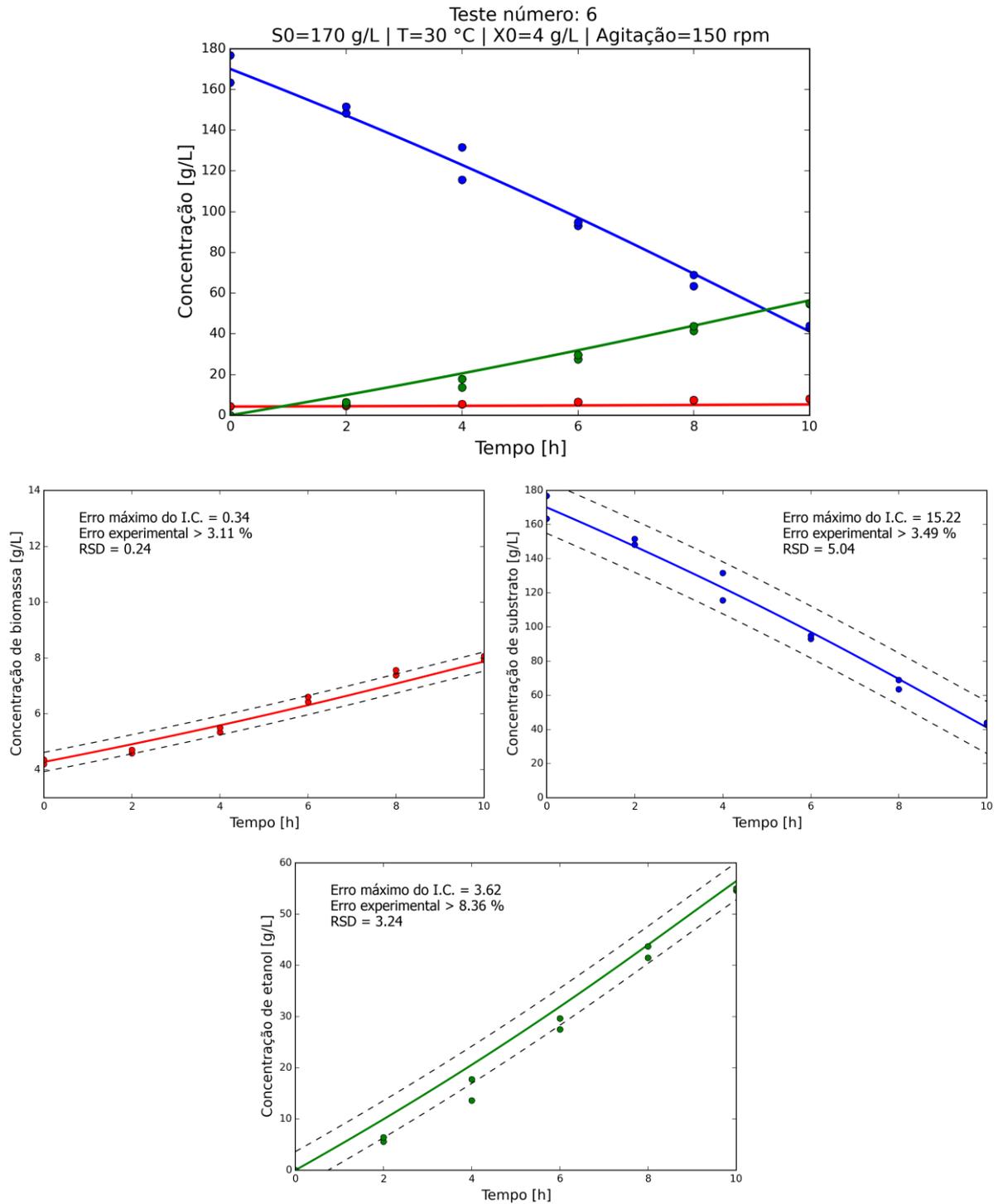


Figura 4.4 - Dados experimentais e Simulados para o teste 6: (●) Biomassa (Massa seca - $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de açúcares redutores totais ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de etanol ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (—) Modelo 2, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.

Como para todos os ensaios a condição de $\varepsilon_{exp} > \varepsilon_{aparente}$ foi satisfeita, o modelo mostrou-se estatisticamente adequado para descrever a fermentação em estudo com influência da concentração inicial de substrato. Pode-se notar que o modelo conseguiu se adaptar melhor

ao comportamento dos dados experimentais, uma vez que os pontos estão no intervalo de confiança das duplicatas, confirmando que as hipóteses aplicadas são mais apropriadas para a reação em estudo.

Tabela 4.8 - Análise estatística dos testes para o Modelo 2: modelo com morte e manutenção celular.

Teste	Biomassa		Substrato		Produto	
	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$
1	0.32	4.87	2.09	4.74	0.65	2.15
2	0.94	10.39	2.31	4.50	1.84	5.80
3	0.28	4.01	2.65	4.12	2.33	6.10
4	0.48	6.49	5.25	6.58	3.44	7.71
5	0.45	6.30	2.64	2.64	1.50	3.43
6	0.24	3.11	5.04	3.49	3.24	8.36

Outra forma de verificar a predição de um modelo é através do erro relativo ao final da fermentação. Constata-se pelos gráficos apresentados no Anexo III para o Modelo 2, que o tempo de fermentação varia para cada concentração inicial de açúcar e essa delimitação é obtida quando a concentração de etanol é mantida aproximadamente constante ($dP/dt \cong 0$) ou quando o tempo de 10h é alcançado. É importante ter em vista o erro relativo do modelo para a concentração de etanol (produto de interesse) ao final da fermentação, pois todas as análises anteriores foram realizadas levando em consideração o todos os dados experimentais do ensaio.

A Tabela 4.9 traz o tempo de reação e o erro relativo para a concentração de etanol nesse instante. Observa-se erro máximo de 4.6 % para o teste 3, significativamente inferior aos erros típicos de 10% para variáveis medidas em processos fermentativos.

Tabela 4.9 - Erro relativo ao final da fermentação para o Modelo 2.

Teste	1	2	3	4	5	6
Tempo (h)	6.0	8.0	8.0	10.0	10.0	10.0
Erro relativo (%)	0.11	2.37	4.60	4.18	0.85	2.68

A validação do Modelo 2 também foi realizada por inspeção do comportamento dos perfis de concentração e análise estatística para o teste 8 (ensaio não utilizado na estimativa dos parâmetros do modelo), mostrados na Figura 4.5.

O ensaio 8 foi conduzido nas mesmas condições de temperatura e agitação (30°C e 150 rpm) com concentração inicial de substrato de 100 g/L e de célula de 5 g/L. Consta-se pelo comportamento das curvas que o Modelo 2 se ajusta de forma bem satisfatória ao novo conjunto de dados experimentais, além de se mostrar estatisticamente adequado, pois os valores de RSDs são pequenos e erros aparentes menores que o erro médio para essa fermentação (Tabela 3.3).

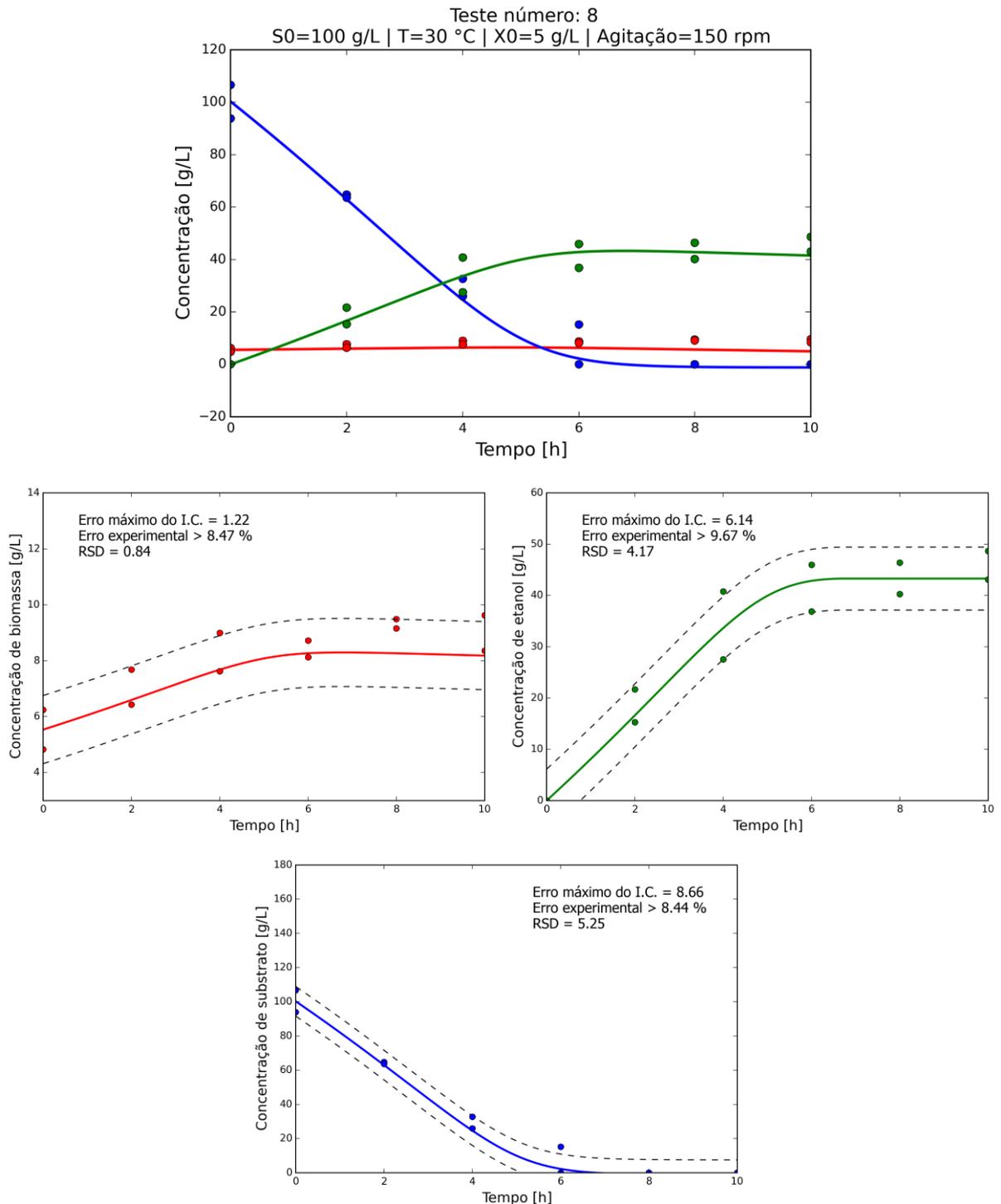


Figura 4.5 - Validação do Modelo 2 utilizando teste 8: (●) Biomassa (Massa seca - g.L⁻¹); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L⁻¹); (●) Concentração de etanol (g.L⁻¹); (—) Modelo 2, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.

Nota-se também que o modelo conseguiu absorver de forma suficiente as mudanças físicas do processo existente pelo aumento da concentração celular, já que os dados experimentais estão contidos no intervalo de confiança para as medidas experimentais. Dessa forma, o Modelo 2 incorpora a influência da concentração inicial de substrato e assim, partiu-se para a implementação da influência da temperatura.

O resumo dos valores do Teste F modificado e do RSDs para o modelo são apresentados na Tabela 4.10. De forma comparativa ao Modelo 1, o desvio padrão residual entre os dados teóricos e experimentais foi reduzido em mais de 37% para o substrato e 40% para o produto, o que torna esse modelo mais preciso. Como consequência, os erros aparentes também foram reduzidos, logo o erro experimental atribuído à fermentação foi de $\epsilon_{\text{exp}} > 5.42\%$.

Tabela 4.10 - Análise estatística média para o Modelo 2.

	Biomassa	Substrato	Produto
$\epsilon_{\text{exp}}(\%) >$	8.33	4.83	6.28
RSD	0.54	3.18	2.17

4.3 MODELO 3: MODELO MECANÍSTICO

4.3.1 Metodologia

Sabe-se que as condições operacionais influenciam diretamente a fermentação e pensando nisso, propõem-se considerar para o Modelo 2 a influência da temperatura do meio.

Para descrever a dependência da temperatura, optou-se pela equação de Arrhenius modificada, Equação (4.3), onde os parâmetros A e C são constantes, B e D são as energias de ativação divididas pela constante dos gases ideais.

$$\text{Parâmetro} = A \cdot e^{\left(\frac{B}{T}\right)} + C \cdot e^{\left(\frac{D}{T}\right)} \quad (4.3)$$

Assim, para o Modelo 3 foram consideradas as mesmas hipóteses simplificadoras utilizadas na proposição do Modelo 2, acrescentando a dependência da temperatura para o modelo cinético e os parâmetros estequiométricos. As equações estão expostas no Quadro 4.3,

onde os parâmetros μ_{max} , $Y_{X/S}$ e $Y_{P/X}$ foram reestimados utilizando o método determinístico de mínimos quadrados de Levenberg-Marquardt.

Modelo 3: influência da temperatura	
$\frac{dX_v}{dt} = \mu \cdot X_v - k_d \cdot X_v$	
$\frac{dX_d}{dt} = k_d \cdot X_v$	$\mu = f(S, P, T)$
$\frac{dS}{dt} = -\left(\frac{\mu}{Y_{X/S}} + m_s\right) \cdot X_v$	$Y_{X/S} = f(T)$
$\frac{dP}{dt} = Y_{P/X} \cdot \mu \cdot X_v$	$Y_{P/X} = f(T)$
$X_T = X_v + X_d$	

Quadro 4.3 - Modelo matemático proposto para o Modelo 3.

Os testes 7 a 11 foram usados para estimar os parâmetros com influência da temperatura, com exceção do teste 10 que foi retirado para posterior validação do modelo. Em seguida, simulou-se os 11 ensaios que apresentam variação na concentração inicial de substrato e temperatura do meio, todos submetidos à mesma agitação. Dentre os ensaios, aqueles que representam limites de adequação do modelo são mostrados para monitoramento frente aos dados experimentais.

De forma similar aos modelos anteriores, realizou-se a análise estatística a partir do cálculo do RSD e do erro aparente dos dados experimentais para probabilidade de 95% com o objetivo de quantificar os desvios do modelo para poder então qualificá-lo em adequado ou inadequado para representar a fermentação.

Buscando a otimização do processo, estudou-se os parâmetros de eficiência, produtividade e volume de etanol ao final da fermentação. A metodologia dos cálculos é apresentado a seguir.

Todas as simulações foram realizadas para tempos ideais de fermentação, essa delimitação é obtida quando a concentração de etanol é mantida aproximadamente constante, sendo implementado o critério de parada mostrado na Equação (4.4).

$$\frac{dP}{dt} \cong 0 \quad (4.4)$$

- i. Eficiência da fermentação (η_p)

$$\eta_p(\%) = \frac{Y_{P/S}}{Y_{P/S}^{teórico}} \cdot 100 \quad (4.5)$$

Sabendo-se que $Y_{P/S}^{teórico} = 0.511$ e que o coeficiente de rendimento de substrato a produto (etanol) é dado por:

$$Y_{P/S} = \frac{\text{quantidade produzida de etanol}}{\text{quantidade consumida de açúcar}} \quad (4.6)$$

$$Y_{P/S} = \frac{P_f}{S_0 - S_f} \quad (4.7)$$

- ii. Produtividade volumétrica (Q_p)

$$Q_p(gL^{-1}h^{-1}) = \frac{P_{máx}}{t} \quad (4.8)$$

A produtividade volumétrica de etanol foi calculada como a razão da concentração máxima de etanol (final da reação) e o tempo de fermentação no qual $P_{máx}$ foi alcançado.

- iii. Volume de etanol / volume total (v/v)

$$v/v(\%) = \frac{P_f}{798.0} \cdot 100 \quad (4.9)$$

4.3.2 Resultados e discussão

Para descrever a dependência dos parâmetros cinético e estequiométrico (μ_{max} , $Y_{x/s}$, $Y_{p/x}$) com a temperatura, a equação de Arrhenius e Arrhenius modificada foram testadas, no entanto, a equação modificada apresentou melhores resultados, pois o comportamento dos parâmetros de bioprocessos podem apresentar mudança na tendência como ilustrado na Figura 4.6. Os perfis apresentados seguem a mesma tendência dos resultados obtidos por Pinheiro (2011) para a fermentação em estudo, apesar de que o autor citado utilizou do modelo cinético de Monod, mostrando coerência qualitativa dos parâmetros estimados.

Os valores obtidos para as constantes da equação de Arrhenius com o uso do modelo cinético de Ghose & Tyagi foram estimados para a faixa de temperatura entre 26 a 42 °C e são mostrados na Tabela 4.11.

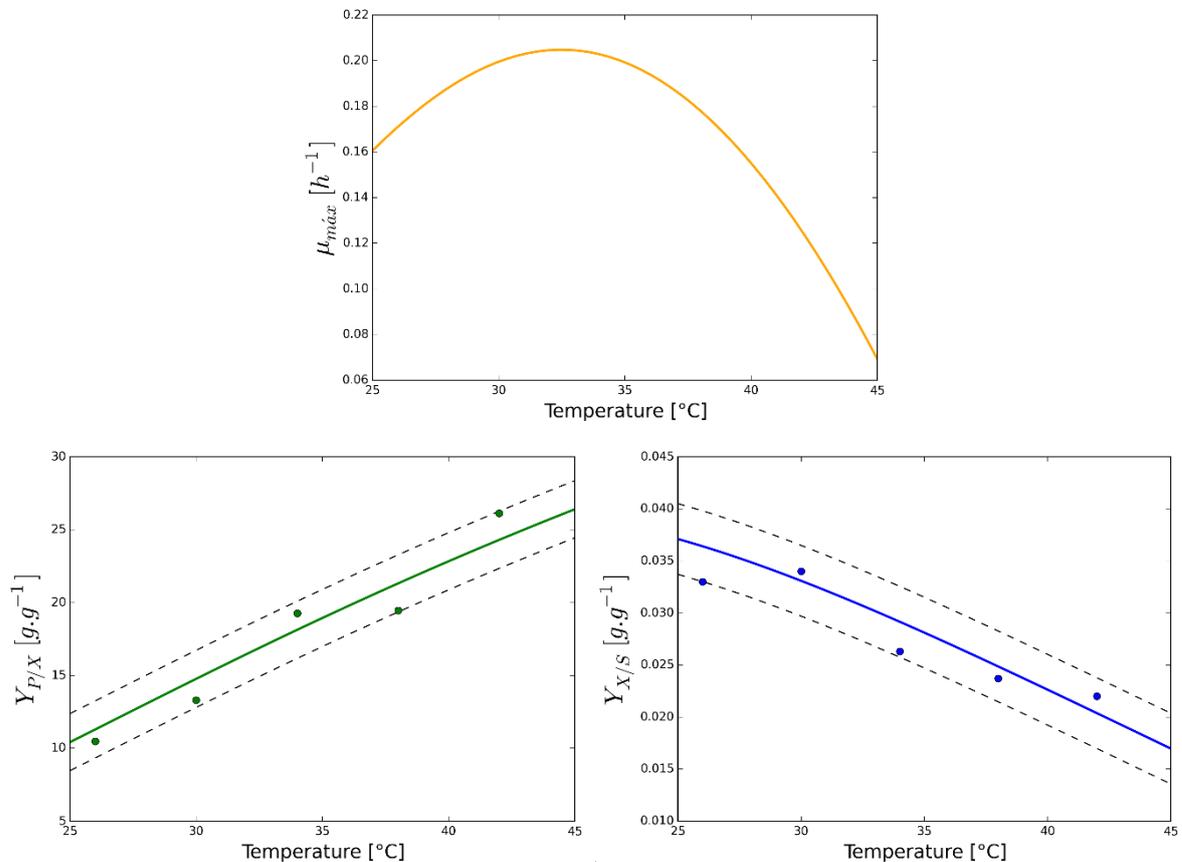


Figura 4.6 - Equação de Arrhenius modificada para o efeito da temperatura: (—) Máxima taxa específica de crescimento celular (h^{-1}); (—) Produção de etanol baseada no crescimento celular ($g.g^{-1}$); (—) Crescimento de célula baseado no consumo de açúcar totais ($g.g^{-1}$); (●) Média dos dados experimentais; (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.

Tabela 4.11 - Valores das constantes para a equação de Arrhenius modificada.

	A	B	C	D
μ_{max}	2.305	-61.786	-15.326	-152.713
$Y_{x/s}$	-0.187	-83.083	0.050	-3.288
$Y_{p/x}$	41.086	-52.601	43.330	-52.015

Nota-se que o gráfico para a máxima velocidade específica de crescimento celular apresenta perfil parabólico com valor máximo obtido para a temperatura de aproximadamente 34°C. Para os parâmetros de rendimento, obteve-se dependência diretamente proporcional para $Y_{p/x}$ e inversamente proporcional para $Y_{x/s}$, sendo praticamente linear para o intervalo de temperatura estudado.

A Figura 4.8 mostra a produção de etanol baseado no consumo de açúcar ($Y_{p/s}$) obtida pelo produto de $Y_{p/x}$ e $Y_{x/s}$. Nota-se que a produção de etanol é favorecida no intervalo de temperatura de 34 a 38°C, com valor máximo obtido em aproximadamente 36°C.

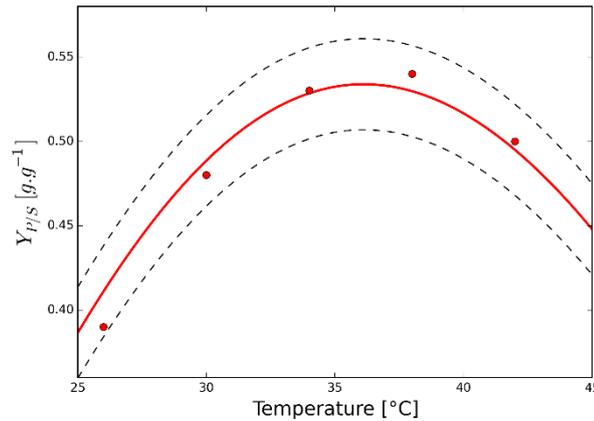


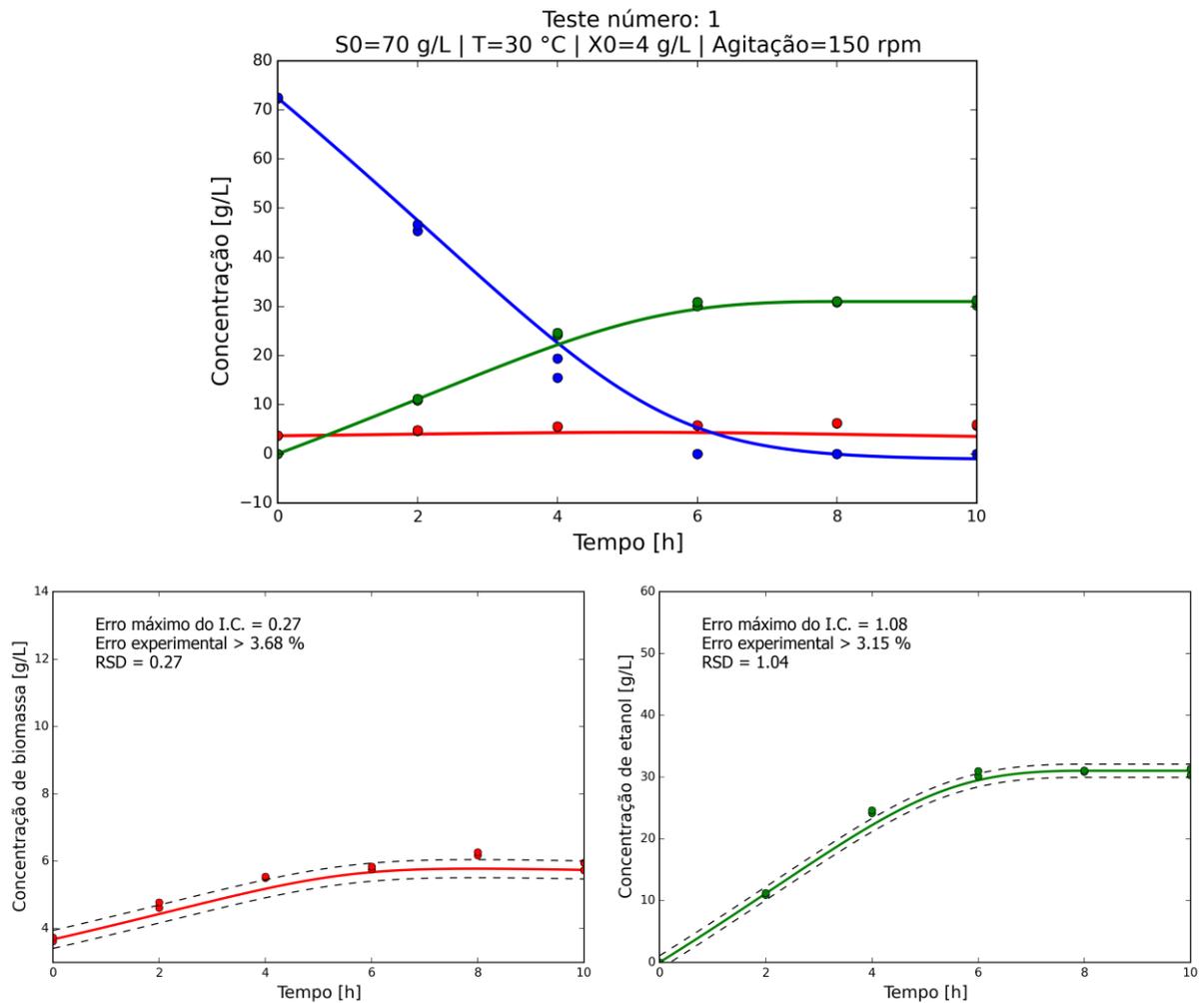
Figura 4.7 - (—) Produção de etanol baseada no consumo de açúcar para o efeito da temperatura ($g \cdot g^{-1}$); (●) Média dos dados experimentais; (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.

A Tabela 4.12 traz as análises estatísticas das simulações dos ensaios com variação da concentração inicial de substrato (testes 1 a 6) e temperatura (testes 7 a 11). Constata-se que os valores dos RSDs não são elevados e os erros aparentes estão dentro dos limites de adequação para todos os testes (ver Tabela 3.3). Assim, o modelo demonstra concordância quantitativa para a influência da temperatura.

Tabela 4.12 - Análise estatística dos testes para o Modelo 3.

Teste	Biomassa		Substrato		Produto	
	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$
1	0.27	3.68	3.24	6.70	1.04	3.15
2	0.89	10.66	2.39	4.25	1.18	3.40
3	0.24	3.18	3.25	4.61	2.86	6.82
4	0.56	6.90	5.06	5.79	4.43	9.06
5	0.50	6.35	3.89	3.55	2.34	4.87
6	0.24	2.90	7.09	4.48	2.52	5.93
7	0.44	3.83	3.32	5.35	2.22	6.91
8	0.78	7.14	4.62	6.77	4.35	9.22
9	0.52	5.35	5.14	6.92	3.04	5.48
11	0.92	8.94	9.44	12.68	4.13	8.59

Os gráficos referentes a simulação do Modelo 3 são ilustrados no Anexo III, contudo, os testes 1 e 8 são mostrados nas Figuras 4.9 e 4.10 por representarem os limites de ajuste do modelo para a produção de etanol. Observa-se, pelo intervalo de confiança médio dos dados experimentais para cada ensaio, que o Modelo 3 é capaz de descrever fisicamente o comportamento da fermentação com efeito da concentração de substrato e temperatura, pois a maioria dos pontos experimentais estão contidos no intervalo de confiança das duplicatas.



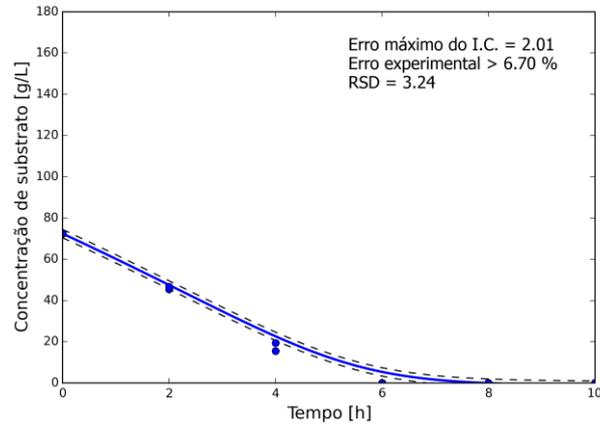
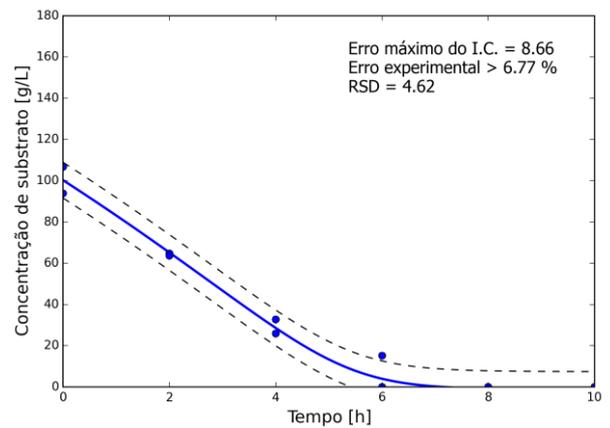
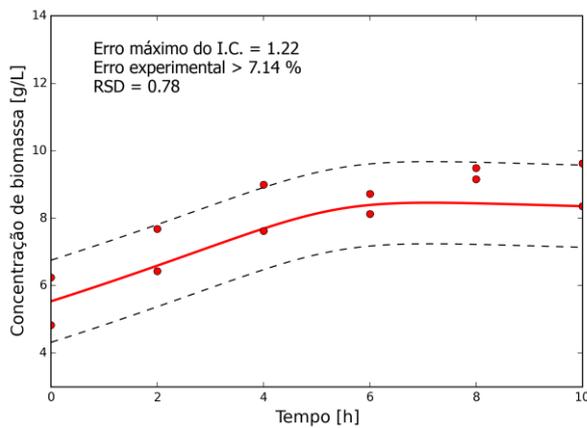
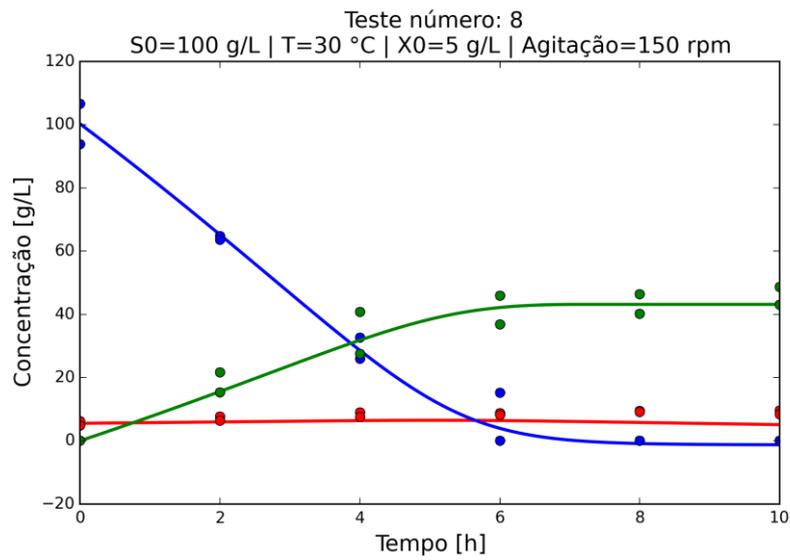


Figura 4.8 - Dados experimentais e Simulados para o teste 1: (●) Biomassa (Massa seca - g.L^{-1}); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (●) Concentração de etanol (g.L^{-1}); (—) Modelo 3, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.



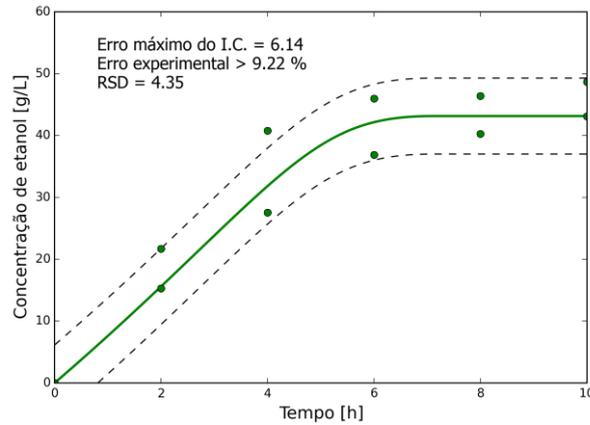


Figura 4.9 - Dados experimentais e Simulados para o teste 8: (●) Biomassa (Massa seca - g.L^{-1}); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (●) Concentração de etanol (g.L^{-1}); (—) Modelo 3, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.

Além das análises estatísticas apresentadas, calcularam-se os erros relativos do modelo para a concentração de etanol (produto de interesse) ao final da fermentação. A Tabela 4.13 traz o tempo de reação e o erro relativo para a concentração de etanol nesse instante, sendo superior a 10% para o teste 7. Para fermentações, o erro de referência é de aproximadamente 10% devido à falta de reprodutibilidade e flutuações naturais do processo (PAIVA *et al.*, 1996). Logo, os erros calculados são aceitáveis e o modelo é satisfatório.

Tabela 4.13 - Erro relativo ao final da fermentação para o Modelo 3.

Teste	Tempo (h)	Erro relativo (%)
1	8.0	0.20
2	8.0	1.71
3	10.0	6.11
4	10.0	4.41
5	10.0	1.20
6	10.0	3.26
7	8.0	10.63
8	8.0	1.62
9	8.0	3.28
11	8.00	1.84

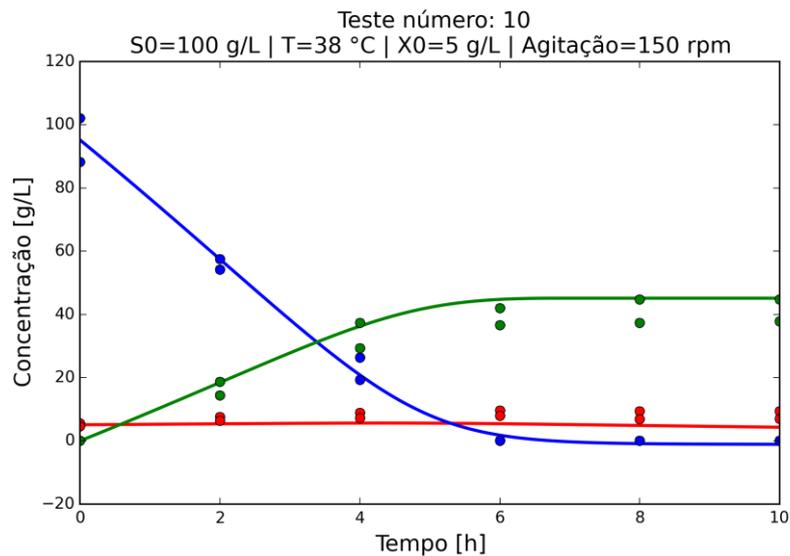
A validação do Modelo 3 também foi realizada por inspeção do comportamento dos perfis de concentração e análise estatística para o teste 10 (ensaio não utilizado na estimativa dos parâmetros do modelo), mostrados na Figura 4.10.

Pode-se perceber que o erro experimental aparente para a concentração celular foi elevado, porém os dados experimentais apresentam diferença expressiva entre as duplicatas que pode ser constatado pelo intervalo de confiança médio do ensaio. Para os perfis de concentração de substrato e produto, os erros aparentes são menores que os erros experimentais (ver Tabela 3.3), validando o modelo para a influência da temperatura.

Para discriminação entre os modelos propostos, a Tabela 4.14 resume os valores do Teste F modificado e do RSDs para o modelo. Nota-se um aumento no RSD e no Teste F (calculado para $N = 132$ e $p = 16$) para a biomassa, substrato e produto, quando comparados ao Modelo 2. No entanto, houve um aumento significativo no número de parâmetros do modelo, passando de 8 parâmetros (Modelo 2) para 16 parâmetros (Modelo 3).

Tabela 4.14 - Análise estatística média para o Modelo 3.

	Biomassa	Substrato	Produto
$\epsilon_{\text{exp}}(\%) >$	9.65	7.50	9.28
RSD	0.70	5.04	3.22



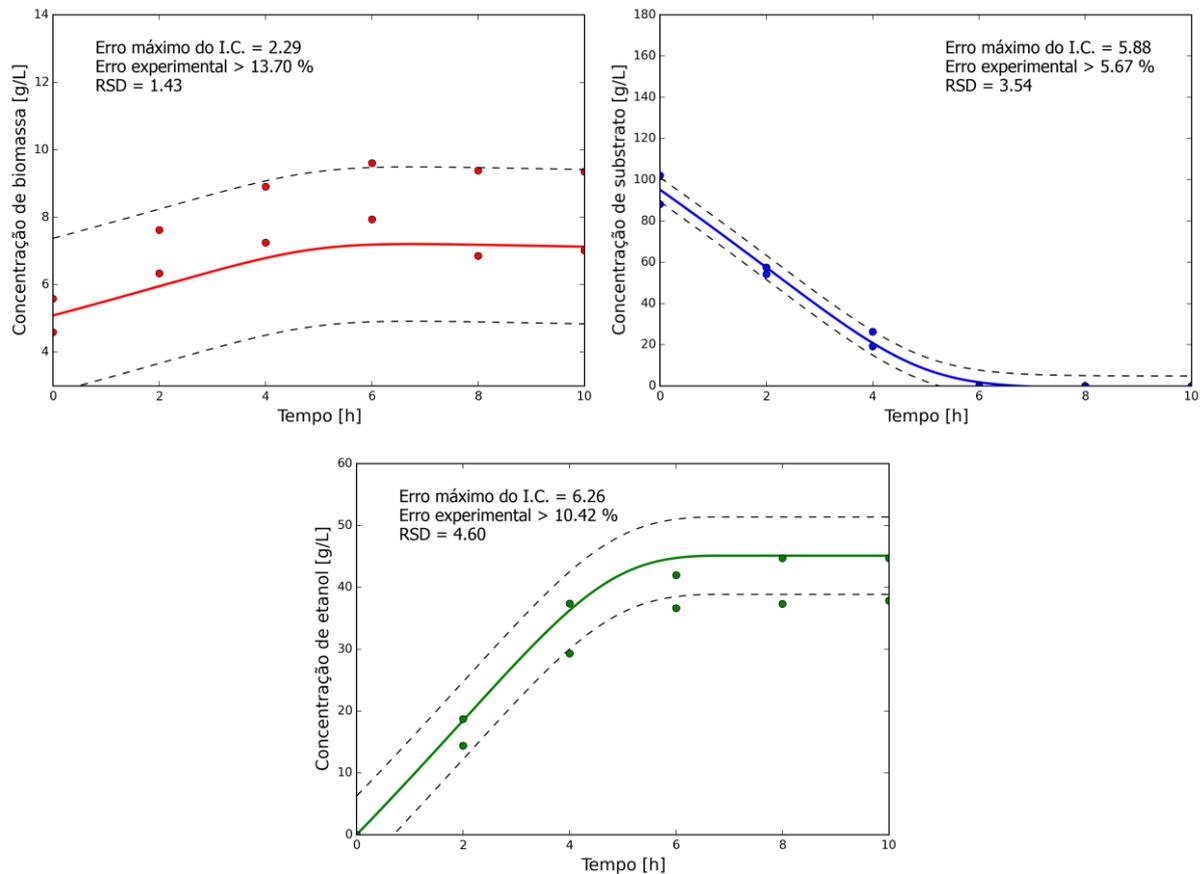


Figura 4.10 - Validação do Modelo 3 utilizando teste 10: (●) Biomassa (Massa seca - g.L^{-1}); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (●) Concentração de etanol (g.L^{-1}); (—) Modelo 2, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.

Como consequência, o erro aparente para a fermentação também foi alterado para $\epsilon_{\text{exp}} > 7.82\%$, mas mesmo com o aumento do erro aparente, o Modelo 3 mostrou-se adequado estatisticamente e também quando confrontado com novo ensaio (teste 10).

Desse modo, é interessante compreender como a concentração inicial de açúcar e a temperatura podem afetar a fermentação alcoólica. Para isso, gráficos de superfície de resposta do Modelo 3 são ilustrados a seguir, visando a otimização do processo com base nos parâmetros de eficiência, produtividade e volume de etanol ao final da fermentação.

4.3.2.1 Avaliação do efeito da concentração inicial de substrato e da temperatura

O Modelo 3 foi simulado para intervalos de 70 a 170 g/L de concentração inicial de açúcares redutores e 26 a 42 $^{\circ}\text{C}$ de temperatura, com valores fixos de 4 g/L de concentração inicial de biomassa e 150 rpm de agitação.

As Figuras 4.12 e 4.13 ilustram o tempo da fermentação e a concentração final de etanol para cada condição operacional com comparação dos dados experimentais, respectivamente. Como pode-se observar, o tempo de reação mínimo foi de 5 h na temperatura média ($S_0 = 70$ g/L e $T = 34^\circ\text{C}$) e máximo de 18 h nos extremos do intervalo de temperatura ($S_0 = 170$ g/L e $T = 26$ e 42°C). A concentração máxima de etanol formado ao final da fermentação foi obtida na concentração de 170 g/L e temperatura de aproximadamente 36°C . Para as condições testadas experimentalmente, percebe-se que as respostas do modelo se ajustaram bem aos dados experimentais, com valores médios das duplicatas compreendidos no intervalo de confiança.

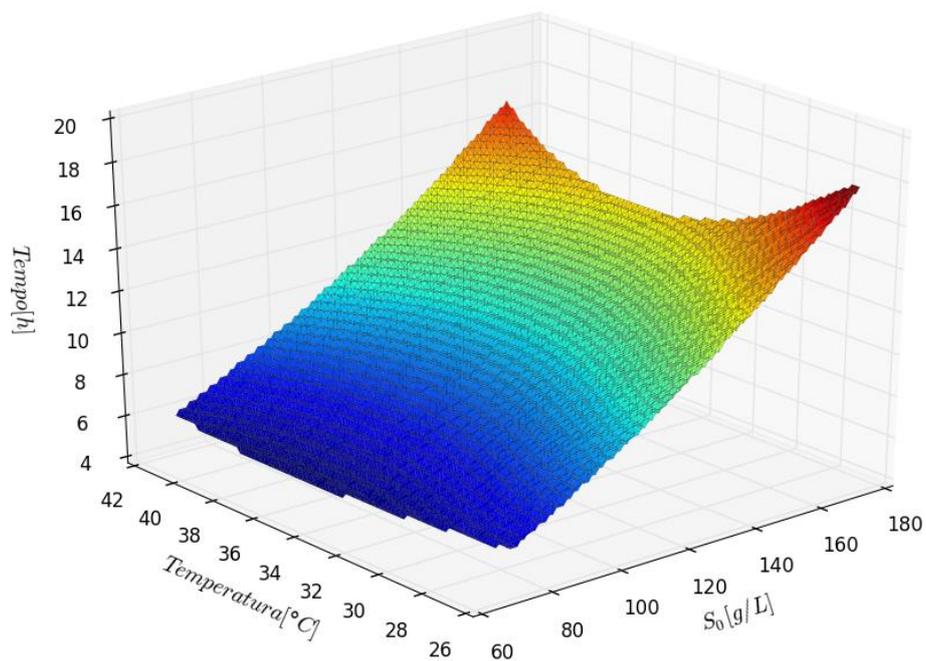


Figura 4.11 - Superfície de resposta do Modelo 3 para o efeito da concentração inicial de substrato e da temperatura no tempo da fermentação, sendo a concentração inicial de célula e a agitação fixadas em 4 g/L e 150 rpm.

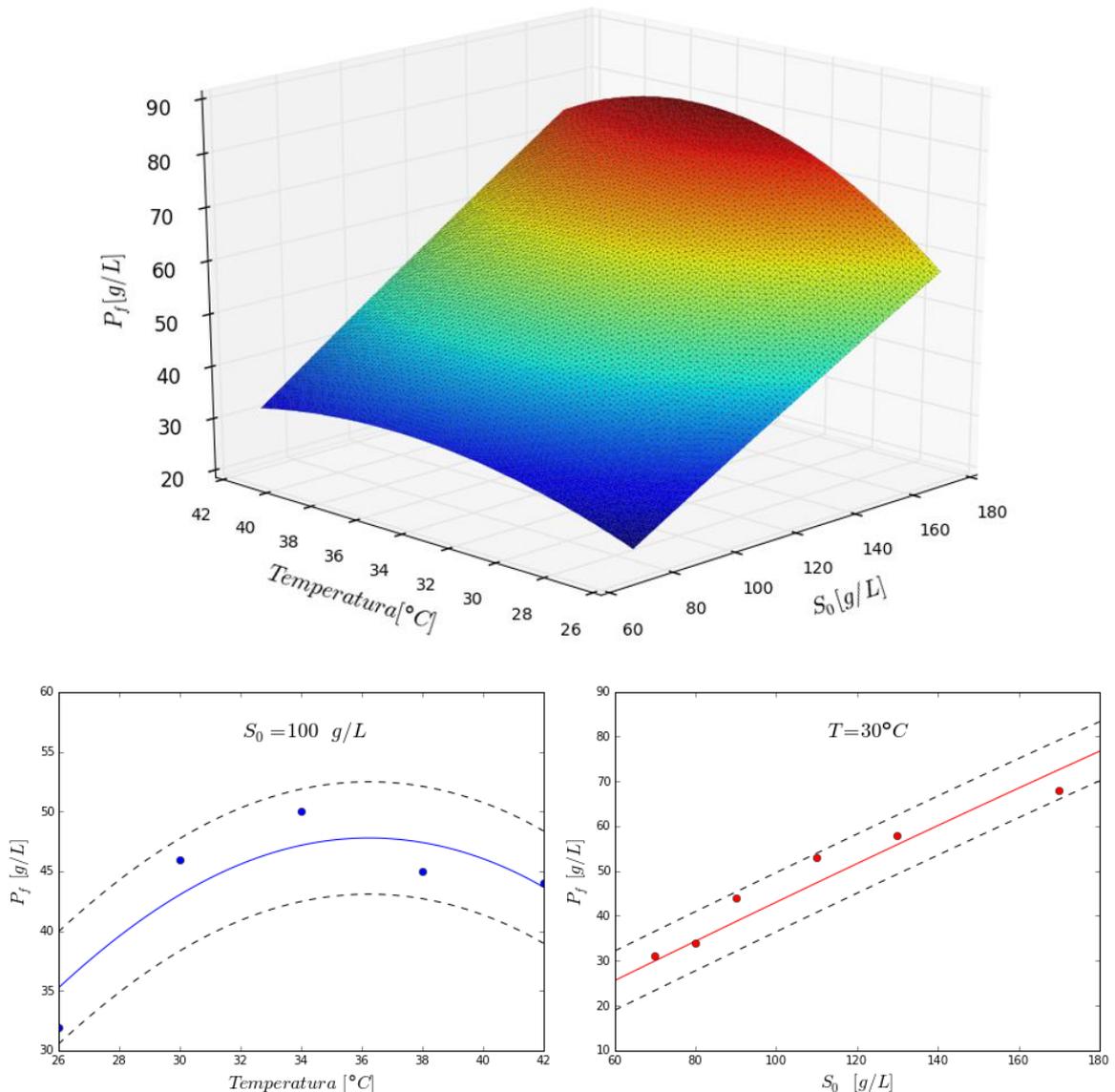


Figura 4.12 - Superfície de resposta do Modelo 3 para o efeito da concentração inicial de substrato e da temperatura na produção de etanol, sendo a concentração inicial de célula e a agitação fixadas em 4 g/L e 150 rpm: (—) Modelo 3; (●) Dados experimentais; (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.

Esses resultados confirmam o esperado, pois a velocidade específica máxima de crescimento das células de levedura *S. cerevisiae* exibe valor máximo na temperatura de 34°C, assim, o consumo de substrato é mais rápido e o tempo de fermentação menor. De forma análoga, constata-se pela Figura 4.8 que o rendimento em etanol é máximo para a temperatura de aproximadamente 36°C, sendo assim, quanto maior a quantidade de açúcar oferecido, maior a concentração de etanol formado nessa temperatura, como observado na Figura 4.13.

Nota-se também pela Figura 4.13 que a concentração final de produto não é afetada pela inibição por substrato que acontece para concentrações superiores a $S_0 = 102.5$ g/L, apresentando comportamento linear crescente. Este fato deve-se ao tempo de fermentação, uma

vez que a concentração de substrato influencia diretamente na velocidade específica de crescimento celular, assim, o maior tempo de fermentação compensa a menor velocidade específica, mantendo aproximadamente o mesmo rendimento ao final reação.

Para a otimização do processo, investigou-se a influência das condições operacionais de concentração inicial de substrato e temperatura nos parâmetros de eficiência, produtividade e volume de etanol ao final da fermentação.

A % (v/v) de etanol é um parâmetro importante para a destilação do meio fermentado e é diretamente relacionado aos custos do processo. Logo, uma restrição para o processo é de a vinhaça conter valor mínimo de 4 % (v/v) de etanol, evitando formação de azeótropo na mistura. A Figura 4.14 permite afirmar que a fermentação não é viável economicamente para baixas concentrações de açúcar e temperaturas.

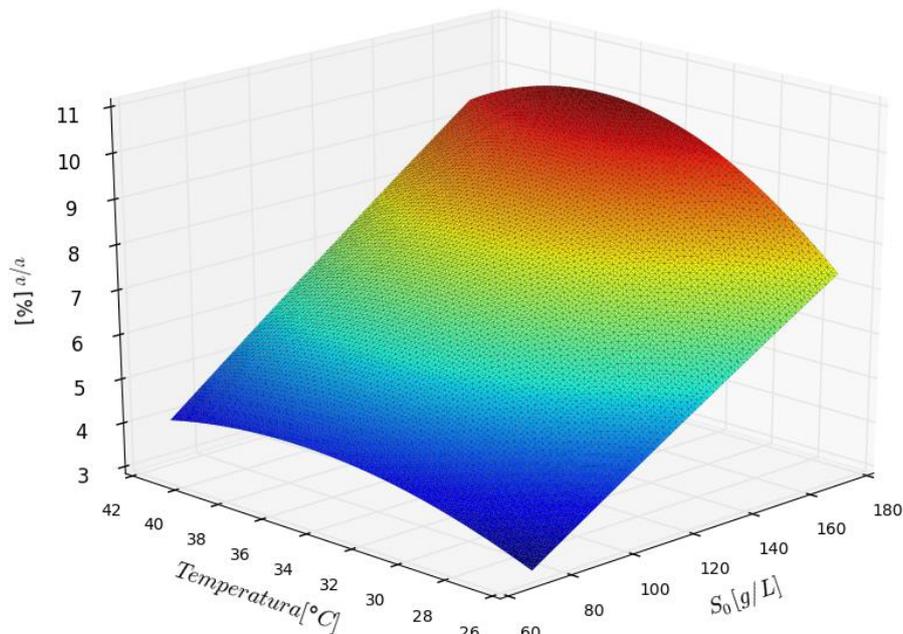


Figura 4.13 - Superfície de resposta do Modelo 3 para o efeito da concentração inicial de substrato e temperatura na % (v/v) de etanol na fermentação, sendo a concentração inicial de célula e a agitação fixadas em 4 g/L e 150 rpm.

A eficiência do processo nos permite mensurar quanto do açúcar oferecido foi utilizado para formação de etanol. Como os parâmetros de rendimentos da reação são funções da temperatura, a eficiência será a mesma para cada temperatura, como ilustrado na Figura 4.15. A eficiência máxima foi de 93.5% para a temperatura de 36°C, já apresentado na Figura 4.8.

O critério de otimização mais relevante nesse caso é a produtividade, ilustrada na Figura 4.16. A relação concentração de etanol por tempo fornece valor máximo de 5.45 gL⁻¹h⁻¹ em condições de concentração inicial de substrato entre 100 a 120 g/L e temperatura entre 34 e

36°C. Nota-se que nessa condição há aproximadamente 6,5 % (v/v) de etanol depois de 9h de fermentação.

Logo, as condições operacionais ótimas para a fermentação estudada com base no Modelo 3 (influência da concentração inicial de substrato e temperatura) são: concentração inicial de substrato entre 100 a 120 g/L, temperatura entre 34 e 36°C, concentração inicial de célula de 4 g/L e agitação de 150 rpm.

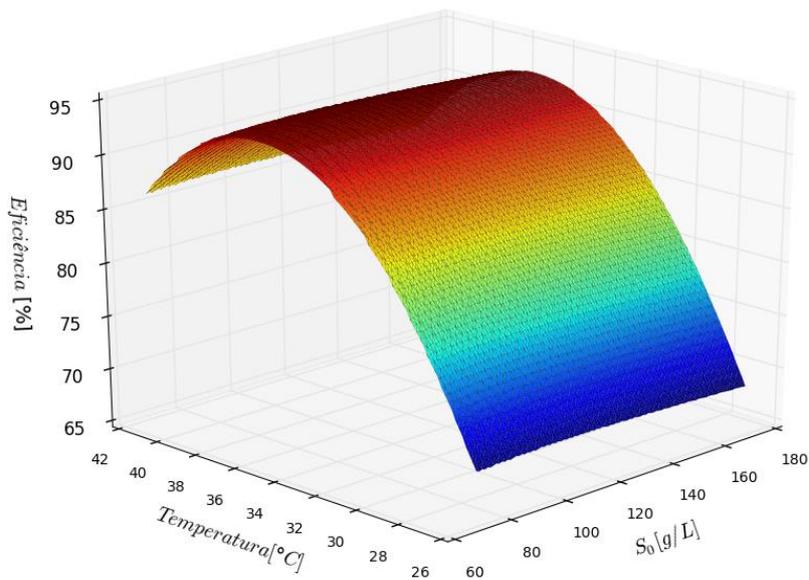


Figura 4.14 - Superfície de resposta do Modelo 3 para o efeito da concentração inicial de substrato e temperatura na eficiência de etanol na fermentação, sendo a concentração inicial de célula e a agitação fixadas em 4 g/L e 150 rpm.

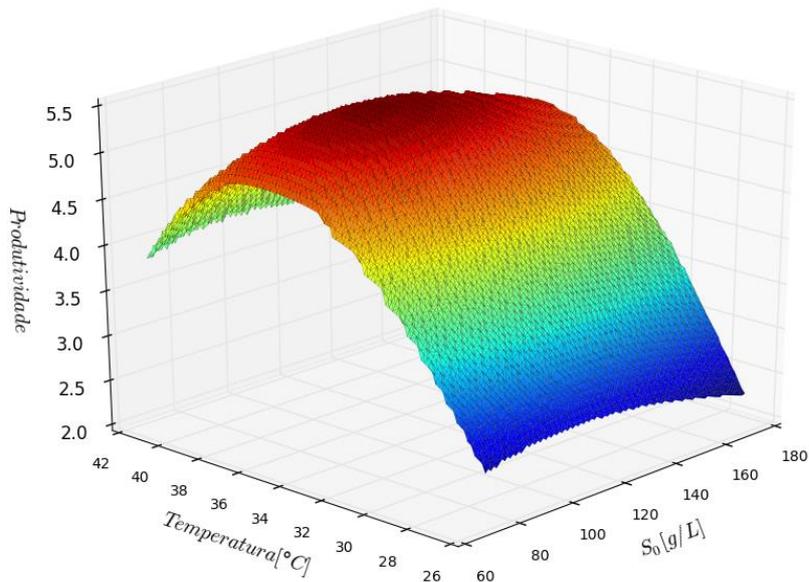


Figura 4.15 - Superfície de resposta do Modelo 3 para o efeito da concentração inicial de substrato e temperatura na produtividade de etanol na fermentação, sendo a concentração inicial de célula e a agitação fixadas em 4 g/L e 150 rpm.

4.4 MODELO 4: MODELO MECANÍSTICO

4.4.1 Metodologia

Nesta seção, propõe-se considerar a influência da concentração celular e da intensidade de agitação. Esses dois parâmetros são relevantes para a reação, pois o microrganismo utilizado é a levedura *S. cerevisiae* flocculante que possui a característica de formar pequenos flóculos que podem se depositar no fundo do fermentador, criando zonas de menor e maior concentração celular, interferindo na transferência de massa. A intensidade da agitação imposta à reação e a concentração inicial de célula são essenciais para manter os flóculos em suspensão durante a fermentação de forma homogênea.

Outro fato que deve ser ressaltado é que o comportamento metabólico celular para a formação de etanol é alterado pela concentração de leveduras no biorreator (observado experimentalmente). Apesar do modelo proposto não levar em consideração o metabolismo celular, será incorporado um parâmetro para absorver as mudanças provocadas pelo metabolismo com base no substrato disponível para reagir.

O Modelo 4 propõe que existe um filme estagnado envolta da célula que apresenta menor concentração de substrato e dessa forma, o substrato disponível (C_{S^*}) para a reação é menor que a concentração de substrato livre (C_S), como ilustrado na Figura 4.17. As hipóteses simplificadoras que complementam o Modelo 3 são mostradas a seguir.

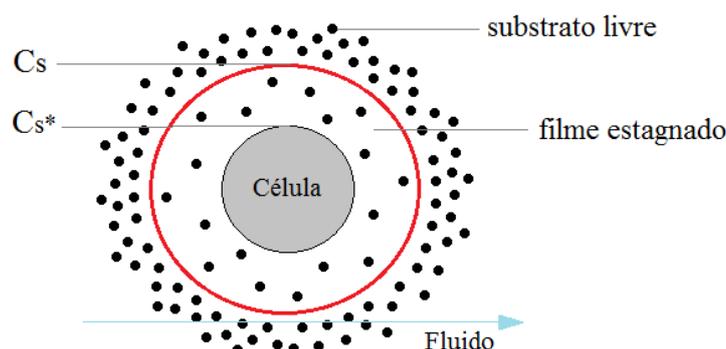


Figura 4.16 - Concentração de substrato em torno da célula.

- Existência de filme estagnado (camada limite de massa) em torno da célula;
- Taxa mássica de substrato para a superfície é igual à velocidade de consumo de substrato pela célula.

- Concentração de substrato na superfície da célula é função exponencial da concentração de célula na reação, pois existe uma dependência entre concentração celular e resistência a transferência de massa.
- Admite-se que a espessura da camada limite (δ_s) é função da velocidade de agitação de acordo com uma lei de potência.

O fluxo de substrato através da camada limite foi definido de forma análoga a lei de Fick (Equação 4.11), onde o fluxo de substrato é proporcional ao gradiente médio aproximado.

$$\vec{J}_A = -D_a \cdot \vec{\nabla} C_a \quad (4.11)$$

$$J_S = -k_s \cdot \frac{(S - S^*)}{\delta_s} \quad (4.12)$$

A intensidade da agitação diminui a espessura da camada limite (δ_s), de modo que podemos assumir uma relação de proporcionalidade inversa. Admite-se que δ_s possa variar com a intensidade de agitação de acordo com uma lei de potência, como expresso na Equação 4.14.

Substituindo a Equação 4.14 na 4.12, obtém-se o fluxo de substrato através do filme estagnado como função da agitação (Equação 4.15).

$$\delta_s \propto (\text{agitação})^{-1} \rightarrow \delta_s \propto (I_{mix})^{-1} \quad (4.13)$$

$$\delta_s = k_{mix} \cdot \frac{1}{I_{mix}^n} \quad (4.14)$$

$$J_S = -\frac{k_s}{k_{mix}} \cdot (S - S^*) \cdot I_{mix}^n \quad (4.15)$$

A taxa de transferência de massa de substrato é obtida pelo produto do seu fluxo pela área total da superfície das células por volume da solução. A área superficial das células é proporcional à sua concentração de acordo com a Equação 4.17. Combinando as Equações 4.15, 4.16 e 4.17, expressa-se a taxa de transferência de substrato (Equação 4.18). Os parâmetros podem ser reunidos e representados pelo parâmetro β_{mix} e assim, a taxa de transferência de substrato no filme estagnado é proposto pela Equação 4.19.

$$j_S = J_S \cdot A_x \quad (4.16)$$

$$A_x \propto X \rightarrow A_x = \alpha_x \cdot X \quad (4.17)$$

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{k_S \cdot \alpha_x}{k_{mix}} \cdot (S - S^*) \cdot I_{mix}^n \cdot X \quad (4.18)$$

$$\frac{dS}{dt} = -\beta_{mix} \cdot (S - S^*) \cdot I_{mix}^n \cdot X \quad (4.19)$$

Como mencionado nas hipóteses simplificadoras, o substrato que chega a superfície da célula após a transporte de massa é consumido para formação de etanol. Portanto, a transporte de massa e a reação são processos consecutivos, que ocorrem em série (Figura 4.17).

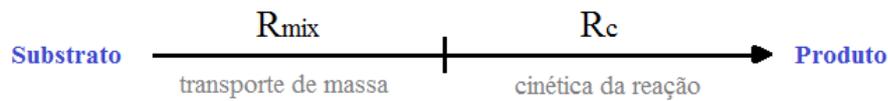


Figura 4.17 – Resistências em série.

Fazendo uma analogia entre o modelo causa e efeito controlado pela resistência apropriada (Equação 4.20), têm-se a resistência ao transporte de massa (Equação 4.23) e a resistência a reação (Equação 4.26).

$$efeito = \frac{causa}{resistência} = condutância \cdot causa \quad (4.20)$$

- Transporte de massa:

$$\frac{\widetilde{dS}}{dt} = \overbrace{-\beta_{mix} \cdot (S - S^*) \cdot I_{mix}^n}^{condutância} \cdot \widetilde{X}_v \quad (4.21)$$

$$\mu_{mix} = -\beta_{mix} \cdot (S - S^*) \cdot I_{mix}^n \quad (4.22)$$

$$R_{mix} = \frac{1}{\mu_{mix}} \quad (4.23)$$

- Cinética da reação:

$$\frac{\overset{\text{efeito}}{d\widehat{S}}}{dt} = - \overbrace{\left(\frac{\mu}{Y_{X/S}} + m_s \right)}^{\text{condutância}} \cdot \overset{\text{causa}}{\widehat{X}_v} \quad (4.24)$$

$$\mu_s = - \left(\frac{\mu}{Y_{X/S}} + m_s \right) \quad (4.25)$$

$$R_c = \frac{1}{\mu_s} \quad (4.26)$$

Combinando as resistências em série, obtém-se a resistência equivalente mostrada na Equação 4.27. Como a taxa mássica de substrato no filme estagnado é igual a velocidade de consumo de substrato, a Equação 4.28 pode ser aplicada, resultando na Equação 4.29.

$$R_{eq} = R_{mix} + R_c = \frac{1}{\mu_{mix}} + \frac{1}{\mu_s} = \frac{\mu_{mix} + \mu_s}{\mu_{mix} \cdot \mu_s} \quad (4.27)$$

$$\left. \frac{dS}{dt} \right|_{\text{massa}} = \left. \frac{dS}{dt} \right|_{\text{cinética}} \quad (4.28)$$

$$\frac{dS}{dt} = \frac{X_v}{R_{eq}} = - \left(\frac{\mu_{mix} \cdot \mu_s}{\mu_{mix} + \mu_s} \right) \cdot X_v \quad (4.29)$$

De posse da equação geral para o consumo de substrato com influência da transferência de massa e da cinética da reação, partiu-se para a estimativa da concentração de substrato na superfície da célula (S^*). A forma mais simples de relacionar S^* é através da Equação 4.30, onde $0 < \eta < 1$, já que a concentração na superfície é função direta da concentração de substrato livre em cada instante.

$$S^* = \eta \cdot S \quad (4.30)$$

Observou, a partir dos dados experimentais, que η variava com a concentração celular, justificada pelo fato de existir maior resistência a transferência de massa com o aumento da concentração de células no meio. Também é uma forma de considerar o metabolismo celular, que para determinada concentração pode requerer mais ou menos substrato.

Foram testadas funções lineares, exponenciais e potências para a estimativa do parâmetro η com influência da concentração celular, no entanto, o modelo que melhor se ajustou foi o exponencial.

$$\eta = a \cdot e^{(b \cdot X_v)} \quad (4.31)$$

As equações para o Modelo 4 estão expostas no Quadro 4.4, onde os parâmetros β_{mix} , n e η foram estimados utilizando o método determinístico de mínimos quadrados de Levenberg-Marquardt, seguindo a mesma sistemática adotada para os modelos anteriores.

Modelo 4: influência da agitação e X_0	
$\frac{dX_v}{dt} = \mu \cdot X_v - k_d \cdot X_v$	
$\frac{dX_d}{dt} = k_d \cdot X_v$	$\mu = f(S, P, T)$
$\frac{dS}{dt} = -\left(\frac{\mu_{mix} \cdot \mu_S}{\mu_{mix} + \mu_S}\right) \cdot X_v$	$k_d = f(T)$
$\frac{dP}{dt} = Y_{P/X} \cdot \mu \cdot X_v$	$Y_{X/S} = f(T)$
$X_T = X_v + X_d$	$Y_{P/X} = f(T)$
$\mu_{mix} = \beta_{mix} \cdot (S - S^*) \cdot I_{mix}^n$	$S^* = \eta \cdot S$
$\mu_S = \left(\frac{\mu}{Y_{X/S}} + m_S\right)$	$\eta = a \cdot e^{(b \cdot X_v)}$

Quadro 4.4 - Modelo matemático proposto para o Modelo 4.

Os testes 14 a 19 foram usados para estimar os parâmetros com influência da agitação e os testes 9, 11, 12 e 13 os parâmetros com influência da concentração celular, com exceção do teste 18 que foi retirado para posterior validação do modelo. Em seguida, simularam-se os 19 ensaios com variação das condições operacionais. Dentre os ensaios, aqueles que representam limites de adequação do modelo são mostrados para monitoramento frente aos dados experimentais.

De forma similar aos modelos anteriores, realizaram-se as análises estatísticas a partir do cálculo do RSD e do erro aparente dos dados experimentais para probabilidade de 95% com

o objetivo de quantificar os desvios do modelo para poder então qualificá-lo em adequado ou inadequado para representar a fermentação.

4.4.2 Resultados e discussão

Para descrever o efeito da agitação, a Tabela 4.15 apresenta os parâmetros da velocidade específica de transferência de massa que foram estimados a partir dos ensaios 14 a 19 (com exceção do ensaio 18), mantendo constante a porcentagem de substrato livre que chega à célula. Observa-se que 87.2% do substrato presente no meio fermentativo é consumido pela célula e parte é transformado em etanol pela cinética da reação.

A Tabela 4.16 traz as análises estatísticas das simulações de todos os ensaios para o modelo com influência da agitação e parâmetro η constante (eficiência de transporte de substrato pela camada limite).

Tabela 4.15 - Parâmetros estimados para o modelo que considera morte celular.

β_{mix} (L. g ⁻¹ h ⁻¹ rpm ⁻ⁿ)	n	η (%)
2.201	0.365	87.2

Tabela 4.16 - Análise estatística do testes para o modelo com influência da agitação.

Teste	Biomassa		Substrato		Produto	
	RSD	ϵ_{exp} (%) >	RSD	ϵ_{exp} (%) >	RSD	ϵ_{exp} (%) >
1	0.24	3.32	4.61	9.52	1.38	4.19
2	0.85	10.27	2.96	5.26	1.61	4.64
3	0.22	2.89	4.31	6.12	2.42	5.78
4	0.59	7.32	4.53	5.18	3.81	7.79
5	0.56	7.09	4.12	3.76	1.77	3.68
6	0.21	2.45	5.20	3.29	3.32	7.82
7	0.39	3.40	2.99	4.83	2.66	8.28
8	0.72	6.62	4.34	6.38	4.22	8.93
9	0.51	5.21	5.13	6.90	2.34	4.21
10	1.38	13.24	3.71	5.95	5.61	11.55
11	0.89	8.61	9.63	12.94	4.11	8.54
12	0.58	7.44	21.93	26.00	8.08	23.97

13	0.63	4.54	17.64	24.07	8.92	18.83
14	0.56	3.27	17.19	21.41	10.04	19.22
15	0.59	5.09	6.54	9.54	4.62	8.70
16	1.22	14.45	7.25	8.63	4.11	8.54
17	0.68	6.62	4.93	6.54	1.74	3.30
19	0.95	9.30	5.26	7.19	5.05	10.70

Nota-se que os valores dos RSDs e dos erros aparentes são bem elevados para os ensaios 12, 13 e 14 que apresentam variação na concentração inicial de célula, assim, o modelo não obedece os limites de adequação com base nos erros experimentais médios (ver Tabela 3.3).

Dessa forma, investigou-se a influência da concentração inicial de células nos parâmetros estimados e verificou-se que X_0 afetava de forma mais direta a concentração disponível de substrato na superfície celular para reação. Este fato pode ser explicado pela maior resistência a transferência de massa quando a concentração celular é maior, tornando o meio mais susceptível a formar zonas concentradas pela deposição da levedura *S. cerevisiae* floculante no fundo do fermentador.

A partir dos ensaios 9, 11, 12 e 13 foram estimados os parâmetros para o decaimento exponencial de η com a concentração instantânea de célula, mostradas na Tabela 4.17. A Figura 4.19 ilustra o comportamento de η para o intervalo estudado de 4 a 10 g/L, onde observa-se que para baixas concentrações de célula ($X < 5$ g/L) a concentração de substrato na superfície celular é superior a 60% do substrato livre no meio, no entanto, para altas concentrações ($X > 8$ g/L) a eficiência do transporte de substrato que chega à superfície celular é inferior a 30%, afetando expressivamente os perfis de concentração de substrato e consequentemente os perfis de concentração de produto.

Tabela 4.17 - Parâmetros estimados para o Modelo 4.

β_{mix} (L. g ⁻¹ h ⁻¹ rpm ⁻ⁿ)	n	a	b
2.201	0.365	2.600	-0.282

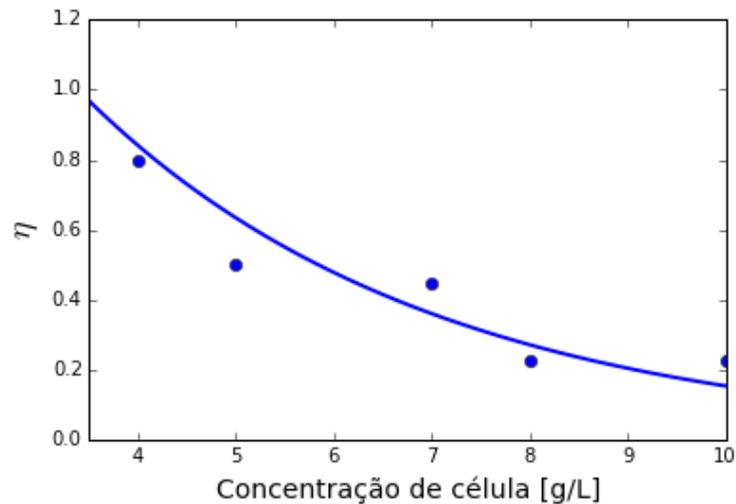


Figura 4.18 - Eficiência média de transporte de substrato pela camada limite em função da concentração celular:

(●) Estimativa da eficiência para cada ensaio.

Os ensaios foram simulados para os novos parâmetros e as análises estatísticas são mostradas na Tabela 4.18. Verifica-se que de forma geral os valores dos RSDs e dos erros aparentes dos testes diminuíram e estão compreendidos nos limites de adequação pelo Teste F modificado (ver Tabela 3.3). Porém, o ensaio 12 que foi conduzido com concentração celular inicial de 3g/L não apresentou bom ajuste ao comportamento do teste e mostrou-se inadequado para o modelo. Este fato pode ser devido a mudança do comportamento metabólico das leveduras em baixas concentrações celulares.

Dessa maneira, o intervalo de utilização do Modelo 4 será de 80 a 800 rpm de intensidade de agitação e reduzido para 4 a 10 g/L de concentração inicial de célula.

Tabela 4.18 - Análise estatística dos testes para o Modelo 4.

Teste	Biomassa		Substrato		Produto	
	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$
1	0.26	3.60	4.81	9.94	4.10	1.35
2	0.89	10.72	3.12	5.54	1.13	3.24
3	0.24	3.13	4.62	6.55	2.96	7.07
4	0.52	6.40	3.89	4.45	3.83	7.83
5	0.53	6.76	4.65	4.24	1.98	4.12
6	0.26	3.08	6.01	3.80	5.20	11.23
7	0.57	4.98	5.32	8.58	1.27	3.96
8	0.81	7.39	4.91	7.21	4.75	10.06
9	0.51	5.23	5.69	7.66	3.65	6.57

10	1.44	13.86	4.30	6.89	4.10	9.30
11	0.94	9.08	10.34	13.89	4.21	8.75
13	0.75	5.39	11.37	15.51	4.12	8.70
14	1.08	6.27	12.24	15.24	6.03	11.55
15	0.39	3.37	3.30	4.81	2.62	4.94
16	1.22	14.42	7.41	8.81	3.95	7.92
17	0.71	6.90	4.96	6.57	2.36	4.47
19	0.99	9.68	5.41	7.40	8.63	4.05

Os gráficos referentes a simulação do Modelo 4 são ilustrados no Anexo III, contudo, os testes 1 e 14 são mostrados nas Figuras 4.20 e 4.21 por representarem os limites de ajuste do modelo para a produção de etanol. Alguns testes com efeito da concentração inicial de célula e agitação não foram realizados em duplicatas e por isso o ensaio 14 não apresenta intervalo de confiança médio. Observa-se, que o modelo descreve de forma satisfatória o comportamento dos testes, apesar que para o teste 14 o consumo total de substrato predito pelo modelo é mais lento, provocando uma concentração de etanol mais elevada ao final da fermentação.

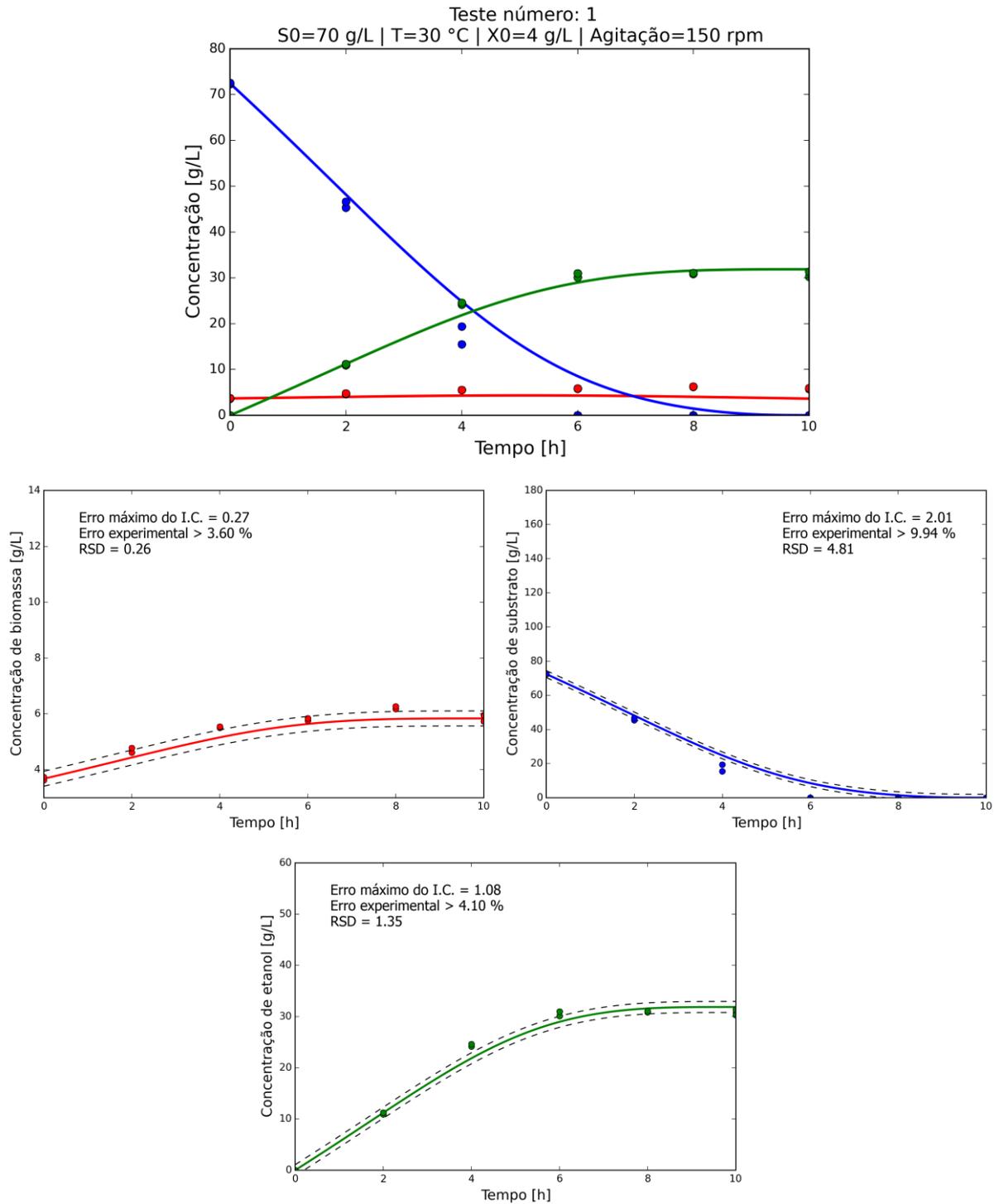


Figura 4.19 - Dados experimentais e Simulados para o teste 1: (●) Biomassa (Massa seca - $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de açúcares redutores totais ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de etanol ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (—) Modelo 4, (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.

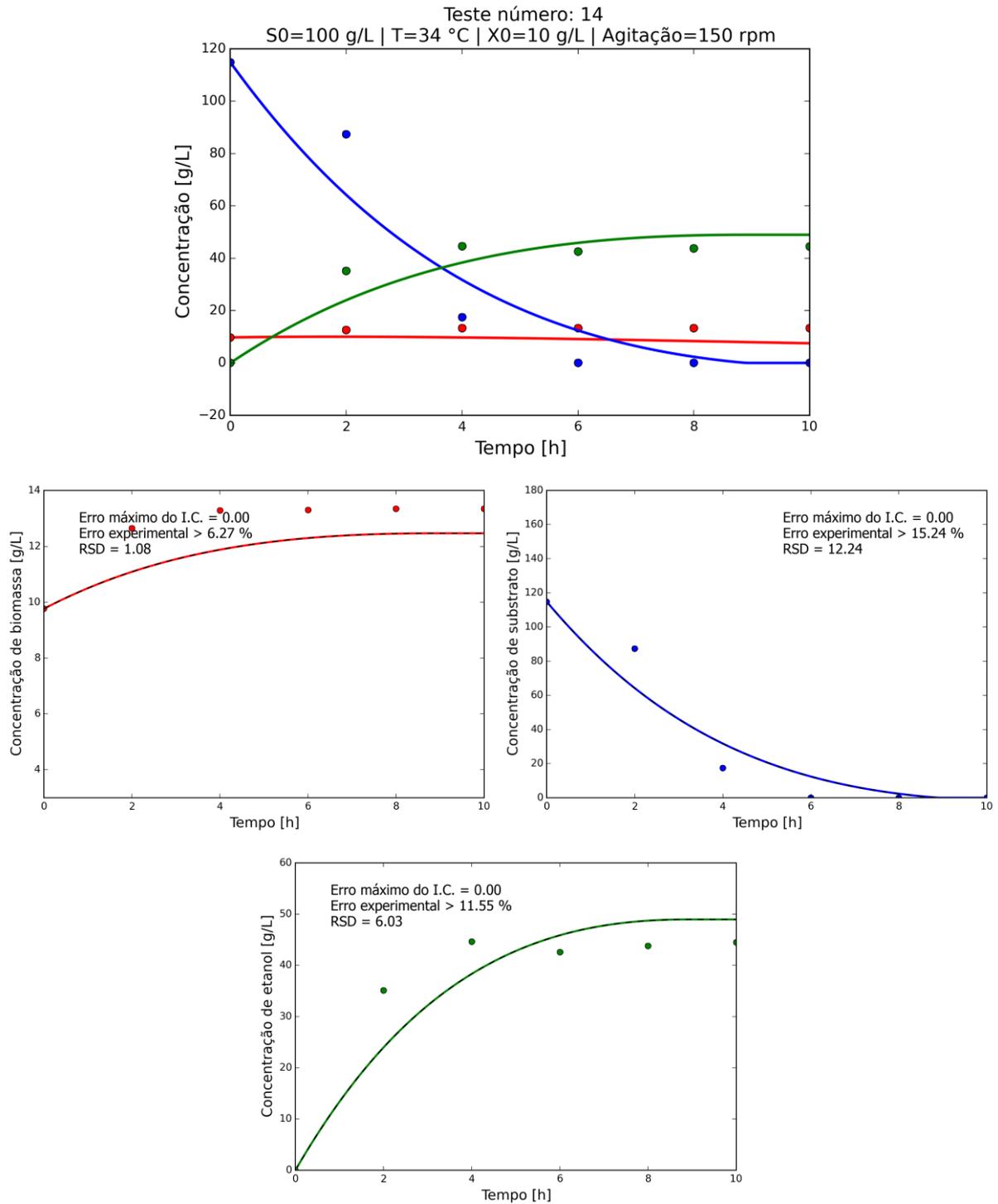


Figura 4.20 - Dados experimentais e Simulados para o teste 14: (●) Biomassa (Massa seca - $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de açúcares redutores totais ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de etanol ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (—) Modelo 4.

Mesmo com as análises estatísticas realizadas, é interessante calcular o erro relativo do modelo para a concentração de etanol (produto de interesse) ao final da fermentação, já que as análises anteriores são referentes ao desvio médio dos dados para cada teste. A Tabela 4.19 traz o tempo de reação e o erro relativo para a concentração de etanol nesse instante, sendo superior

ao erro de referência de 10% para os testes 10 e 14. No entanto, devido à complexidade do modelo e a quantidade de parâmetros (21 parâmetros), os erros calculados são aceitáveis e o Modelo 4 é satisfatório.

Tabela 4.19 - Erro relativo ao final da fermentação para o Modelo 4.

Teste	Tempo (h)	Erro relativo (%)
1	8.0	2.04
2	8.0	1.60
3	10.0	5.00
4	10.0	5.63
5	10.0	2.77
6	10.0	7.28
7	8.0	3.50
8	8.0	3.27
9	8.0	5.00
10	8.0	10.12
11	8.0	0.34
13	8.0	5.18
14	8.0	11.25
15	8.0	1.30
16	10.0	5.60
17	8.0	4.11
19	8.0	9.05

A validação do Modelo 4 também foi realizada por inspeção do comportamento dos perfis de concentração e análise estatística para o teste 18 (ensaio não utilizado na estimativa dos parâmetros do modelo), mostrados na Figura 4.22. Perceber-se que os RSDs e os erros experimentais aparentes são pequenos e dentro dos limites de adequação do modelo para todos os perfis de concentração.

A Tabela 4.20 traz o resumo das análises estatísticas para discriminação entre a qualidade dos modelos propostos. Constata-se um aumento no RSD e no Teste F (calculado para $N = 216$ e $p = 21$) para o substrato, porém, para a célula e produto os valores mantiveram-se praticamente constantes quando comparados ao Modelo 3. Como consequência, o erro aparente para a fermentação também foi alterado para $\varepsilon_{\text{exp}} > 9.77\%$.

Logo, o Modelo 4 é uma proposta de modelo mecanístico satisfatório para a influência da concentração inicial de substrato, temperatura, concentração inicial de célula e agitação.

Tabela 4.20 - Análise estatística média para o Modelo 4.

	Biomassa	Substrato	Produto
$\epsilon_{\text{exp}}(\%) >$	9.57	10.16	9.77
RSD	0.78	6.49	3.57

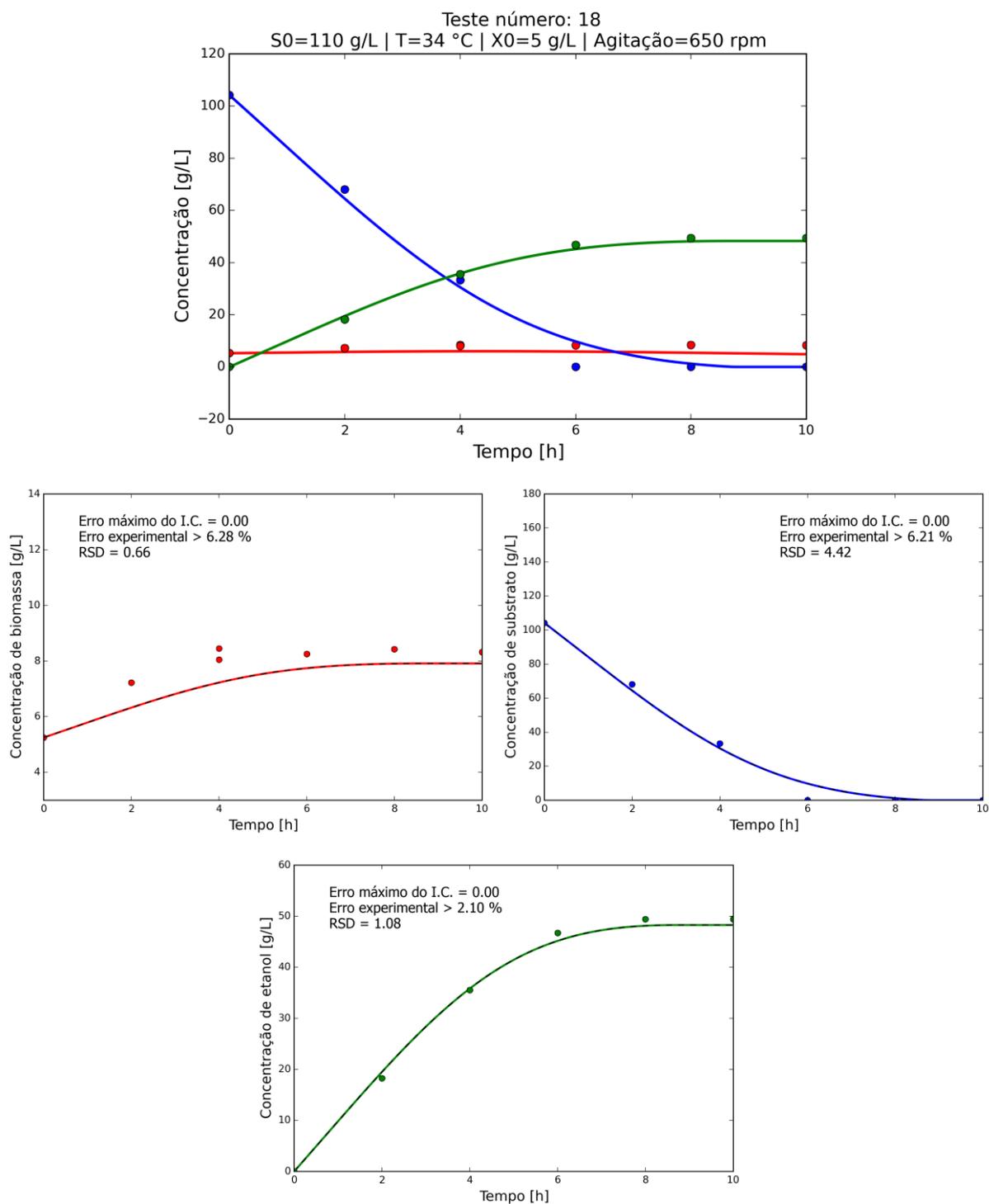


Figura 4.21 - Validação do Modelo 4 utilizando teste 18: (●) Biomassa (Massa seca - $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de açúcares reductores totais ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de etanol ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (—) Modelo 4.

Apesar do Modelo 4 ter se mostrado adequado para a fermentação em estudo, a quantidade de parâmetros, a diminuição do intervalo de utilização do modelo para concentração celular e a possibilidade de obter um modelo mais preciso motivaram a busca de um modelo alternativo.

Dessa maneira, partiu-se para uma nova abordagem com modelos híbridos na tentativa de descrever um modelo que absorva as influências da concentração inicial de célula, temperatura, concentração inicial de substrato e agitação com maior confiabilidade para uma posterior otimização das condições operacionais.

4.5 MODELO 5: MODELO HÍBRIDO

4.5.1 Metodologia

Com o objetivo de descrever um modelo matemático para a fermentação alcoólica do suco de caju por *S. cerevisiae* com influência da concentração inicial de célula, temperatura, concentração inicial de substrato e agitação, seguiu-se para a tentativa com aplicação de modelos híbridos. As hipóteses simplificadoras para o Modelo 5 são apresentadas a seguir.

- O modelo cinético predito por redes neurais artificiais;
- Todas as células presentes no meio fermentativo são viáveis;
- Sistema em mistura perfeita, justificada pela presença de agitador mecânico;
- Reação isotérmica (fermentador com sistema de controle de temperatura);
- Volume constante;
- Todas as células presentes são viáveis;
- O consumo de substrato para manutenção celular foi considerado desprezível.

No modelo híbrido, equações de balanço de massa para a fermentação foram combinadas com redes neurais do tipo feedforward de múltiplas camadas com treinamento supervisionado por correção do erro (retropropagação com algoritmo trainrp). As RNAs funcionam como estimadores das velocidades específicas de crescimento celular, de consumo de substrato e formação de produto. Desse modo, foram elaboradas três redes: RN1 (μ_X), RN2 (μ_S) e RN3 (μ_P).

Para o treinamento das redes do Modelo 5, a camada de entrada foi alimentada com a concentração instantânea de substrato, temperatura, concentração instantânea de célula e agitação, já a camada de saída com as velocidades específicas da reação, todos normalizados (Equação 4.32). É importante ressaltar que o treinamento das RNAs foi realizado a partir dos dados pseudo-experimentais e que o teste número 13 da Tabela 3.1 foi retirado do conjunto de dados de treinamento para futura validação do modelo.

$$\mu^n = f(X^n, T^n, S^n, agit^n) \quad (4.32)$$

Várias arquiteturas foram testadas e avaliadas com base no coeficiente de determinação (R^2) e erro específico de 10%, de forma que as redes RN1, RN2 e RN3 conseguissem reproduzir os dados de saída com maior precisão.

Como as velocidades específicas (respostas das redes) estão normalizadas, fez-se necessário normalizar as equações de balanço de massa para incluí-las.

$$\mu^n = \frac{\mu - \mu^{min}}{\mu^{max} - \mu^{min}} \quad (4.33)$$

$$\mu = \mu^n \cdot (\mu^{max} - \mu^{min}) + \mu^{min} \quad (4.34)$$

$$C^n = \frac{C - C^{min}}{C^{max} - C^{min}} \quad (4.35)$$

$$C = C^n \cdot (C^{max} - C^{min}) + C^{min} \quad (4.36)$$

Assim, as equações de balanço de massa descritas nas Equações (2.12), (2.13) e (2.14) para a fermentação foram combinadas as redes neurais, desenvolvendo o modelo híbrido apresentado a seguir.

$$\frac{dX^n}{dt} = [RN1. (\mu_X^{max} - \mu_X^{min}) + \mu_X^{min}] \cdot \frac{[X^n \cdot (X^{max} - X^{min}) + X^{min}]}{(X^{max} - X^{min})} \quad (4.37)$$

$$\frac{dS^n}{dt} = -[RN2. (\mu_S^{max} - \mu_S^{min}) + \mu_S^{min}] \cdot \frac{[X^n \cdot (X^{max} - X^{min}) + X^{min}]}{(S^{max} - S^{min})} \quad (4.38)$$

$$\frac{dP^n}{dt} = [RN3. (\mu_P^{max} - \mu_P^{min}) + \mu_P^{min}] \cdot \frac{[X^n \cdot (X^{max} - X^{min}) + X^{min}]}{(P^{max} - P^{min})} \quad (4.39)$$

A Figura 4.23 traz o diagrama do funcionamento do modelo híbrido implementado para o Modelo 5, onde especifica-se as condições operacionais da fermentação para o cálculo das velocidades específicas em função do tempo (RN1, RN2 e RN3) para a predição das velocidades específicas em $t = 0$ e também como condição inicial para os perfis de concentração de substrato e célula. Em seguida, resolve-se o sistema de EDOs, equações de balanços de massa normalizados, utilizando as concentrações no instante $t + \Delta t$ para a predição das RNAs e posterior determinação das concentrações de biomassa, substrato e produto ao longo do tempo de fermentação.

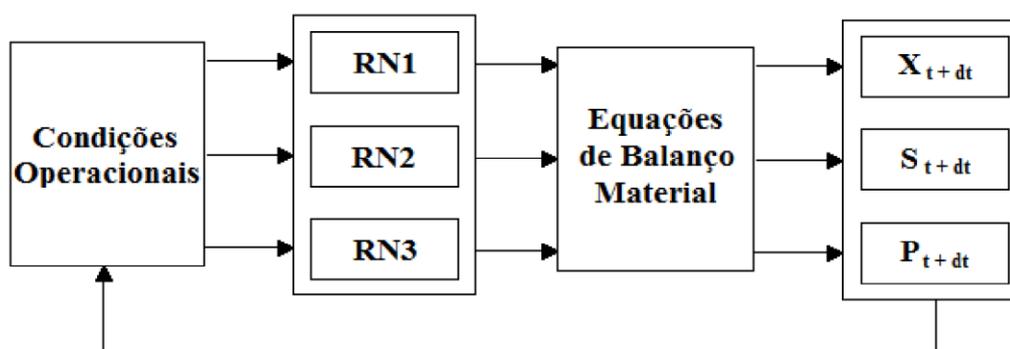


Figura 4.22 - Diagrama do Modelo 5.

Fonte: Autoria própria.

A validação do modelo foi realizada através de análises estatísticas e de inspeção do comportamento frente aos dados não utilizado para o treinamento das RNAs, seguindo a metodologia dos modelos anteriores, possibilitando comparações da qualidade de predição entre os modelos propostos para descrever o processo de fermentação alcoólica a partir do suco de caju por *S. cerevisiae*.

4.5.2 Resultados e discussão

Para a simulação do Modelo 5, o primeiro passo foi a determinação do modelo cinético com a escolha de uma arquitetura de rede adequada para estimar as velocidades específicas.

O modelo cinético foi determinado de acordo com as arquiteturas mostradas na Tabela 4.21, onde as velocidades específicas de crescimento celular (RN1), de consumo de substrato (RN2) e formação de produto (RN3) são estimadas como função da concentração instantânea de substrato, temperatura, concentração instantânea de célula e agitação.

No entanto, foram realizados aproximadamente 60 treinamentos com as mais variadas arquiteturas de redes neurais (1 a 4 camadas ocultas, variação de 5 a 30 neurônios por camada) do tipo simétrica, decrescente e crescente.

Tabela 4.21 - Arquiteturas das redes neurais para o Modelo 5.

Camada	Número de neurônios	Função de ativação
RN1		
1° camada oculta	20	Tangente hiperbólica
2° camada oculta	5	Tangente hiperbólica
Camada de saída	1	Linear
RN2		
1° camada oculta	25	Tangente hiperbólica
2° camada oculta	20	Tangente hiperbólica
3° camada oculta	20	Tangente hiperbólica
Camada de saída	1	Linear
RN3		
1° camada oculta	30	Tangente hiperbólica
2° camada oculta	20	Tangente hiperbólica
3° camada oculta	10	Tangente hiperbólica
Camada de saída	1	Linear

As faixas de variação das condições operacionais utilizadas no treinamento das RNAs foram: 70 a 170 g/L de concentração inicial de substrato, 26 a 42°C de temperatura, 3 a 10 g/L de concentração inicial de célula e 80 a 800 rpm de intensidade de agitação.

As simulações das RNAs (Figura 4.24) mostram um espalhamento dos pontos em torno da reta bissetriz, revelando que os valores preditos pelas redes apresentam variações em torno dos dados experimentais. Apesar das inúmeras arquiteturas de redes neurais testadas, os dados experimentais para as concentrações instantâneas possuem comportamento inesperados para as condições operacionais que dificultam a proposição de arquiteturas simples.

As arquiteturas utilizadas para estimar as velocidades específicas se mostraram satisfatórias com base no coeficiente de determinação (R^2) e nos desvios (máximos e médios) entre os dados teóricos e pseudo-experimentais, como exposto na Tabela 4.22. Para a definição das arquiteturas das RNAs, também foram levadas em consideração a complexidade da estrutura e conseqüentemente o tempo necessário para a simulação, uma vez que é aconselhável uma compensação entre grau de complexidade e esforço computacional.

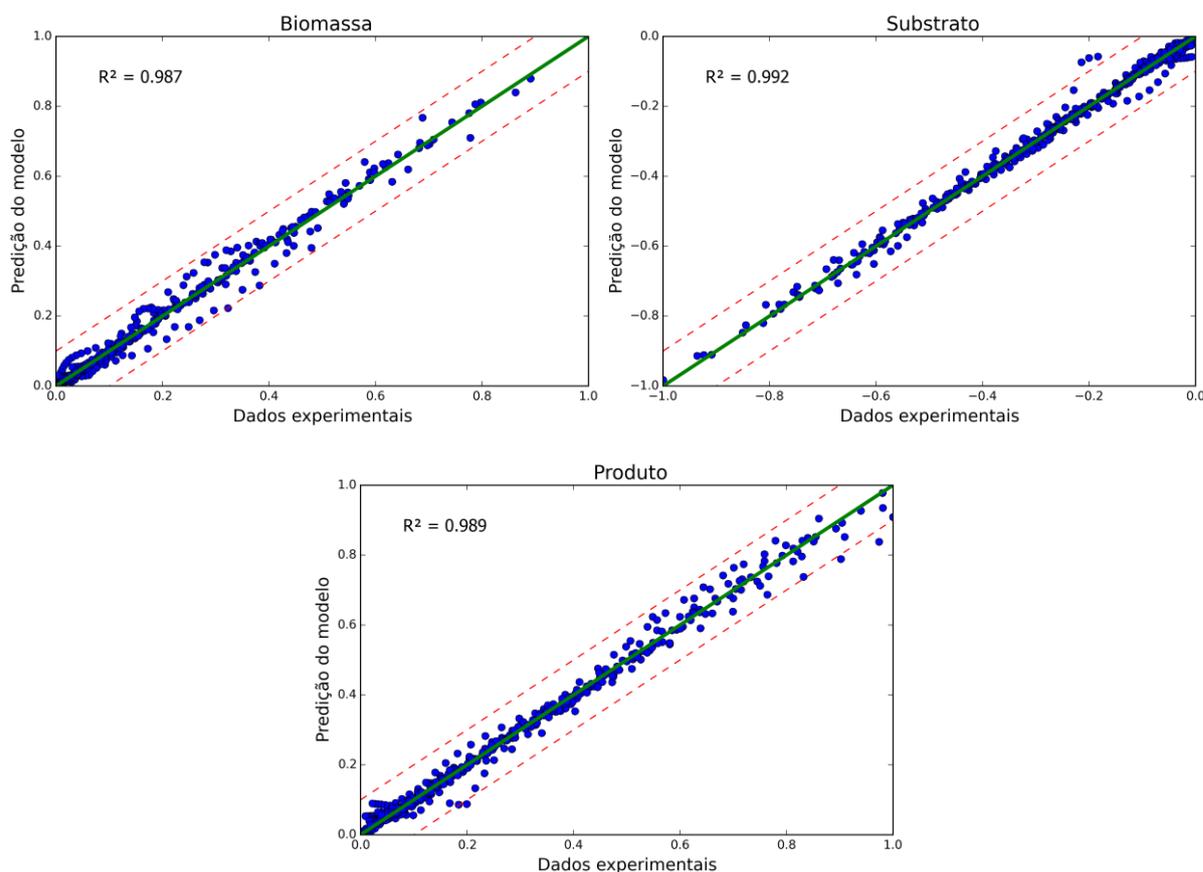


Figura 4.23 - Simulações das RNAs para o Modelo 5: (●) Comparação entre as previsões das RNAs e os dados pseudo-experimentais; (—) Reta bisettriz, (---) Erro específico de 10%.

Nota-se que os desvios máximos de predição das RNAs são superiores aos 10% utilizados como critério de qualidade, contudo, a quantidade de pontos acima desse limite foi irrelevante diante de um conjunto de 378 pontos. Além disso, os desvios médios foram todos inferiores a 2% e RSDs muito pequenos, indicando a qualidade de predição das RNAs. Definidas as redes neurais para estimar as velocidades específicas de crescimento celular, consumo de açúcar e formação de etanol, conduziu-se para as simulações do modelo híbrido.

Tabela 4.22 - Desvios entre os dados preditos e os dados experimentais para o Modelo 5.

	RSD	Desvio máximo (%)	Desvio médio (%)
Biomassa	0.023	10.1	1.4
Substrato	0.020	14.0	1.1
Produto	0.025	13.5	1.6

A Tabela 4.23 traz a análise estatística do Modelo 5 para os testes empregados nos treinamentos das RNAs e suas simulações são ilustradas no Anexo III. Dessa maneira, é

possível verificar que os testes 4 e 16 evidenciam limites de ajuste do modelo híbrido aos dados experimentais para a produção de etanol e por essa razão são ilustrados nas Figuras 4.25 e 4.26, respectivamente.

Os valores dos RSDs representam o desvio padrão dos dados experimentais em relação ao modelo, sendo maiores para os perfis de concentração de substrato por apresentarem maior escala e assim, pequenos desvios ocasionam grandes resíduos. A Tabela 4.23 também certifica a adequação do modelo para todos os testes, pois os erros experimentais aparentes são menores que os erros experimentais médios (ver Tabela 3.3).

Tabela 4.23 - Análise estatística do Modelo 5.

Teste	Biomassa		Substrato		Produto	
	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$	RSD	$\epsilon_{exp}(\%) >$
1	0.15	1.79	3.81	6.92	1.61	3.88
2	0.73	7.71	3.53	5.51	2.26	5.16
3	0.19	2.18	6.23	7.77	2.76	5.25
4	0.22	2.35	3.57	3.59	1.95	3.17
5	0.52	5.80	10.26	8.22	4.62	7.67
6	0.23	2.39	5.57	3.10	3.75	7.02
7	0.47	3.60	7.22	10.24	1.87	4.64
8	0.66	5.28	8.66	11.18	6.14	10.34
9	0.44	3.99	8.21	9.71	6.88	9.86
10	0.95	8.04	6.42	9.05	3.75	6.76
11	0.42	3.60	11.88	14.03	4.26	7.05
12	0.24	2.75	8.83	9.20	3.37	7.95
14	0.20	1.01	9.08	10.88	4.23	6.44
15	0.23	1.77	6.58	8.43	3.29	4.93
16	0.92	9.68	9.98	10.44	7.15	11.42
17	0.25	2.11	8.38	9.77	2.45	3.68
18	0.23	1.90	6.60	8.15	5.96	9.22
19	0.32	2.75	8.09	9.72	3.86	6.54

Observa-se pelas Figuras 4.25 e 4.26 que o modelo é capaz de descrever fisicamente o comportamento da fermentação, pois a maioria dos pontos experimentais estão contidos no intervalo de confiança das duplicatas, mesmo para o pior ajuste do modelo.

É importante ter em vista o erro relativo para a concentração de etanol (produto de interesse) ao final da fermentação, pois todas as análises anteriores foram realizadas para uma média de todas as medidas do ensaio.

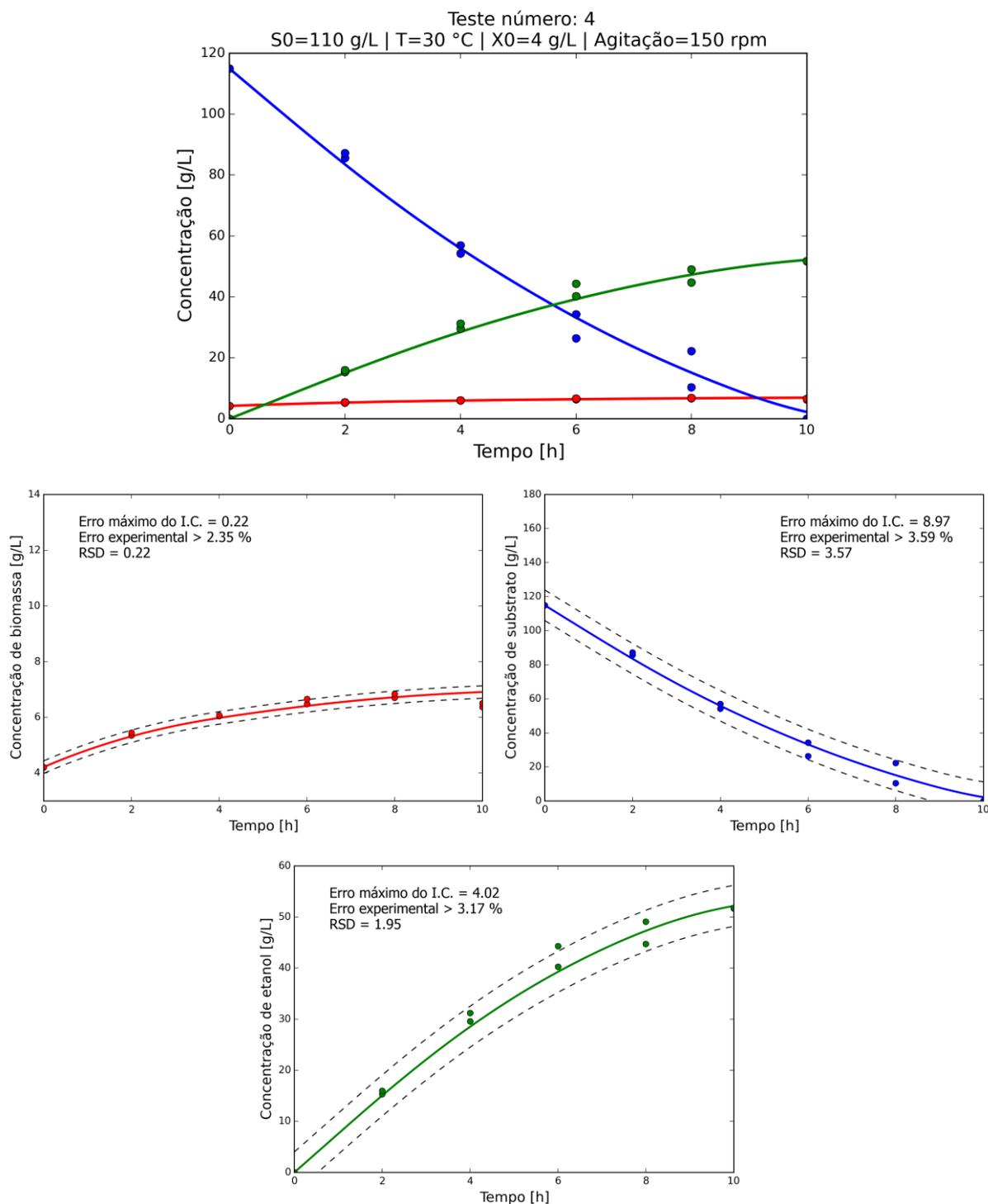


Figura 4.24 - Dados experimentais e Simulados para o teste 4: (●) Biomassa (Massa seca - g.L⁻¹); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L⁻¹); (●) Concentração de etanol (g.L⁻¹); (—) Modelo híbrido (Modelo 5), (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.

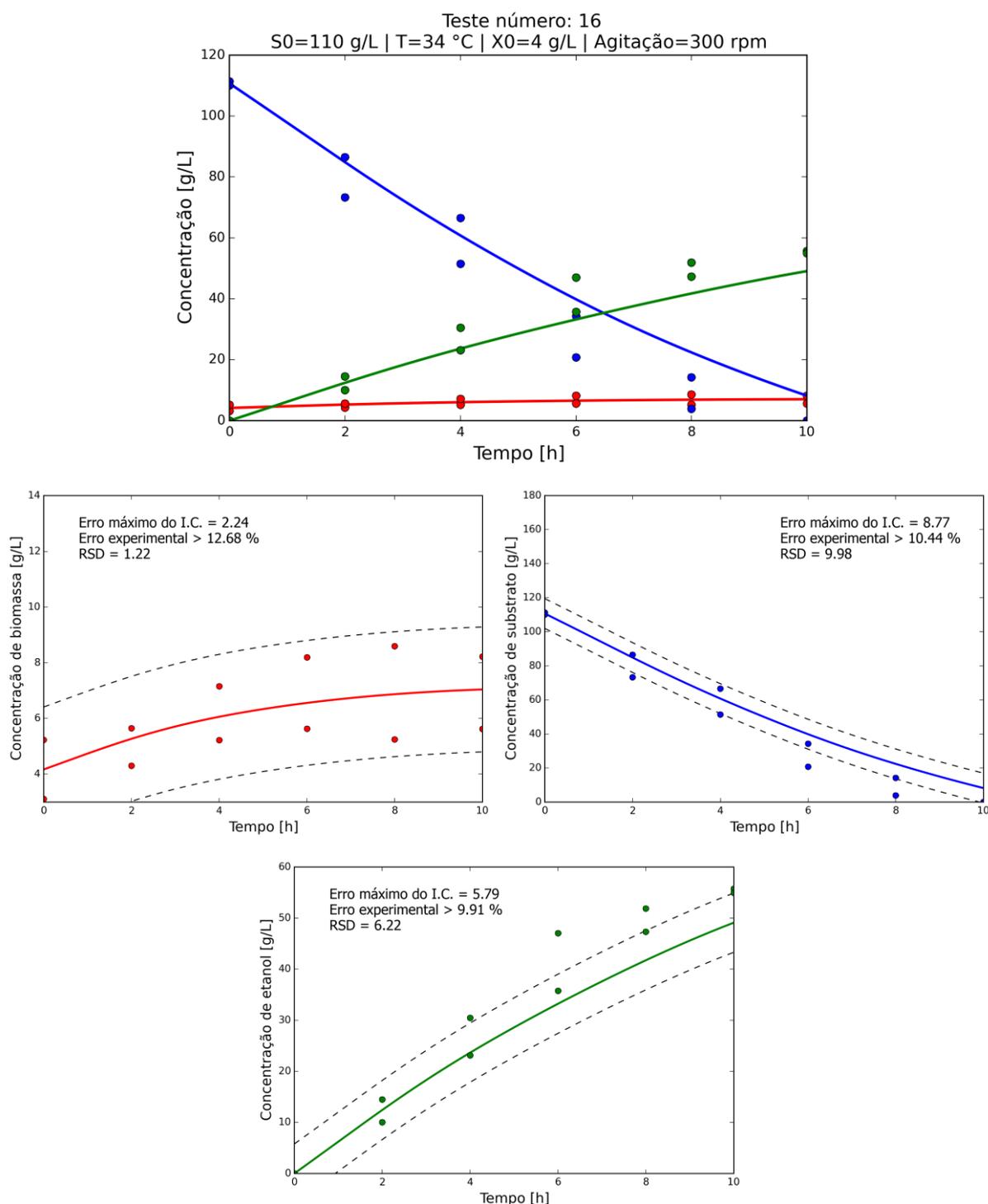


Figura 4.25 - Dados experimentais e Simulados para o teste 16: (●) Biomassa (Massa seca - $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de açúcares redutores totais ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de etanol ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (—) Modelo híbrido (Modelo 5), (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.

A Tabela 4.24 traz o tempo de reação e o erro relativo para a concentração de etanol nesse instante e percebe-se que os testes 12 e 18 apresentaram erros superiores

(aproximadamente 11%) aos 10% de erros experimentais típicos para variáveis medidas em processos fermentativos. No entanto, isso não invalida a boa qualidade de predição do modelo, já que os dados experimentais encontram-se dentro do intervalo de confiança para o nível de 90% de significância.

Tabela 4.24 - Erro relativo ao final da fermentação para o Modelo 4.

Teste	Tempo (h)	Erro relativo (%)
1	8.0	1.02
2	10.0	4.07
3	10.0	3.15
4	10.0	1.52
5	10.0	2.12
6	10.0	4.76
7	10.0	5.65
8	10.0	4.50
9	10.0	6.70
10	10.0	2.05
11	8.0	8.32
12	10.0	11.13
13	8.5	7.24
14	6.0	4.38
15	10.0	0.74
16	10.0	1.70
17	10.0	0.68
18	8.0	10.90
19	10.0	1.70

Com o modelo híbrido estatisticamente adequado para o conjunto de ensaios utilizados no treinamento das RNAs, partiu-se para sua validação pela verificação do ajuste do modelo frente ao novo conjunto de dados (teste 13).

A Figura 4.27 ilustra a simulação do teste número 13, que permite averiguar o comportamento do modelo na situação de processo dentro das faixas de operação. Como pode ser observado, mesmo que as velocidades específicas não tenham sido preditas com exatidão, o Modelo 5 reproduziu satisfatoriamente o ensaio, exibindo valores razoáveis de RSDs e erros

aparentes (Teste F) menores que os erros experimentais médios para a concentração de biomassa, substrato e produto (ver Tabela 3.3).

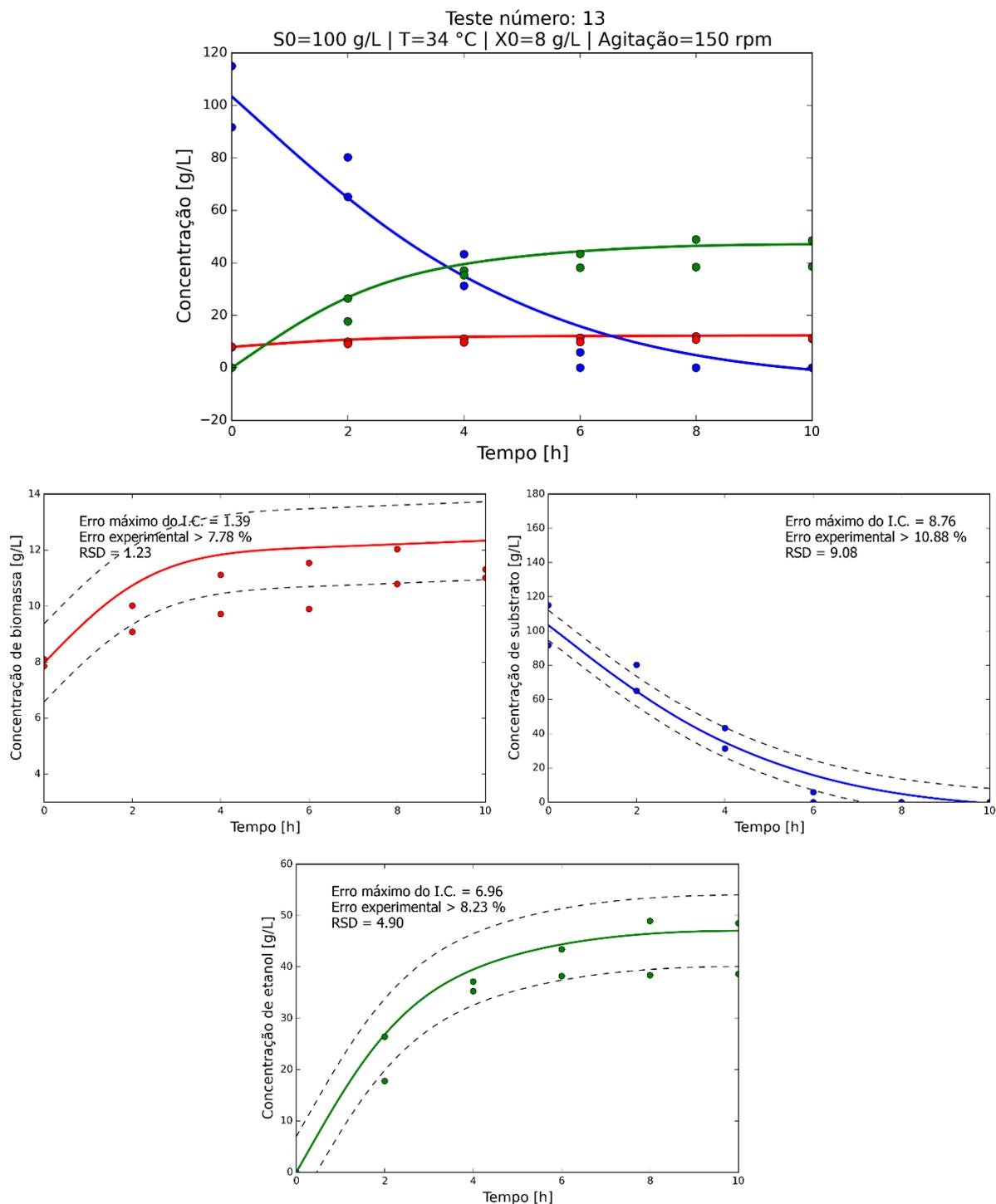


Figura 4.26 - Validação do Modelo 4 para influência da concentração inicial de açúcares, temperatura, concentração inicial de biomassa e agitação: (●) Biomassa (Massa seca - $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de açúcares redutores totais ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de etanol ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (—) Modelo 4, (---) Intervalo de confiança de 90% para os dados experimentais.

A Tabela 4.25 apresenta um resumo do erro aparente médio para os perfis (calculado com $N = 399$ e $p = 3$) de concentração de biomassa, substrato e produto. Comparando-se os resultados aos apresentados no Modelo 4 (Tabela 4.20), observa-se uma diminuição no RSD e conseqüentemente no erro aparente para os perfis de concentração de biomassa e produto. Também é importante ressaltar que apesar do RSD médio para o substrato ter aumentado, o valor máximo para o erro por ensaio diminuiu.

Tabela 4.25 - Erro experimental aparente médio para o Modelo 5.

	Biomassa	Substrato	Produto
$\varepsilon_{exp}(\%) >$	6.75	10.87	9.42
RSD	0.57	8.03	3.35

O modelo híbrido mostrou-se a melhor alternativa para representar a fermentação do suco do pedúnculo do caju com influência da concentração inicial de substrato, temperatura, concentração inicial de célula e agitação, com menor erro aparente para o processo de $\varepsilon_{exp} > 8.37\%$ e adequação para todos os ensaios realizados.

4.6 CONCLUSÃO

Na tentativa de propor um modelo mecanístico para a fermentação alcoólica a partir do suco do pedúnculo de caju, o modelo cinético proposto por Ghose & Tyagi (inibição por substrato e produto) mostrou-se ser o mais adequado para a influência da concentração inicial de substrato e temperatura.

Constatou-se que o modelo que considera todas as células presentes no meio viáveis apresenta limitações quanto a bioquímica do processo, de forma que a abordagem com a hipótese de morte celular mostrou-se significativamente mais adequada para a fermentação em estudo. Esse resultado pode ser entendido ao se comparar os erros experimentais aparente para ambos os casos, pois observa-se para o modelo sem morte celular $\varepsilon_{exp} > 8.34\%$ e para o modelo com morte celular $\varepsilon_{exp} > 5.42\%$.

Mostrou-se também, que o Modelo 3 é adequado para inferir a influência da temperatura pela equação de Arrhenius modificada e a otimização do processo para as variáveis concentração de substrato e temperatura foi realizada através da função objetiva da produtividade. Os valores de condição operacional ótima foram de 100 a 120 g/L de

concentração inicial de substrato e temperatura de 34 a 36 °C, mantidos a concentração inicial de célula de 4 g/L e agitação de 150 rpm. Nessas condições, a duração da fermentação é de aproximadamente 9h com eficiência e produtividade de 93,5% e 5.45 gL⁻¹h⁻¹, respectivamente.

Ainda na tentativa de propor um modelo mecanístico com influência das condições operacionais, considerou-se a existência de um filme estagnado em torno da célula que permitiu a proposição do Modelo 4 com influência da concentração inicial de célula e agitação do meio. Verificou-se que o modelo é adequado para a faixa de 4 a 10 g/L de concentração celular com erro aparente médio para a fermentação de $\epsilon_{exp} > 9.77\%$.

Na abordagem com modelo híbrido, as arquiteturas propostas para redes neurais resultaram em respostas satisfatórias para as velocidades específicas de crescimento celular, consumo de açúcar e produção de etanol.

As análises estatísticas e a etapa de validação mostraram que o Modelo 4 é satisfatório para descrever quantitativamente a fermentação alcoólica em estudo. De forma comparativa aos modelos matemáticos propostos nesse trabalho, este foi o mais abrangente nas condições operacionais e ao mesmo tempo mostrou-se mais confiável, com 95% de probabilidade de ser adequado para todos os ensaios e erro experimental aparente para o processo de $\epsilon_{exp} > 8.37\%$.

5. OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO

A otimização matemática busca a melhoria do processo em que a qualidade de uma resposta pode ser medida por um valor, podendo assim estabelecer as condições operacionais mais favoráveis. Essa otimização é realizada a partir do modelo matemático adequado e das restrições físicas que ele impõe.

Nesse trabalho, a otimização é aplicada ao estudo das condições operacionais ótimas para a fermentação alcoólica do suco de caju a partir da levedura *S. cerevisiae*, utilizando o método de enxame de partículas indicado para busca global. Para critério de comparação, optou-se otimizar além do Modelo 5 (modelo híbrido), definido anteriormente como o modelo mais abrangente e adequado para descrever o processo, o Modelo 4 (modelo mecanístico), pois este também mostrou-se satisfatório.

5.1 METODOLOGIA

O primeiro passo para a otimização de um processo é definir as variáveis de controle e a função objetivo que será utilizada para maximizar ou minimizar. As variáveis de controle utilizadas aqui foram a concentração inicial de célula, temperatura, concentração inicial de substrato e agitação.

A função objetivo associa cada ponto do espaço de soluções a um número real que permite medir a qualidade da resposta para o objetivo inicial. Dito isso, percebe-se que dois parâmetros são mais relevantes na otimização das condições operacionais para uma fermentação, sendo essas: eficiência e produtividade. Ao perceber que a análise individual das funções não seria suficiente para definir o ponto ótimo de operação, o problema passa a ser multiobjetivo.

Portanto, buscou-se simplificar uma otimização multiobjetivo a partir do método de associação entre os objetivos, transformando em um problema mono-objetivo. Optou-se pela média geométrica entre a eficiência e a produtividade, pois essa função traz a grande vantagem de penalizar mais os valores extremos, tornando evidentes a combinação mínima e máxima dos parâmetros. As Equações (5.1), (5.2) e (5.3) mostram as funções objetivo para a eficiência, a produtividade e a média geométrica entre elas, respectivamente.

$$F_1 = \max\left(\frac{P_f}{0.511 \cdot (S_0 - S_f)}\right) \quad (5.1)$$

$$F_2 = \max\left(\frac{P_f}{t_f}\right) \quad (5.2)$$

$$F_3 = \max\left(\sqrt{\left(\frac{P_f}{t_f}\right) \cdot \left(\frac{P_f}{0.511 \cdot (S_0 - S_f)}\right)}\right) \quad (5.3)$$

O modelo híbrido foi imposto a algumas restrições de desigualdade para evitar resultados não realísticos, Equações (5.4) e (5.5), não sendo necessário para o modelo mecanístico já que este incorpora todos os limites do processo.

$$S_f \geq 0 \quad (5.4)$$

$$\max\left(\frac{P_f}{S_0 - S_f}\right) < 0.511 \quad (5.5)$$

As restrições laterais do espaço de busca das variáveis de interesse estão apresentadas na Tabela 5.1. Definidas as funções objetivo, as restrições de desigualdade e as restrições laterais, seguiu-se para os parâmetros do método de otimização.

Tabela 5.1 - Limites laterais do espaço de busca.

	X₀ (g/L)	T (°C)	S₀ (g/L)	Agit (rpm)
Limites inferiores das variáveis	3	26	70	80
Limites superiores das variáveis	10	42	170	800

O método de enxame de partícula (PSO) é um algoritmo bio-inspirado na natureza reconhecido como método de busca global, isto é, são capazes de escapar de ótimos locais através dos mecanismos que se fundamentam, o que não ocorre com métodos determinísticos baseados nas derivadas das funções para orientar a direção de busca.

Na Tabela 5.2 são mostrados os parâmetros utilizados para o PSO nesse trabalho. No entanto, o número de partículas, o passo mínimo do enxame e o erro mínimo do valor da função objetivo antes do término da pesquisa foram variados de forma a conciliar o tempo de simulação com a qualidade das respostas.

Tabela 5.2 - Parâmetros para o PSO.

Número de partículas no enxame	100
Fator de velocidade da partícula	0.5
Número máximo de iterações	100
Passo mínimo do enxame	10^{-3}
Erro mínimo do valor da função objetivo	10^{-3}

O algoritmo de otimização da fermentação foi baseado no diagrama ilustrado na Figura 5.1, onde faz-se necessário a entrada dos parâmetros do PSO e os limites do espaço de busca para a concentração inicial de célula, temperatura, concentração inicial de substrato e agitação. Em seguida, resolve-se o modelo matemático (sistema de EDOs) e calcula-se as funções objetivas para o tempo ótimo de fermentação, testando quando necessário as restrições de desigualdade. Por fim, quando a função objetivo for maximizada, os valores das condições operacionais ótimas para o processo são mostradas.

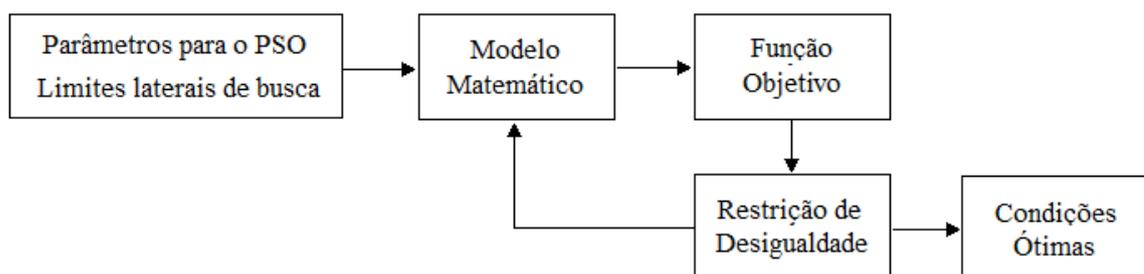


Figura 5.1 - Diagrama da otimização do processo.

Fonte: Autoria própria.

5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Visando a análise das condições ótimas para a função objetivo escolhida, a Tabela 5.3 apresenta seus valores máximos e a Tabela 5.4 as condições operacionais para cada caso, tendo-se em vista as variáveis de controle de cada modelo.

Tabela 5.3 - Valores máximos das funções objetivo.

	F₁ (%)	F₂ (g/L. h)	F₃
Modelo 4	93.5	8.0	2.7
Modelo 5	94.5	8.5	2.7

Tabela 5.4 - Condições operacionais ótimas para cada função objetivo.

		F₁	F₂	F₃
Modelo 4	X ₀ (g/L)	qualquer	6.5	6.5
	S ₀ (g/L)	qualquer	143.2	143.2
	T (°C)	36.5	36.5	36.5
	Agit (rpm)	qualquer	115.0	115.0
Modelo 5	X ₀ (g/L)	6.0	6.0	5.8
	S ₀ (g/L)	101.5	148.2	127.0
	T (°C)	34.0	36.0	35.0
	Agit (rpm)	110.0	107.0	111.0

Devido a complexidade dos modelos e o número de variáveis para otimização, observa-se a presença de funções multimodais para cada função objetivo maximizada. Com isso, optou-se por restringir a análise para o tempo de até 10 h de fermentação e baixas agitações, visto a minimização do custo energético do processo.

Observa-se que a otimização da eficiência da reação para o Modelo 4 apresenta dependência somente com a temperatura, pois a eficiência está diretamente relacionada ao rendimento de substrato em etanol ($Y_{P/S}$), que para esse modelo é função apenas da temperatura. Pelo gráfico de superfície de resposta para a eficiência mostrado na Seção 4.3, tem-se valor máximo de 93.5 % para a temperatura de aproximadamente 36 °C, valores em concordância aos obtidos aqui.

A maximização da produtividade é alcançado na mesma temperatura da máxima eficiência, permitindo que a condição ótima possa ser determinada pela função mono-objetivo da produtividade (F_2). A Figura 5.2 mostra a simulação do Modelo 4 nas suas condições ideais, em que os valores de eficiência de 93,5% e produtividade de 8,0 gL⁻¹h⁻¹ são obtidos no tempo de 7 h.

Como era de se esperar para o Modelo 5, a máxima eficiência é atingida para uma única condição, pois o rendimento do consumo de açúcar em etanol $Y_{P/S}$ está relacionado as estimativas das velocidades específicas que são função da concentração inicial de célula, temperatura, concentração inicial de substrato e agitação do meio.

A otimização para a função objetivo da eficiência (F_1) mostrou-se em concordância ao método estatístico proposto por Pinheiro (2015) a partir dos rendimentos obtidos pelo modelo de Monod, e como resultados das condições ótimas para máximo rendimento (100%) da fermentação alcoólica em estudo, obteve-se: concentração inicial de substrato próxima de 102

g/L, temperatura de 34 °C, concentração celular inicial de 5 g/L e agitação de 140 rpm. A Figura 5.3 ilustra o comportamento da fermentação para a máxima eficiência de 94.5%, com produtividade de 6.3 gL⁻¹h⁻¹ após 8 h de reação.

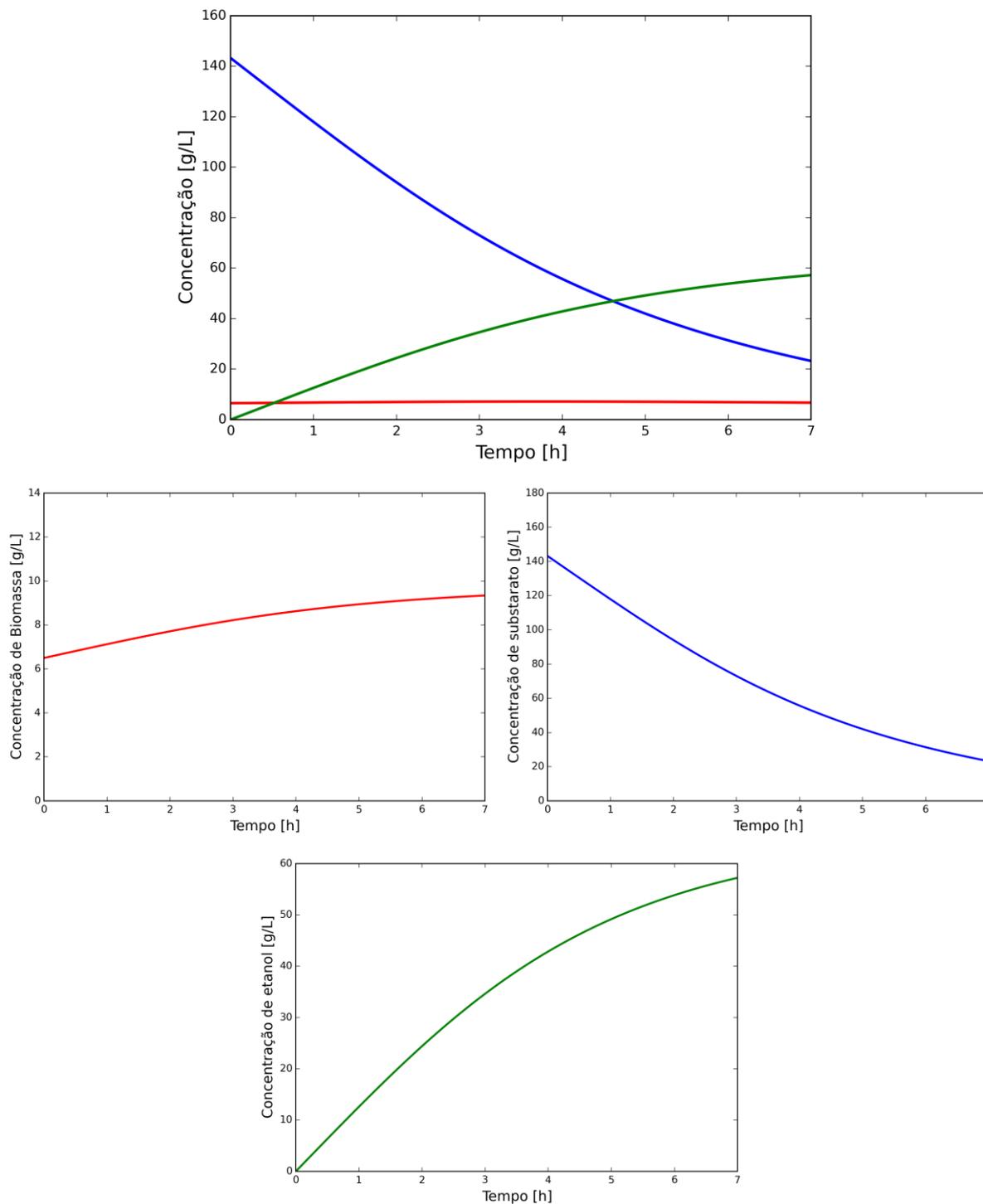


Figura 5.2 - Simulação do Modelo 4 para otimização da função mono-objetivo F_2 ou multiobjetiva F_3 : (—) Concentração de célula (g.L⁻¹); (—) Concentração de açúcares redutores totais (g.L⁻¹); (—) Concentração de etanol (g.L⁻¹).

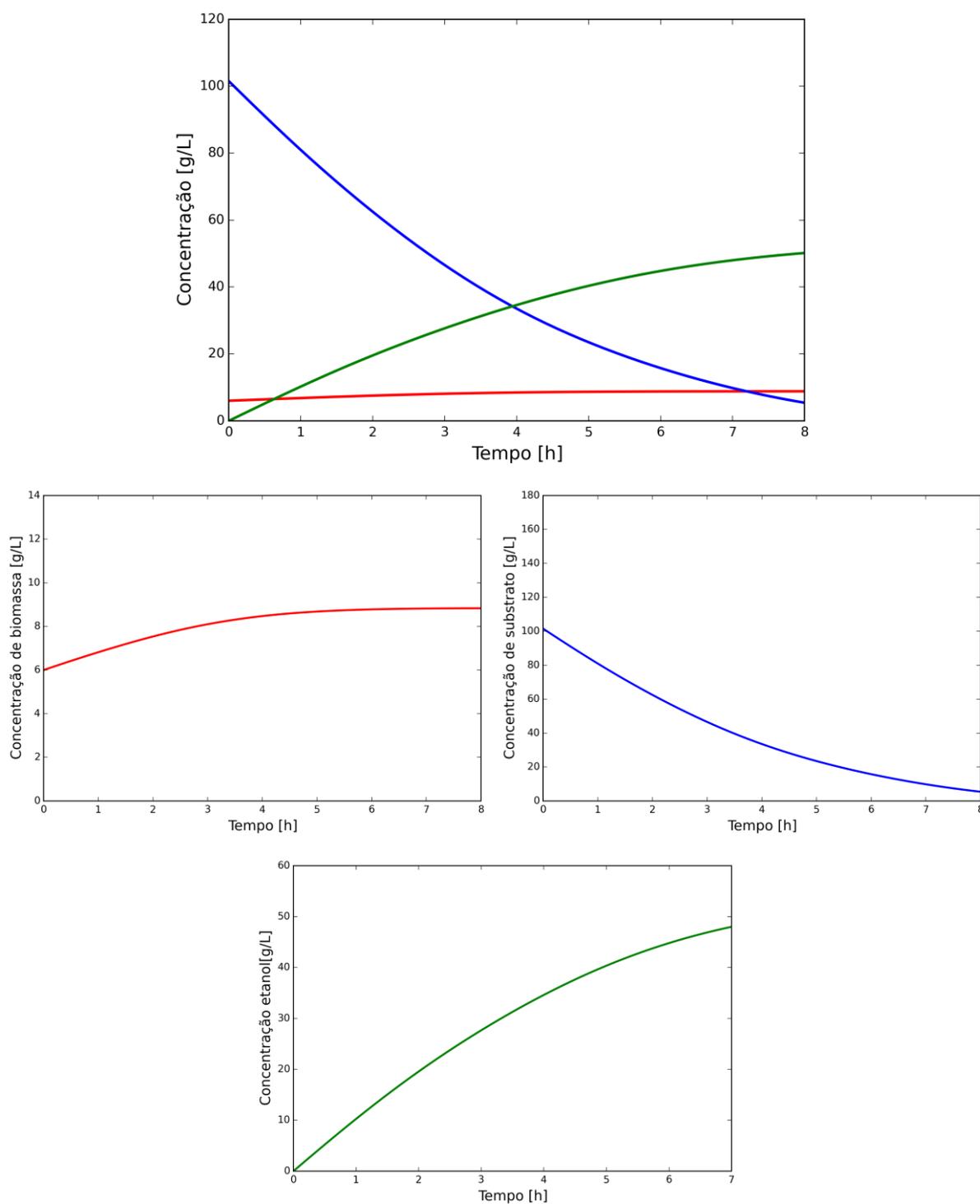


Figura 5.3 - Simulação do Modelo 5 para otimização da função objetivo F_1 : (—) Concentração de célula ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (—) Concentração de açúcares redutores totais ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (—) Concentração de etanol ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$).

Para o Modelo 5, a otimização da produtividade obteve valor de 8.5 g/L após 7h de fermentação com eficiência de 83%, como simulado na Figura 5.4. Nota-se que entre F_1 e F_2 a concentração inicial de substrato e a temperatura foram alteradas, pois maiores concentrações

de açúcar possibilitam concentrações de etanol mais elevadas, sendo a temperatura responsável por manter as células na condição de consumo mais rápido, mesmo que não seja o mais eficiente, já que a produtividade é função da concentração de etanol e do tempo.

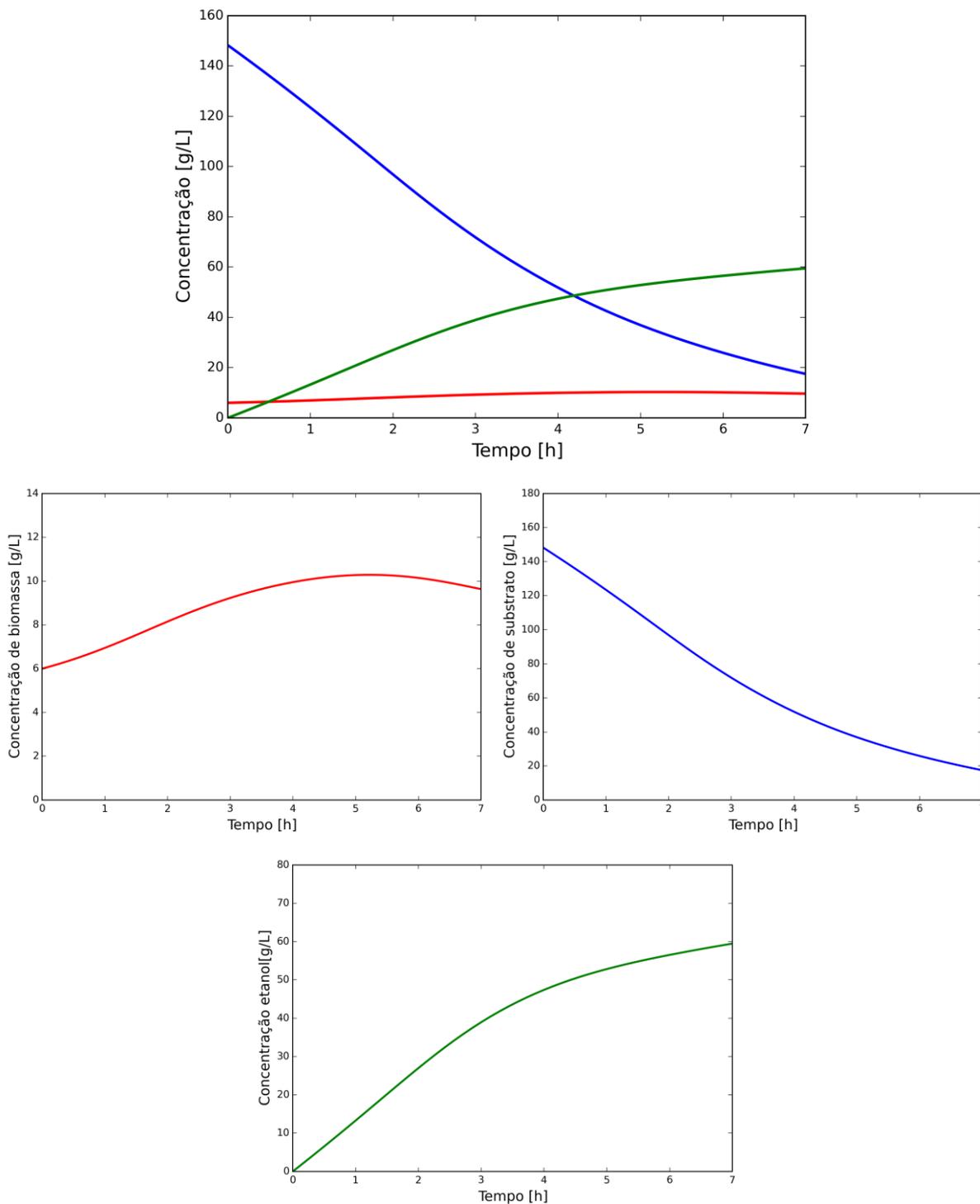


Figura 5.4 - Simulação do Modelo 5 para otimização da função objetivo F2: (—) Concentração de célula ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (—) Concentração de açúcares redutores totais ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (—) Concentração de etanol ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$).

Comparando a função objetivo da produtividade (F_2) para os Modelos 4 e 5, percebe-se similaridade entre as condições ótimas, revelando que os modelos apresentam comportamento equivalentes e podem ser ambos utilizados para simular a fermentação e estimar sua produtividade.

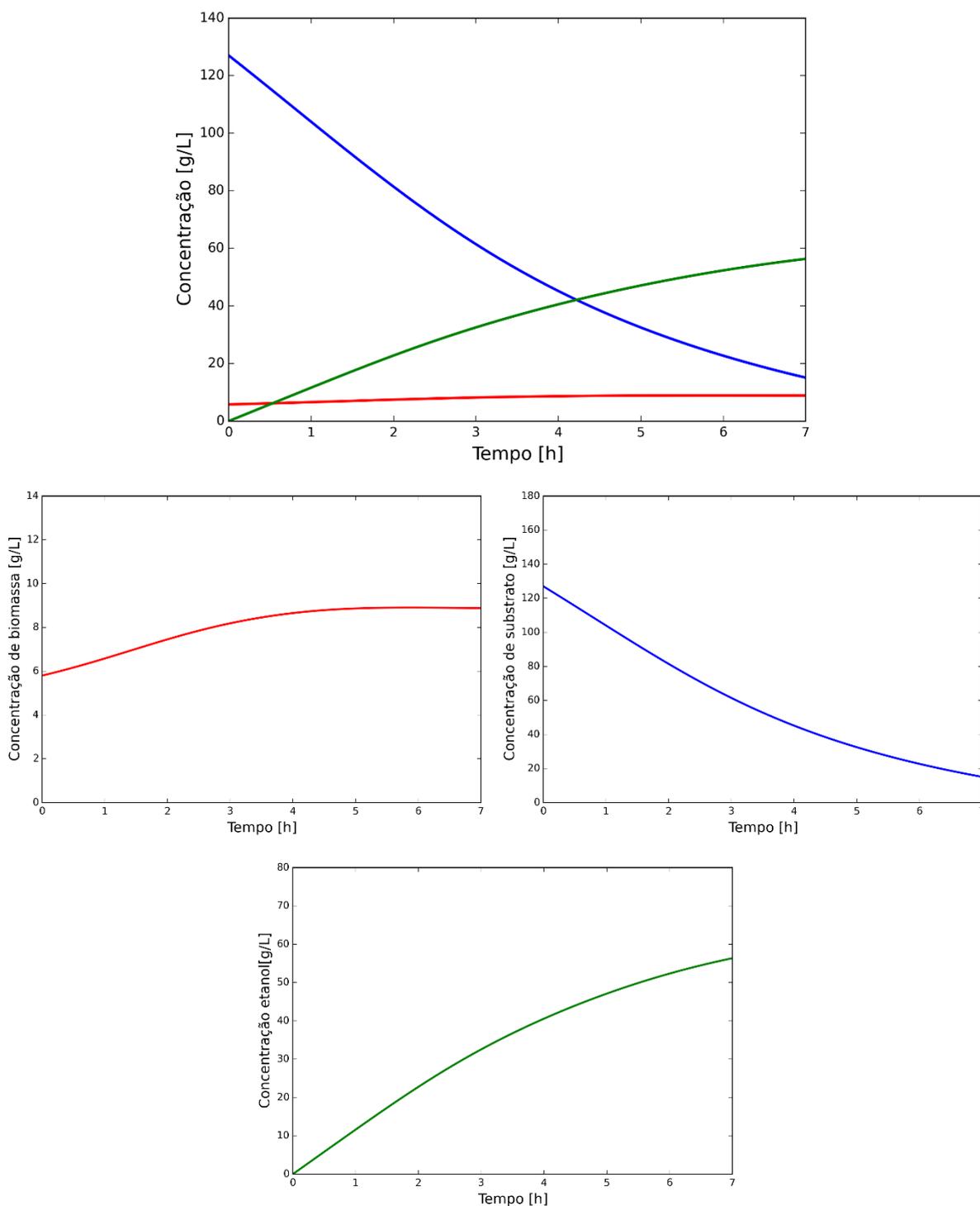


Figura 5.5 - Simulação do Modelo 5 para otimização da função objetivo F_3 : (—) Concentração de célula (g.L^{-1}); (—) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (—) Concentração de etanol (g.L^{-1}).

Entretanto, achou-se conveniente que o parâmetro de produtividade fosse combinado à eficiência de forma que a função multiobjetivo F_3 fosse maximizada. A Figura 5.5 mostra a simulação para as condições ideais da fermentação, onde a eficiência foi de 91.5% (relação entre a quantidade de substrato consumido utilizado para formar etanol) e produtividade de $8.0 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$, obtidos no tempo de aproximadamente 7 h.

Constata-se que as condições ótimas de concentração inicial de substrato e temperatura para a função F_3 estão compreendidos nos intervalos de F_1 e F_2 , enquanto que a concentração celular inicial e a agitação mantiveram-se praticamente constantes. Esse fato era esperado, uma vez que a função objetivo F_3 considera os parâmetros de eficiência e produtividade.

5.3 CONCLUSÃO

O método não determinístico de enxame de partícula mostrou-se ser uma boa alternativa para busca global de pontos ótimos, possibilitando otimizar e estudar o efeito das condições operacionais avaliadas para o processo, sendo elas a concentração inicial de substrato, temperatura, concentração inicial de células e agitação.

Os Modelos 4 e 5 foram otimizados, pois estes mostraram-se satisfatórios para descrever o comportamento da fermentação, sendo utilizados também para comparação entre os resultados apresentados pelo modelo mecanístico e pelo modelo híbrido. Observou-se concordância quanto as condições ótimas para a função objetivo da produtividade, demonstrando que ambos os modelos podem ser utilizados.

No entanto, o Modelo 5 é o mais indicado para fins práticos, pois apresenta a eficiência como função das variáveis do processo, revelando-se quantitativamente adequado e confiável para representar a fermentação alcoólica a partir do sujo de caju.

Dessa forma, com base na função combinada pela média geométrica da produtividade e da eficiência, os valores estimados para as condições ótimas foram: concentração inicial de substrato de 127 g/L , temperatura de $35 \text{ }^\circ\text{C}$, concentração inicial de célula de 5.8 g/L , agitação de 111 rpm . O tempo ideal de reação é de aproximadamente 7 h, com eficiência de 91.5 % e produtividade de $8 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$.

6. AMPLIAÇÃO DE ESCALA

A ampliação de escala com o propósito de aumentar a produção de etanol a partir da fermentação do suco do pedúnculo do caju é uma etapa até então não avaliada e de fundamental importância para a obtenção de indicadores de viabilidade técnica e econômica do processo. O principal parâmetro regulador da reação em estudo é a dispersão dos flóculos de célula, tornando o meio homogêneo, que juntamente com as condições operacionais podem interferir na resposta celular e conseqüentemente no comportamento dos perfis de concentração ao longo da fermentação. Assim, este capítulo tem como objetivo realizar o *scale-up* de um fermentador de 1 litro para 14 litros e para isso, utilizou-se o critério de constância da potência do agitador pelo volume do reator (P/V).

6.1 INTRODUÇÃO

A ampliação de escala ou *scale-up* pode ser definida como um procedimento utilizado para projetar e construir equipamentos de maior escala baseados nos resultados experimentais com equipamento de menor escala que apresentam similaridade geométrica (OKONKOWSKI *et al.*, 2005).

Em indústrias onde a conversão da matéria-prima em produto é fundamentada na conversão biológica, dentre todas as etapas que devem ser ampliadas, inclui-se a etapa de bio-transformação, realizada em fermentadores. De acordo com Stanbury, Whitaker e Hall (1995) e Okonkowski *et al.* (2005), os principais fatores que devem ser analisados para o *scale-up* do fermentador são:

- Preparação do inóculo: um aumento na escala pode provocar mudanças no preparo do inóculo, incorporando etapas extras no processo;
- Esterilização: independentemente da escala, o número absoluto de micro-organismo contaminantes em um fermentador deve ser constante, podendo resultar em uma mudança na qualidade do meio após a esterilização;
- Parâmetros ambientais: o aumento de escala pode resultar em um ambiente diferente para o micro-organismo, sendo estes: disponibilidade de nutrientes, pH, temperatura, teor de oxigênio dissolvido, condições de cisalhamento, concentração de dióxido de carbono dissolvido e formação de espuma.

Nota-se que todos os parâmetros citados anteriormente são afetados pela agitação ou aeração, seja em termo de volume de mistura ou disponibilidade de oxigênio. Para reações que não necessita de aeração, os parâmetros ambientais 1, 2 e 3 são os únicos relevantes para análise do *scale-up* do fermentador. Entretanto, o preparo do inóculo e as dificuldades de esterilização podem ser a razão para diminuição do rendimento quando é realizada a aeração/agitação correta para o processo ampliado (STANBURY, WHITAKER e HALL, 1995).

Visto que as condições operacionais para operação em escala de bancada foram otimizadas, estudos de ampliação de escala são realizados com a finalidade de assegurar que tais condições ótimas sejam reproduzidas em escala maior (DIAS e AZEVEDO, 1999).

A escolha do critério de ampliação de escala varia de acordo com o processo, pois depende das suas especificidades. Para Schmidell e Facciotti (2001), os parâmetros mais utilizados para *scale-up* são:

- Constância da potência no sistema não aerado por unidade de volume do meio (P/V);
- Constância do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{La});
- Constância da velocidade na extremidade do impelidor (V_{tip});
- Constância do tempo de mistura (t_m);
- Constância da capacidade de bombeamento do impelidor (F_L/V);
- Constância do número de Reynolds (N_{Re});
- Constância da pressão parcial ou concentração de oxigênio dissolvido no meio (C).

Os critérios mais utilizados pelas indústrias de fermentação são o k_{La} (reação com aeração) e P/V (reação sem aeração), de acordo com Schmidell e Facciotti (2001). Dessa forma, utilizou-se do critério de P/V , aplicada quando deseja-se obter taxas de transferências de massa iguais, para o *scale-up* do fermentador. Para isso, verificou-se a adequação dos Modelos 4 e 5 propostos no Capítulo 4 com os dados experimentais obtidos no reator de 14 litros após *scale-up*, mantendo-se as mesmas condições de concentração inicial de substrato, temperatura e concentração inicial de célula.

Assim, o objetivo é certificar se a abordagem matemática proposta é capaz de prever o comportamento da fermentação em diferentes escalas de produção e estimar a velocidade de agitação requerida na condição ótima do processo, tal como os perfis de concentração, eficiência e produtividade da reação de obtenção de etanol a partir do pedúnculo de caju.

6.2 METODOLOGIA

A fim de realizar o scale-up do fermentador de 1L para 14 L de volume útil, o primeiro passo foi garantir a similaridade geométrica entre os sistemas. Em seguida, partiu-se para o desenvolvimento da relação de ampliação escolhida (P/V). De posse da nova condição de agitação, realizaram-se as corridas experimentais com a finalidade de validar o modelo matemático para o *scale-up*.

6.2.1 Fermentador de 1 L

A Figura 6.1 mostra o esquema do fermentador de 1L utilizado, tais que suas principais características são: reator de vidro com diâmetro (d_T) igual a 9,5 cm, sendo o mesmo equipado com dois impelidores (tipo Rushton e tipo Scaba) equidistantes 6 cm, cada um possuindo seis pás planas com diâmetro (d_i) igual a 4,2 cm.

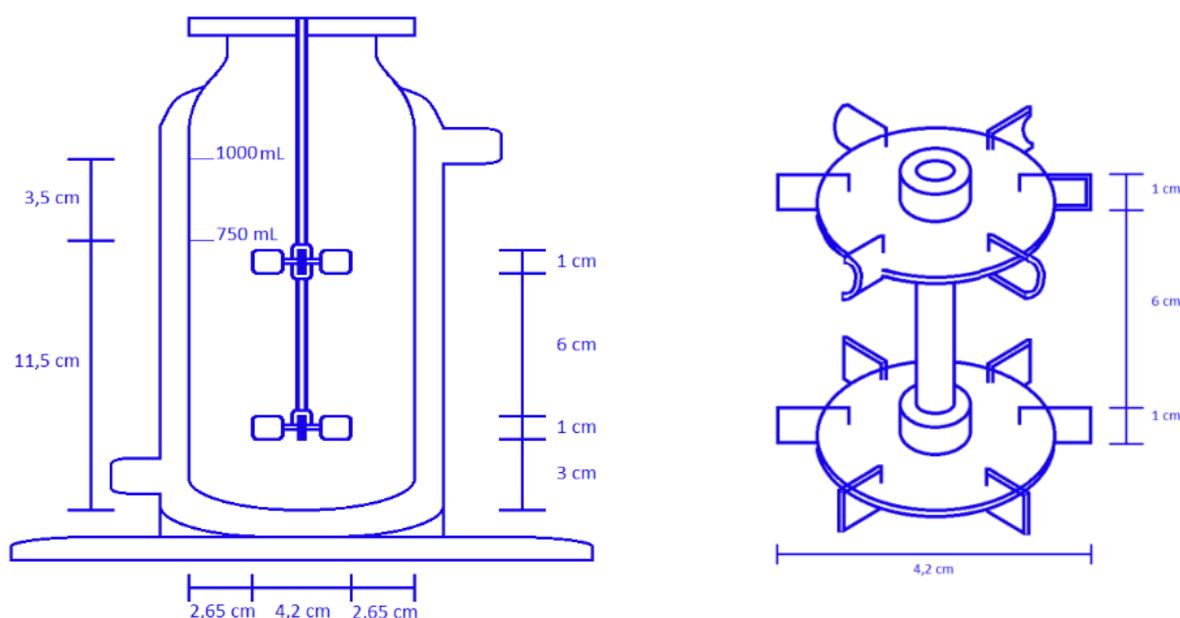


Figura 6.1 – Esquema com dimensões do biorreator encamisado de 1L utilizado nos experimentos.

Fonte: PINHEIRO, 2015.

Este biorreator consiste em um vaso de aproximadamente 1 litro de volume útil, sendo utilizado 750 mL de suco de caju como meio de cultura para o crescimento de *Saccharomyces cerevisiae*, que contém uma base de controle que possibilita controlar algumas variáveis do processo, tais como: temperatura, pH, agitação, aeração, vazão de nutrientes e adição de antiespumantes.

6.2.2 Fermentador de 14 L

O esquema do fermentador de 14 L é ilustrado na Figura 6.2, tais que suas principais características são: reator de vidro com diâmetro (d_T) igual a 21,0 cm, sendo o mesmo equipado com dois impelidores (tipo Rushton e tipo Scaba), cada um possuindo seis pás planas com diâmetro (d_i) igual a 8,1 cm.

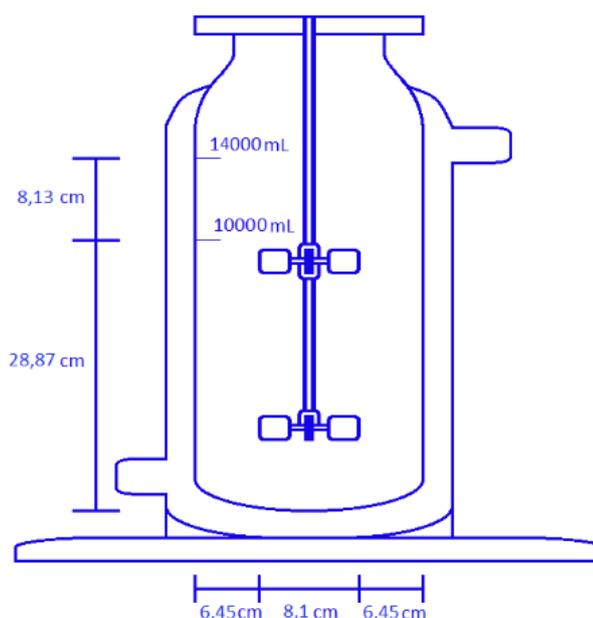


Figura 6.2 – Esquema com dimensões do biorreator encamisado de 14L utilizado nos experimentos.

Fonte: PINHEIRO, 2015.

Por apresentarem similaridade geométrica, a fermentação realizada no biorreator de 1 L também foi reproduzida no fermentador com capacidade de 14 L (utilizando 10 L de suco de caju). Para isso, foram mantidas constantes todas as condições operacionais definidas no experimento para o reator de 1 L, com exceção da velocidade de agitação, que foi ajustada de acordo com o valor de P/V requerido.

6.2.3 Desenvolvimento do critério de *scale-up*

Neste trabalho, o critério de ampliação utilizado foi a constância da potência no sistema não aerado por unidade de volume de meio (P/V), pois este é indicado para quando deseja-se manter a mesma taxa de transferência de massa. Assim, tem-se a igualdade do valor da relação de potência por unidade de volume entre o reator de 1 L (reator 1) e o reator de 14 L (reator 2), conforme Equação 6.2.

$$\left(\frac{P}{V}\right) = \text{constante} \quad (6.1)$$

$$\left(\frac{P}{V}\right)_1 = \left(\frac{P}{V}\right)_2 \quad (6.2)$$

O número de potência (N_p) para sistemas sem aeração é expresso na Equação 6.3, sendo um número adimensional que relaciona a potência requerida para homogeneizar o meio (P), a velocidade de agitação (N), o diâmetro do impelidor (D_i) e a densidade do fluido (ρ).

$$N_p = \frac{P}{\rho N^3 D_i^5} \quad (6.3)$$

O valor do N_p mantém-se aproximadamente constante em diferentes escalas quando o mesmo tipo de impelidor é utilizado, considerando regime turbulento (JUNKER, 2004). Assim, a Equação 6.4 expressa a potência requerida para determinado tipo de impelidor. Doran (1995), apresenta as Equações 6.5 e 6.6 para projetar biorreatores com impelidores tipo turbina de Rushton, como empregado nos fermentadores em estudo.

$$P = \rho N^3 D_i^5 N_p \quad (6.4)$$

$$\frac{D_T}{D_i} = 3 \rightarrow D_T = 3 D_i \quad (6.5)$$

$$\frac{H_L}{D_i} = 3 \rightarrow H_L = 3 D_i \quad (6.6)$$

O volume ocupado do fermentador cilíndrico (V) pode ser obtido pela Equação 6.7 como função do diâmetro do tanque (D_T) e da altura do líquido no reator (H_L). Substituindo as Equações 6.5 e 6.6 na Equação 6.7, tem-se o volume como função do diâmetro do impelidor (Equação 6.9).

$$V = \pi \frac{D_T^2}{4} H_L \quad (6.7)$$

$$V = \pi \frac{(3 D_i)^2}{4} 3 D_i \quad (6.8)$$

$$V = \pi \frac{27 D_i^3}{4} \quad (6.9)$$

Por fim, substituindo as Equações 6.4 e 6.9 na Equação 6.2, obtém-se a Equação 6.11 que prediz a velocidade de agitação do fermentador ampliado (reator 2). Assim, o consumo de potência por unidade de volume se mantém constante para ambos os reatores.

$$\left(\frac{\rho N^3 D_i^5 N_p}{\pi \frac{27 D_i^3}{4}} \right)_1 = \left(\frac{\rho N^3 D_i^5 N_p}{\pi \frac{27 D_i^3}{4}} \right)_2 \quad (6.10)$$

$$N_2 = N_1 \left(\frac{D_{i1}}{D_{i2}} \right)^{\frac{2}{3}} \quad (6.11)$$

6.2.4 Dados experimentais

Os dados experimentais utilizados para a ampliação de escala também foram obtidos por Pinheiro (2015). Após escolher uma condição operacional dentro da validade dos modelos para o fermentador de 1 L, partiu-se para a estimativa da velocidade de agitação para o fermentador de 14 L. De posse das condições operacionais para os dois casos (Tabela 6.1), realizaram-se as corridas experimentais.

Tabela 6.1 – Condições operacionais para os reatores 1 e 2.

Reator	Volume (L)	S ₀ (g/L)	Temperatura (°C)	X ₀ (g/L)	Agitação (rpm)
1	1	110	34	6	150
2	14				97

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a etapa de *scale-up*, optou-se por utilizar os Modelos 4 e 5 do Capítulo 4, pois estes se mostraram adequados para descrever a produção de etanol pela fermentação do suco do pedúnculo por *S. cerevisiae* com influências das condições operacionais.

A Figura 6.3 mostra as simulações dos modelos mecanístico e híbrido para os reatores 1 e 2. Comparando os perfis de concentração para os dois reatores, observam-se que os modelos são satisfatórios para prever o comportamento da fermentação no reator de 1 L, porém, foram insatisfatórios para o reator de 14 L, mesmo que após 10 h de reação os modelos consigam prever as concentrações de célula, substrato e produto.

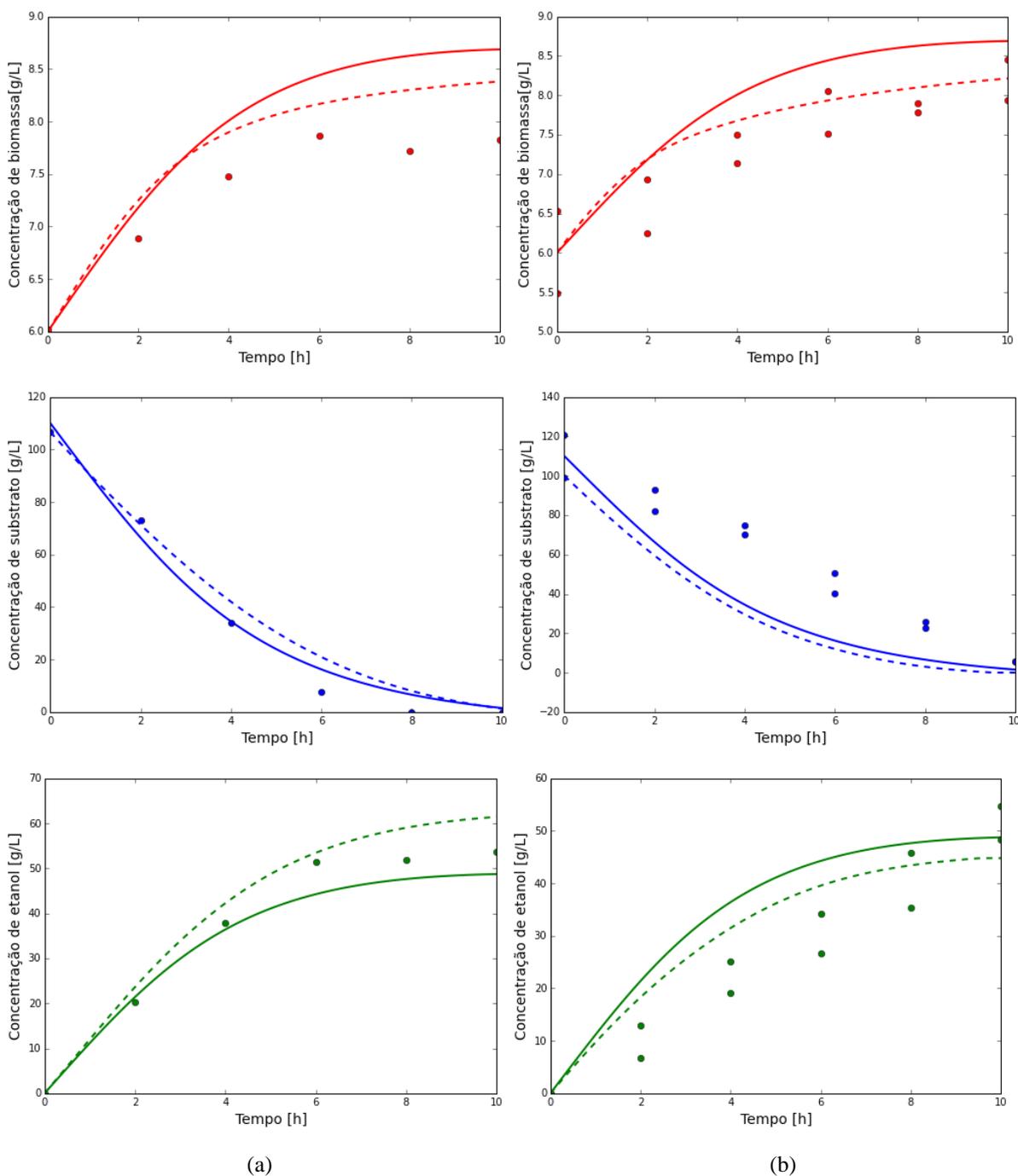


Figura 6.3 - Simulações dos modelos para (a) reator 1 e (b) reator 2: (●) Dados experimentais; (—) Modelo 4: modelo mecanístico; (---) Modelo 5: modelo híbrido.

Pelos dados experimentais, constata-se que o consumo de substrato no reator 1 é mais eficiente que para o reator 2, indicando que o reator de 1 L apresenta melhor homogeneização do sistema e conseqüentemente menor resistência a transferência de massa. Supõem-se que a preparação do inóculo seja a principal razão para diminuição do rendimento do processo ampliado.

Ao realizar os experimentos para o reator de 14 L, notaram-se que as células estavam aglomeradas pela grande quantidade preparada. Quando colocadas no fermentador, os flóculos demoraram para dispersar e tornar o meio reacional homogêneo, aumentando a resistência a transferência de açúcar até a célula.

Uma tentativa de solucionar o problema, seria acrescentar uma etapa de dispersão dos flóculos no preparo do inóculo, antes de adicioná-los no fermentador. No entanto, optou-se por estimar a nova velocidade específica de transferência de massa para o modelo mecanístico, já que a cinética da reação não é alterada pelas geometrias do sistema.

A Tabela 6.2 compara os parâmetros estimados para o reator 1 e 2, mantendo-se a mesma lei de potência para a influência da agitação. Percebe-se uma diminuição expressiva nos parâmetros para o reator de 14 L, com valor médio de 13.7% do substrato disponível chegando a superfície da célula para conversão em etanol.

Tabela 6.2 – Estimativa dos parâmetros da velocidade específica de transferência de massa para os reatores 1 e 2.

Reator	β_{mix} ($L \cdot g^{-1} h^{-1} rpm^{-n}$)	η (%)
1	2.201	55.0
2	0.055	13.7

O comportamento da velocidade específica de transferência de massa (μ_{mix}) ao longo da fermentação é ilustrado na Figura 6.4. Nota-se que a resistência a transferência de açúcar para a célula é expressivamente maior no reator de 14 L, evidenciando a hipótese de zona de concentradas pela deposição da levedura *S. cerevisiae* floculante no fundo do fermentador.

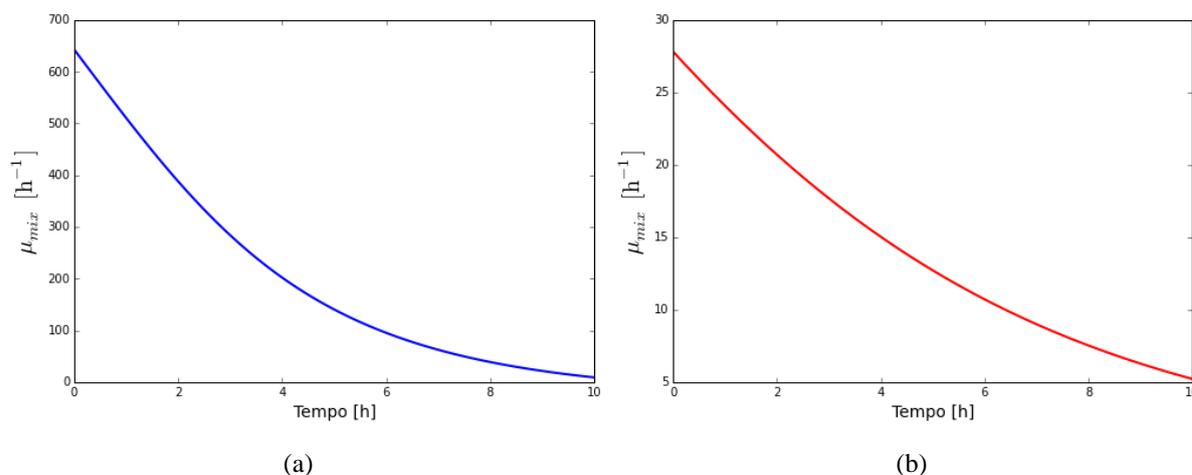


Figura 6.4 – Perfil da velocidade específica de transferência de massa para (a) reator 1 e (b) reator 2.

A Figura 6.5 compara os perfis de concentração para o reator de 14 L com a simulação do modelo mecanístico com μ_{mix} estimado para os reatores 1 e 2. Observa-se que a alteração da velocidade específica de transferência de massa foi suficiente para que o Modelo 4 se tornasse adequado para descrever a fermentação após a ampliação de escala.

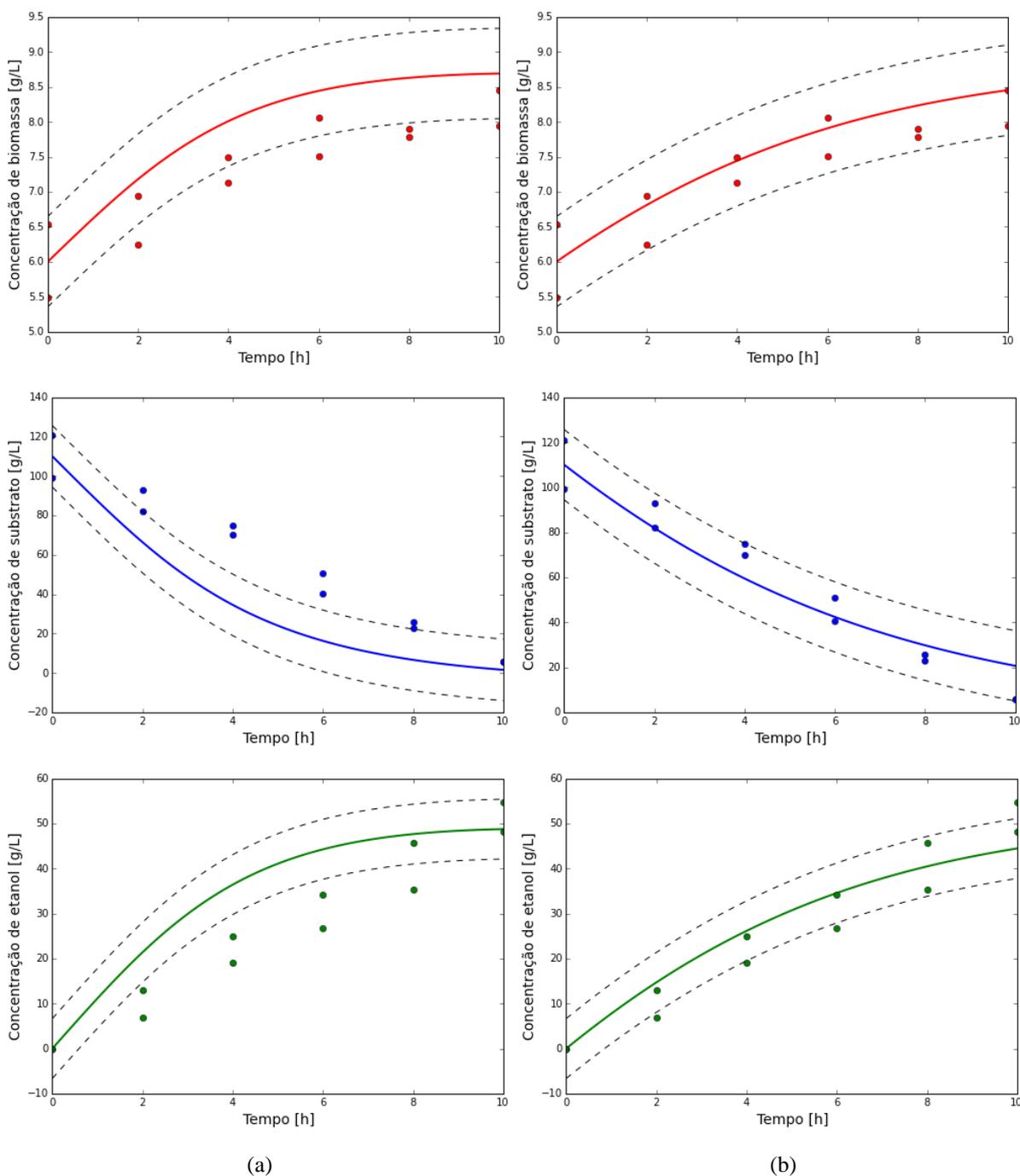


Figura 6.5 – Simulação do modelo mecanístico para a ampliação de escala com (a) μ_{mix} estimado para o reator 1 e (b) μ_{mix} estimado para o reator 2: (●) Biomassa (Massa seca - g.L⁻¹); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L⁻¹); (●) Concentração de etanol (g.L⁻¹); (—) Modelo mecanístico (Modelo 4), (---) Intervalo de confiança com nível de significância de 90% para os dados experimentais.

Constata-se que os dados experimentais estão compreendidos no intervalo de confiança médio dos ensaios, confirmando que o modelo conseguiu absorver de forma suficiente as mudanças físicas do processo existente pelo aumento do volume do fermentador. Dessa forma, o Modelo 4 é adequado para prever os perfis de concentração para as condições ótimas da reação estudada no Capítulo 5, como mostrados na Figura 6.6.

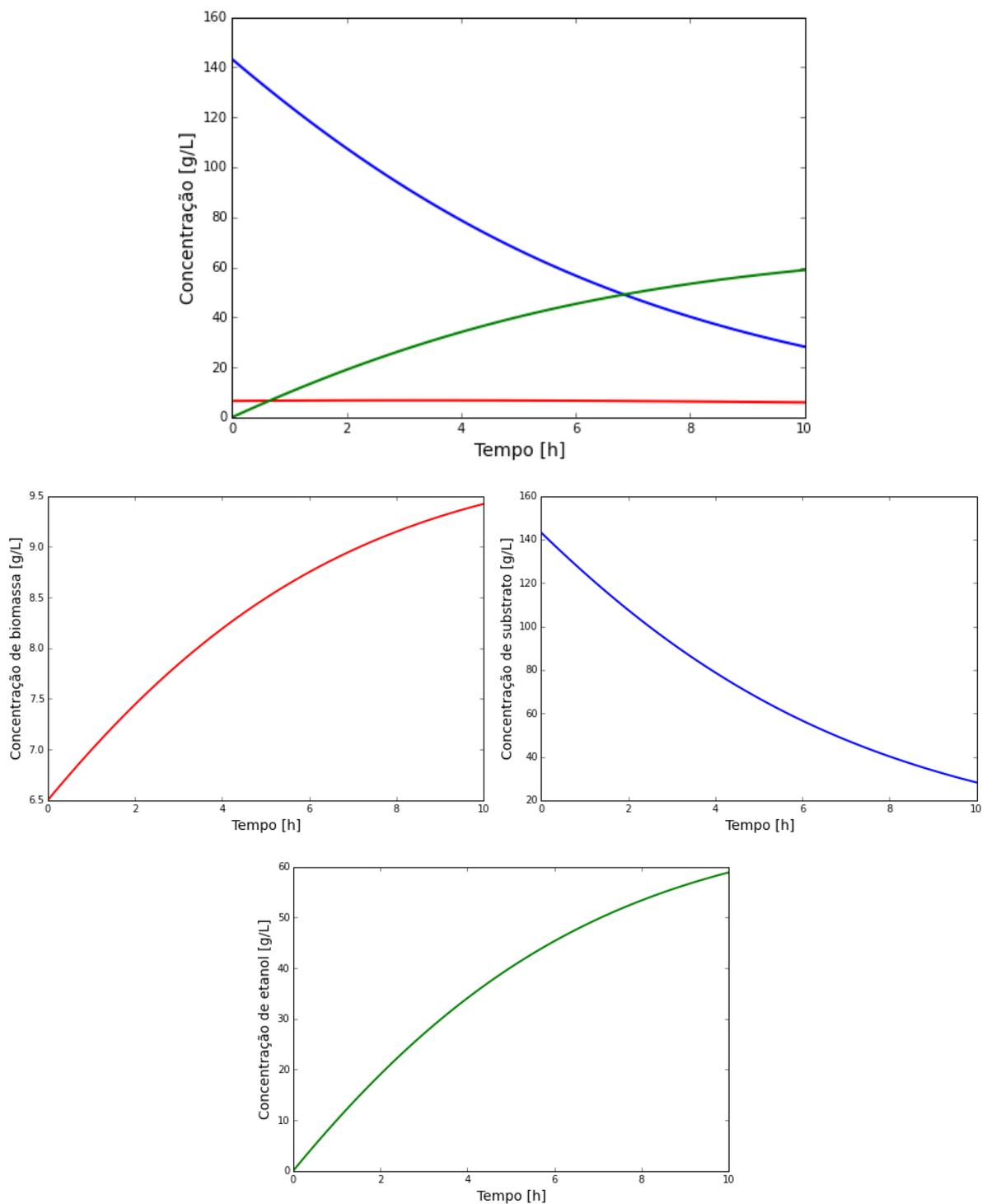


Figura 6.6 - Simulação do Modelo 4 para otimização do reator de 14 L: (—) Concentração de célula (g.L^{-1}); (—) Concentração de açúcares redutores totais (g.L^{-1}); (—) Concentração de etanol (g.L^{-1}).

Os gráficos da Figura 6.6 foram simulados com as condições operacionais ótimas apresentadas na Tabela 6.3 para o reator 2. Verifica-se com as simulações para o reator 1 (ver Figura 5.2), que a reação produz aproximadamente 60 g/L de etanol após 7h de fermentação com produtividade de 8 g L⁻¹ h⁻¹ e eficiência de 93.5 %. Para o reator de 14 L, necessitou-se de 10h de reação para obter a mesma concentração de etanol, evidenciando que o processo é mais lento por conta a baixa velocidade específica de transferência de massa.

Tabela 6.3 – Condições operacionais ótimas para os reatores 1 e 2.

		Reator de 1 L	Reator de 14 L
Modelo 4	X ₀ (g/L)	6.5	6.5
	S ₀ (g/L)	143.2	143.2
	T (°C)	36.5	36.5
	Agit (rpm)	115.0	80

Nessas condições, a produção de etanol no reator de 14 L obteve produtividade de 6 g L⁻¹ h⁻¹ e eficiência de 98.0 %. A produtividade foi inferior ao calculado para o reator de 1 L, uma vez que o tempo necessário para a reação foi maior. Dessa forma, as condições operacionais ótimas para o Reator de 14 L foram definidas, assim como os perfis de concentração esperados na fermentação do suco do pedúnculo do caju e os parâmetros de eficiência e produtividade da reação.

6.4 CONCLUSÃO

O critério da constância da potência no sistema não aerado por unidade de volume de meio (P/V) mostrou-se uma estratégia adequada para o *scale-up*. No entanto, foi necessário estimar a velocidade específica de transferência de massa para o reator de 14 litros, pois este apresentou problemas de deposição dos flóculos de levedura no fundo do fermentador durante o início da reação.

Assim, a ampliação de escala foi realizada para as condições operacionais ótimas definidas no Capítulo 5 e com o modelo mecanístico, pode-se determinar o comportamento das concentrações de célula, substrato e produto ao longo da fermentação. Observou-se também uma redução na produtividade (6 g L⁻¹ h⁻¹) que é justificada pelo aumento do tempo (10h) de reação, já que a taxa de transferência de açúcar até a célula mostrou-se menor quando comparada ao reator de 1 litro.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através da análise dos dados experimentais obtidos neste trabalho, bem como a modelagem, simulação, otimização e ampliação do processo foi possível concluir que:

- i. O Modelo 1 mostrou-se inadequado para representar a influência da concentração de substrato, sugerindo alterações nas hipóteses simplificadoras.
- ii. O Modelo 2 descreveu adequadamente a física da fermentação com a hipótese de morte e manutenção celular, para variação da concentração de substrato, utilizando o modelo cinético proposto por Ghose & Tyagi indicado para condições de substrato limitante, inibição pelo substrato e inibição linear pelo produto.
- iii. A inclusão da influência da temperatura foi realizada no Modelo 3 de forma satisfatória. Dessa forma, otimizou-se as condições de concentração inicial de substrato (100 a 120 g/L) e temperatura (34 a 36°C) a partir de gráficos de superfície, baseados nos critérios de eficiência e produtividade.
- iv. O Modelo 4 mostrou-se ser um modelo mecanístico promissor para prever os perfis de concentração com influências das condições operacionais (concentração inicial de substrato, temperatura, concentração inicial de célula e agitação), considerando a existência de um filme estagnado em torno da célula de *S. cerevisiae* flocculante.
- v. Na tentativa de propor um modelo híbrido para representar a fermentação, utilizou-se de RNAs para estimar as velocidades específicas da reação como função das condições operacionais. O Modelo 5 apresentou melhor ajuste para 19 ensaios de treinamento e a validação frente aos novos dados experimentais. Logo, este modelo mostrou-se mais abrangente (intervalo de X_0) e confiável ($\varepsilon_{exp} > 8.37\%$).
- vi. A otimização do Modelo 4 pelo método de enxame de partícula obteve valores ótimos de 143.2 g/L de concentração inicial de substrato, 36.5 °C de temperatura, 6.5 g/L de concentração inicial de célula e 115 rpm de agitação. Nessas condições, a eficiência e produtividade foram de 93,5% e 8,0 gL⁻¹h⁻¹, respectivamente.

- vii. Para o Modelo 5, a otimização da fermentação foi realizada visando maximizar a função combinada entre a produtividade e a eficiência, pois estes apresentam pontos ótimos diferentes. Dessa maneira, obteve-se que a reação deve ser conduzida com concentração inicial de substrato de 127.0 g/L, temperatura de 35 °C, concentração inicial de célula de 5.8 g/L, agitação de 111 rpm e tempo de aproximadamente 7 h. Nessas condições, a eficiência foi de 91.5 % e a produtividade de 8.0 gL⁻¹h⁻¹.
- viii. Para o *scale-up* do fermentador, utilizou-se o critério da constância da potência no sistema não aerado por unidade de volume do meio (P/V). Notou-se que os Modelos 4 e 5 não conseguiram inicialmente prever os perfis de concentração para o reator de 14 litros, sugerindo problema na preparação do inóculo. Assim, foi necessária uma nova estimativa da velocidade específica de transferência de massa para o reator ampliado. Dessa forma, o *scale-up* foi realizado para as condições operacionais ótimas e obteve produtividade de 6 g L⁻¹ h⁻¹.

No que se refere a trabalhos futuros como continuação ao presente estudo, as seguintes recomendações podem ser feitas:

- Proposição de modelo mecânico que incorpore a variação dos rendimentos da reação para cada concentração inicial de substrato.
- Estudo termodinâmico do processo para a dependência dos parâmetros do modelo com a temperatura.
- Aplicação de redes neurais como estimadores das velocidades específicas para modelo matemático com hipótese de morte e manutenção celular.
- Estudo da adequação do modelo híbrido para a ampliação de escala do fermentador para simulação das condições operacionais ótimas do processo.
- Realizar um estudo técnico e econômico da produção de etanol a partir dos resultados obtidos neste trabalho.

REFERÊNCIAS

AHMAD, M. et al. A protein that activates expression of a multidrug efflux transporter upon binding the transporter substrates. **J. Biol. Chem.**, v. 269, n. 45, p. 28506-13, 1994.

ALDIGUIER, A. S. et al. Synergistic temperature and ethanol effect on *Saccharomyces cerevisiae* dynamic behaviour in ethanol bio-fuel production. **Bioprocess Biosyst. Eng.**, v. 26, p. 217-222, 2004.

ALMEIDA, L. B. **A learning rule for asynchronous perceptrons with feedback in a combinatorial environment.** Proceeding of the IEEE First International Conference on Neural Networks, p. 609-618, 1987.

ALVES, R. M. B. **Otimização de um Processo Industrial de Produção de Isopreno via Redes Neurais.** 2003, 283 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

AMORIM, H. V. de; BASSO, L. C.; ALVES, D. M. G. **Processo de Produção de Álcool - Controle e Monitoramento.** FERMENTEC/FEALQ/ESALQ-USP. Piracicaba, 1996.

ATALA, D. I. P.; COSTA, A. C.; MACIEL, R. Kinetics of ethanol fermentation with high biomass concentration considering the effect of temperature. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 91, n. 3, p. 353-365, 2001.

BALLI, D. et al. Effect of yeast cell immobilization and temperature on glycerol content in alcoholic fermentation with respect to wine making. Elsevier Science Ltd. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 499-506, 2003.

ALVES, D. M. G. **Fatores que afetam a formação de ácido orgânicos bem como outros parâmetros da fermentação alcoólica.** 1994. 251 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

BARROS, E. M. et al. A Yeast Isolated from Cashew Apple Juice and Its Ability to Produce First- and Second-Generation Ethanol. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 174, p. 2762-2776, 2014.

BARRETO, J.M. **Introdução às Redes Neurais Artificiais, Laboratório de Conexionismo e Ciências Cognitivas.** Laboratório de Conexionismo e Ciências Cognitivas UFSC - Departamento de Informática e de Estatística, Universidade Federal de Santa Catarina, 2002.

BNDES - Banco Nacional do Desenvolvimento. **Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável**, 1. ed. Rio de Janeiro: BNDES, p. 316, 2008.

BONOMI, A.; SCHMIDELL, W. **Modelagem matemática e simulação de processos fermentativos**. In: Schmidell, W.; Lima, U. A.; Aquarone, E.; Borzani, W. (coord). *Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica*. São Paulo: Edgard Blucher, v. 2, p. 123-178, 2001.

COSTA, J. A. et al. Alkaline Hydrogen Peroxide Pretreatment of Cashew Apple Bagasse for Ethanol Production: Study of Parameters. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 249-256, 2013.

COSTA, J. A. et al. Enhanced enzymatic hydrolysis and ethanol production from cashew apple bagasse pretreated with alkaline hydrogen peroxide. **Bioresource Technology**, v. 179, p. 249-259, 2015.

CHAPELLE, O., SCHOLKOPF, B., ZIEN, A. **Adaptive computation and machine learning**. Semisupervised learning. Cambridge, Mass., USA: MIT Press, 2006.

DIAS, D. R. **Elaboração de bebida fermentada a partir de frutas tropicais**. 2001. 130 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia de Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, 2001.

DIAS, A., AZEVEDO, F. Scale-up strategy for bioreactors with Newtonian and non-Newtonian broths. **Bioprocess. Eng.**, v. 21, p. 21–23, 1999.

DE AZEVEDO, F. M. et al. **Neural network approach for medical diagnostic**. In **Mini and Microcomputers in Medicine and Health Care 91**, Anaheim, Calgary, December 1991.

DEENANATH, E. D.; RUMBOLD, K.; IYUKE, S. **The Production of Bioethanol from Cashew Apple Juice by Batch Fermentation Using *Saccharomyces cerevisiae* Y2084 and Vin13**. *ISRN Renewable Energy*, v. 2013, p. 11, 2013.

DORAN, P. M. **Bioprocess Engineering Principles**. Publisher: Elsevier Science & Technology Books, p. 430, 1995.

FAKRUDDIN, MD. et al. Analysis of key factors affecting ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* IFST – 072011. **Biotechnology**, v. 11, n. 4, p. 248 - 252, 2012.

FERNANDES, R. S. S. **Identificação de Fontes de Correntes Harmônicas por Redes Neurais Artificiais**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) – Escola de Engenharia da São Carlos, Universidade de São Paulo, 2008.

FERREIRA, E. S. **Cinética química e fundamentos dos processos de nitrificação e denitrificação biológica**. XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. Porto Alegre, 2000.

FIGUEIREDO, C. M. **Análise molecular da floculação e formação de espuma por leveduras utilizadas na produção industrial de álcool combustível no Brasil**. 2008. 82 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2008.

GHOSE, T. K.; TYAGI, R. D. Rapid ethanol fermentation of cellulose hydrolysate. II. Product and substrate inhibition and optimization of fermentor design. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 21, n. 8, p. 1401-1420, 1979.

GONDIM, D. R. et al. Use of Cashew Apple Bagasse as Support for *Saccharomyces cerevisiae* Cells Immobilization for Ethanol Production. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**, v. 8, p. 108-114, 2014.

GONG, C. et al. Ethanol production from renewable resources. **Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.**, v. 65, p. 207-42, 1999.

HAN, K., LEVENSPIEL, O. Extended Monod kinetics for substrate, product, and cell inhibition. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 32, p. 430-437, 1988.

HASHIZUME, T. Tecnologia do vinho. In: GUIMARÃES, D. P. **Avaliação de estresse e do potencial fermentativo de isolados de *Saccharomyces* na microvinificação da jabuticaba**. 2006. 111f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras - MG, 2006.

HAYKIN, S. **Neural Networks**. A Comprehensive Foundation. Macmillan, New York, NY, 1994.

JIAO, B.; LIAN, Z; GU, X. **A Dynamic Inertia Weight Particle Swarm Optimization Algorithm**. *Chaos Solitons & Fractals*. n. 37, p. 698-705, 2008.

KARUPPAYA, M. et al. Optimization of process variables using response surface methodology (RMS) for ethanol production from cashew apple juice by *Saccharomyces cerevisiae*. **Asian Journal of food and agro-industry**, v. 3, p. 462-473, 2010.

KOLB, E. **Vinos de frutas – Elaboración artesanal e industrial**. Zaragoza – Espanha. Ed. Acribia, p. 232, 2002.

HOPFIELD, J. J. **Neural networks and physical systems with emergent collective computational abilities**. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A., v. 79, p. 2554-2558, 1982.

KRZYSZEK, L.; NOWICKI, L.; MICHALSKI, H. Macroapproach kinetics of ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*: experimental studies and mathematical modelling. **The Chem. Eng. J.**, v. 54, p. 221-240, 1994.

LANDAETA, R. et al. Adaptation of a flocculent *Saccharomyces cerevisiae* strain to lignocellulosic inhibitors by cell recycle batch fermentation. **Applied Energy**, v. 102, p. 124–130, 2013.

LEÃO, R. M., AMORIM, H. V. **Fermentação alcoólica, ciência e tecnologia**. Piracicaba, Fermentec, p. 448, 2005.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípio de bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Ed. Sarvier, p. 839, 1995.

LEI J et al. Ethanol tolerance and the variation of plasma membrane composition of yeast floc populations with different size distribution. **J. Biotechnol**, v. 131, p. 270-5, 2007.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. Fadiga. **In: Biotecnologia industrial: Processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo-SP. Edgard Blucher, v. 3, p. 1-43, 2001.

LIN, Y.; TANAKA, S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 69, n. 6, p. 627-642, 2006.

LORA, E. E. S.; VENTURINI, O. J. **Biocombustíveis: volume 1**. Rio de Janeiro: Interciência, 1200 f., 2012.

LUONG, J. H. T. Kinetics of Ethanol inhibition in Alcohol fermentation. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 27, p. 280-285, 1984.

MOHAN, P. R.; RAMESH, B.; REDDY, O. V. S. Production and optimization of ethanol from pretreated sugarcane bagasse using *saccharomyces bayanus* in simultaneous saccharification and fermentation. **Microbiology Journal**, 2012.

MOULING, G.; BOZE, H.; GALZY, P. Inhibition of alcoholic fermentation by substrate and ethanol. **Biotechnonology and Bioengineerin**, New York, v. 22, p. 235-2381, 1980.

MUNICÍPIOS DO CEARÁ. Fortaleza: n.74, 2007.

MURRAY, R. K.; GRANNER, D. K.; RODWELL, V. W. **Harper: bioquímica ilustrada**. AMGH, 27. ed. Porto Alegre, 2007.

NEELAKANDAN, T.; USHARANI, G.; Optimization and production of bioethanol from cashew Apple juice using immobilized yeast cells by *Saccharomyces cerevisiae*. **American-Eurasina journal of scientific research**, v. 4, p. 85-88, 2009.

NIELSEN, J.; VILLADSEN, J.; LIDÉN, G. **Bioreaction engineering principles**. 2. ed. New York, NY, USA, Kluwer Academic / Plenum Publishers, 2003.

NIGRIN, A. **Neural Networks for Pattern Recognition**, Cambridge, MA: The MIT Press. 1993.

OKONKOWSKI, J. *et al.* Development of a robust, versatile and scalable inoculum train for the production of a DNA vaccine. **Biotechnol. Prog.**, v. 21, n. 4, p. 1038-1047, 2005.

OLIVEIRA, L. P. **Seleção e aproveitamento Biotecnológico de frutos encontrados na Amazônia para elaboração de bebida alcoólica fermentada utilizando levedura imobilizada**. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2006.

PACHECO, T. F. **Fermentação alcoólica com leveduras de característica floculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2010.

PAIVA, T. C. B. P. *et al.* Continuous alcoholic fermentation process in a tower reactor with recycling of flocculating yeast. **Appl Biochem Biotechnol**, v. 57, n. 58, p. 535–541, 1996.

PELLICCI, R. L. **Modelagem e Simulação de Um Processo de Extração de Aromáticos Via Redes Neurais**. 2001, 130 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

PERRY, R. H.; GREEN, D. W. **Perry's chemical engineers' handbook**. 8. ed. New York: McGraw-Hill, 2008.

PINEDA, F. J. Generalization of back-propagation to recurrent neural networks. **Physical Review Letters**, v. 59, n 19, p. 2229-2232, 1987.

PINHEIRO, A. D. T. **Fermentação alcoólica do suco de caju (*Anacardium occidentale L.*): influência de condições operacionais**. 2011. 107 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza – Ceará, 2011.

PINHEIRO, A. D. T. **Viabilidade técnica e econômica da produção de etanol a partir do suco de caju por *Saccharomyces cerevisiae* floculante**. 2015. 186 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza – Ceará, 2015.

PISKUR, J.; ROZPEDOWSKA, E.; POLAKOVA, S. **How did *Saccharomyces* evolve to become a good brewer?** Trends in Genetics 22, p. 183-186, 2006.

PORTO, L.M. **Modelagem de processo industrial de fermentação alcoólica contínua com reatores de mistura ligados em série**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Departamento de Processos Biotecnológicos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2005.

POLI, R; KENNEDY, J; BLACKWELL, T. **Particle Swarm Optimization: An overview**. Swarm Intelligence. v. 1, p. 33-57, 2007.

RIEDMILLER, M.; BRAUN, H. **A direct adaptive method for faster backpropagation learning: The RPROP algorithm**. IEEE International Conference on, p. 586-591, 1993.

ROCHA, M. V. P. **Produção de bioetanol a partir de pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale L.*) por fermentação submersa**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2010.

ROCHA, M. V. P.; RODRIGUES, T. H. S.; MELO, V. M. M.; GONÇALVES, L. R. B.; MACEDO, G. R. Cashew apple bagasse as a source of sugars for ethanol production by *Kluyveromyces marxianus* CE025. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 38, p. 1099-1107, 2011.

RODRIGUES, T. H. S.; ROCHA, M. V. P.; MACEDO, G. R.; GONÇALVES, L. R. B. Ethanol Production from Cashew Apple Bagasse: Improvement of Enzymatic Hydrolysis by Microwave-Assisted Alkali Pretreatment. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 164, p. 929-943, 2011.

ROELS, J.A. **Energetics and Kinetics in Biotechnology**, Elsevier Biomedical, Amsterdam, 1983. SILVA, R.G. et al. A hybrid feedforward neural network model for the cephalosporin C production process. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, São Paulo, v. 17, n. 4-7, p. 587 – 597, 2000.

ROHSENOW, W. M.; HARTNETT, J. P.; CHO, Y. I. **Handbook of heat transfer**. McGraw-Hill. 1998.

RUMELHART, D. E.; MCCLELLAND, J. L. **Parallel distributed processing: Exploration in the microstructure of cognition**. MIT Press, Cambridge, Massachusetts, v. 1, 1986.

SCHMIDELL, W.; FACCIOTTI, M. R. **Biorreatores e processos fermentativos**. In: LIMA, U. A. et al. *Biotecnologia Industrial*. São Paulo: Edgard Blucher, v. 2, p. 179-192, 2001.

SINCLAIR, C. G.; KRISTIANSEN, B. **Fermentation kinetics and modeling**. Grã-Bretanha: Open University Press, 113 f., 1987.

SIQUEIRA, C. **Produção de etanol tem pior momento em 11 anos**. *Jornal O estado de São Paulo*, 2011. Disponível em < <http://economia.estadao.com.br/noticias/negocios,producao-do-etanol-tem-pior-momento-em-11-anos,81892e> > Acesso em: 11 nov 2015.

SHAH, P. et al. Strain improvement and up scaling of phytase production by *Aspergillus niger* NCIM 563 under submerged fermentation conditions. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.**, v. 36, n. 3, p. 373-380, 2009.

SHI, Y; EBERHART, R. **A Modified Particle Swarm Optimizer**. Proc. IEEE Int. Conf on Evolutionary Computation, p. 69-73, 1998.

SMITH, E. M. **Advances in thermal design of heat exchangers: a numerical approach: direct-sizing, step-wise rating and transients**. Wiley. 2005.

STANBURY, P. F.; WHITAKER, A.; HALL, S. J. **Principles of fermentation Technology**. 2. ed. Butter Whorth Heinemann, p. 269-272, 1995.

SOREN, .T. A. The demand for ethanol as a gasoline substitute. **Journal of Environmental Economics and Management**, 2011.

TANG, Y.Q. et al. Continuous ethanol fermentation from non-sulfuric acid-washed molasses using traditional stirred tank reactors and the flocculating yeast strain KF-7. **J. Biosci. Bioeng.**, v. 109, n. 1, p. 41-46, 2010.

THATIPAMALA, R.; ROHAI, S.; HILL, G. A. Effects of high product and substrate inhibition on the kinetics in biomass and products yields during ethanol batch fermentation. **Biotechnol. Bioeng.**, v. 40, n. 2, p. 289-297, 1992.

TOSETTO, G. M. **Influência da matéria-prima no comportamento cinético de levedura na produção de etanol**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil, 2002.

TOWLER, G.; SINNOTT, R. K. **Chemical Engineering Design: Principles, Practice and Economics of Plant and Process Design**. Elsevier. 2012.

VELTEN, K. **Mathematical Modeling and Simulation: Introduction for Scientists and Engineers**. Ilustrada. Wiley, 348 f., 2009.

VICENTE A, DLUHÝ M, FERREIRA EC, MOTA M, TEIXEIRA JA. Mass transfer properties of glucose and O₂ in *Saccharomyces cerevisiae* flocs. **Biochem Eng. J.**, v. 2, p. 35-43, 1998.

VON STOCKAR, U., LIU, J. S., Does microbial life always feed on negative entropy? Thermodynamic analysis of microbial growth. **Biochim. Biophys. Acta**, p. 191-211, 1999.

PUMA-VILLANUEVA, W. J. **Síntese automática de redes neurais artificiais com conexões à frente arbitrárias**. 2011. 220 f. Tese (Doutorado em Engenharia Elétrica) - Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2011.

UNICA. Etanol. **Aumento da mistura de etanol à gasolina beneficia setor sucroenergético**, 2015a. Disponível em: < <http://www.unica.com.br/noticia/4148482920337887669/aumento-da-mistura-de-etanol-a-gasolina-beneficia-setor-sucroenergetico/> > Acesso em: 11 nov 2015.

UNICA. **Vendas de etanol pelas unidades do centro-sul atingem 2,25 bilhões de litros no mês de dezembro**. 2015b. Disponível em: < <http://www.unica.com.br/noticia/37475625920328608058/vendas-de-etanol-pelas-unidades-do-centro-sul-atingem-2-por-cento2C25-bilhoes-de-litros-no-mes-de-dezembro/> > Acesso em: 11 nov 2015.

VOLESKY, B.; VOTRUBA, J. Modeling and optimization of fermentation processes. **Boca Raton: Elsevier**, 1992.

WALKER, G. M. The roles of magnesium in biotechnology. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton, v. 14, n. 4, p. 311-354, 1994.

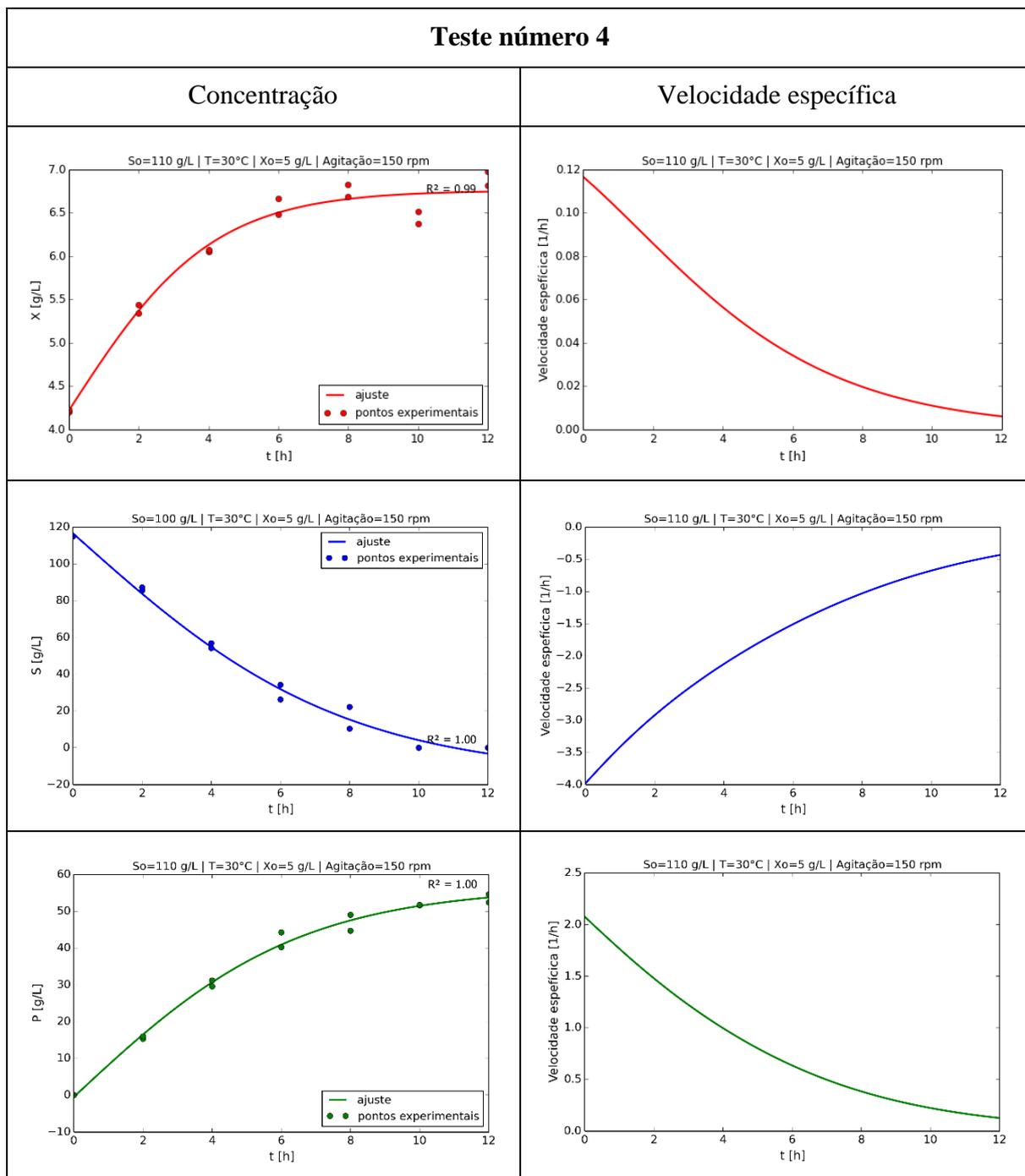
WERBOS, P. **Beyond regression: New tools for prediction and analysis in the behavioral sciences**. Ph.D. Thesis, Harvard University, 1974.

WESCHENFELDER, S. C. **Aplicação do custeio baseado em atividades na determinação do custo de produção de etanol a partir do sorgo sacarino em pequena unidade de produção**. 2011. 152 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia da Produção) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

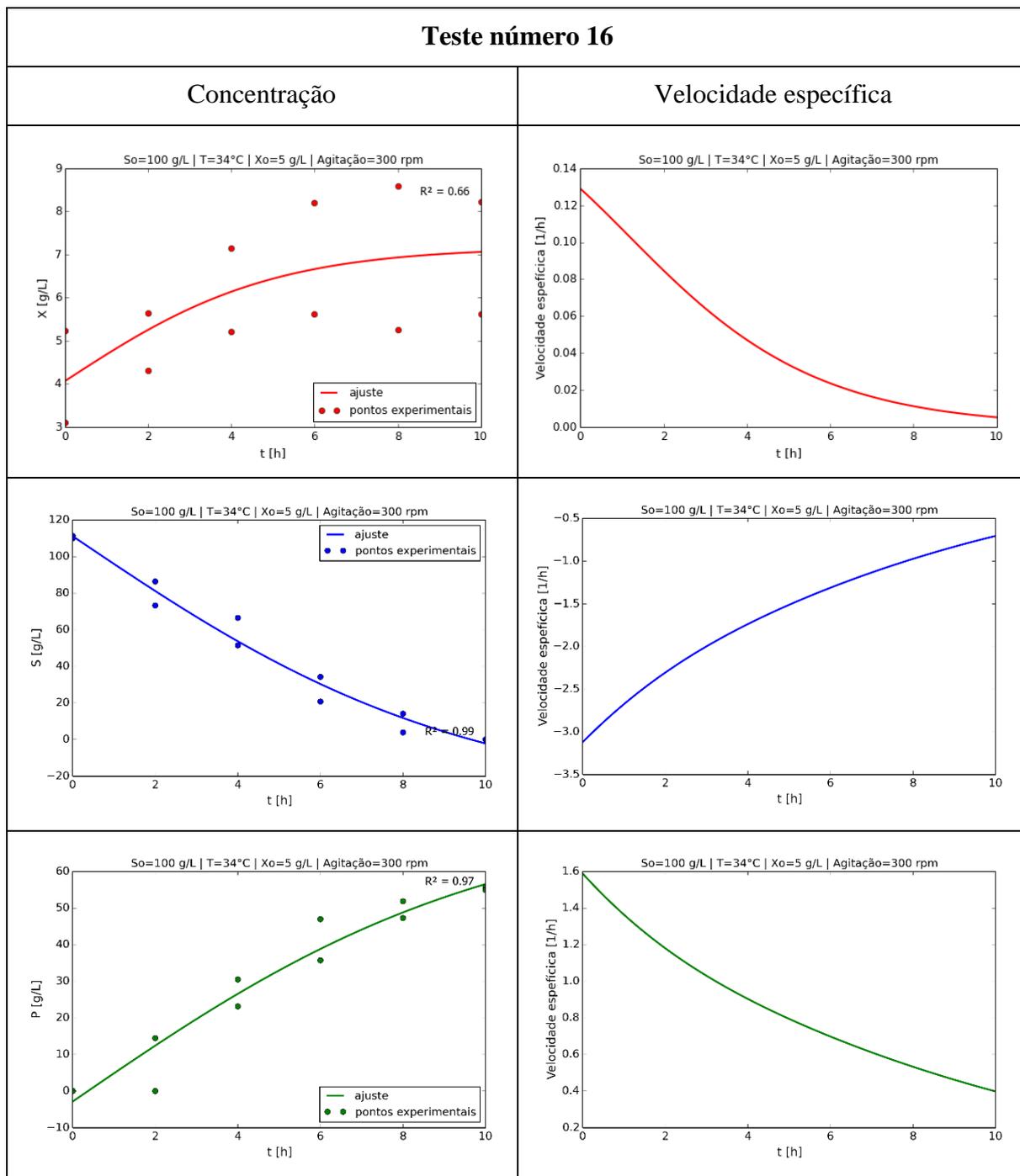
YALÇIN, S. K., ÖZBAS, Z. Y. Effects of different substrate on growth and glycerol production kinetics of a wine yeast strain *Saccharomyces cerevisiae* Narince 3. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 39, n. 10, p. 1285-1291, 2004.

ANEXO I: TRATAMENTO DOS DADOS EXPERIMENTAIS

- Regressão dos dados experimentais



Quadro I.1 - Teste 4: concentração e velocidade específica.



Quadro I.2 - Teste 16: concentração e velocidade específica.

- **Dados interpolados para intervalos de 30 minutos**

Tabela I.1 - Teste 4: dados estimados para concentração e velocidade específica.

Tempo	X_0	μ_x	S_0	μ_s	P_0	μ_p
0	4.214	0.148	116.616	-3.980	0.000	2.076
0.5	4.523	0.135	108.243	-3.695	3.900	1.923
1	4.823	0.121	99.937	-3.426	8.215	1.773
1.5	5.107	0.107	91.764	-3.174	12.430	1.629
2	5.367	0.092	83.786	-2.941	16.502	1.491
2.5	5.600	0.079	76.057	-2.723	20.392	1.360
3	5.804	0.066	68.626	-2.521	24.070	1.238
3.5	5.979	0.055	61.532	-2.332	27.514	1.122
4	6.127	0.045	54.806	-2.155	30.708	1.014
4.5	6.250	0.037	48.472	-1.988	33.646	0.914
5	6.352	0.030	42.542	-1.831	36.326	0.820
5.5	6.434	0.024	37.022	-1.682	38.754	0.734
6	6.501	0.018	31.913	-1.508	40.939	0.635
6.5	6.554	0.015	27.205	-1.379	42.894	0.564
7	6.597	0.012	22.888	-1.257	44.634	0.500
7.5	6.631	0.009	18.946	-1.143	46.175	0.441
8	6.658	0.007	15.360	-1.037	47.534	0.388
8.5	6.679	0.006	12.109	-0.939	48.729	0.341
9	6.696	0.005	9.171	-0.848	49.776	0.299
9.5	6.709	0.004	6.524	-0.764	50.691	0.261
10	6.720	0.003	4.144	-0.687	51.488	0.228

Tabela I.2 - Teste 16: dados estimados para concentração e velocidade específica.

Tempo	X_0	μ_x	S_0	μ_s	P_0	μ_p
0	4.055	0.129	111.149	-3.122	0.000	1.589
0.5	4.368	0.120	103.561	-2.930	1.003	1.492
1	4.674	0.109	96.015	-2.710	4.846	1.381
1.5	4.969	0.097	88.550	-2.510	8.653	1.281
2	5.246	0.086	81.206	-2.328	12.406	1.191
2.5	5.503	0.075	74.019	-2.162	16.089	1.110
3	5.737	0.065	67.021	-2.011	19.686	1.036
3.5	5.947	0.056	60.241	-1.872	23.185	0.968
4	6.133	0.047	53.706	-1.744	26.572	0.906
4.5	6.295	0.040	47.436	-1.625	29.837	0.848
5	6.436	0.034	41.446	-1.513	32.973	0.795
5.5	6.556	0.029	35.750	-1.429	35.973	0.754
6	6.658	0.024	30.355	-1.329	38.832	0.706
6.5	6.745	0.020	25.264	-1.234	41.547	0.660
7	6.818	0.017	20.479	-1.145	44.116	0.616
7.5	6.878	0.014	15.997	-1.061	46.540	0.575
8	6.929	0.011	11.811	-0.981	48.820	0.536
8.5	6.971	0.009	7.914	-0.906	50.959	0.499
9	7.006	0.008	4.297	-0.835	52.959	0.463
9.5	7.034	0.006	0.947	-0.769	54.826	0.430
10	7.058	0.005	0.000	-0.706	56.564	0.398

- **Dados pseudo-experimentais normalizados**

Tabela I.3 - Teste 4: Dados pseudo-experimentais normalizados.

Tempo	X	S	μ_x	μ_s	μ_p
0	0.076	0.672	0.598	-0.807	0.974
0.05	0.107	0.623	0.548	-0.748	0.902
0.1	0.137	0.576	0.492	-0.693	0.832
0.15	0.166	0.528	0.433	-0.642	0.764
0.2	0.192	0.483	0.374	-0.594	0.699
0.25	0.216	0.438	0.319	-0.549	0.638
0.3	0.237	0.395	0.268	-0.508	0.580
0.35	0.254	0.354	0.222	-0.469	0.526
0.4	0.269	0.316	0.183	-0.433	0.476
0.45	0.282	0.279	0.149	-0.398	0.428
0.5	0.292	0.245	0.121	-0.366	0.385
0.55	0.301	0.213	0.098	-0.336	0.344
0.6	0.307	0.184	0.074	-0.300	0.298
0.65	0.313	0.157	0.059	-0.273	0.265
0.7	0.317	0.132	0.047	-0.248	0.234
0.75	0.320	0.109	0.038	-0.225	0.207
0.8	0.323	0.088	0.030	-0.203	0.182
0.85	0.325	0.070	0.024	-0.183	0.160
0.9	0.327	0.053	0.019	-0.164	0.140
0.95	0.328	0.038	0.015	-0.147	0.123
1	0.329	0.024	0.012	-0.131	0.107

Tabela I.4 - Teste 16: Dados pseudo-experimentais normalizados.

Tempo	X	S	μ_x	μ_s	μ_p
0	0.059	0.640	0.522	-0.631	0.745
0.05	0.091	0.596	0.487	-0.592	0.700
0.1	0.122	0.553	0.441	-0.546	0.648
0.15	0.152	0.510	0.394	-0.505	0.601
0.2	0.180	0.468	0.348	-0.468	0.559
0.25	0.206	0.426	0.304	-0.434	0.520
0.3	0.230	0.386	0.263	-0.403	0.486
0.35	0.251	0.347	0.225	-0.375	0.454
0.4	0.270	0.309	0.192	-0.348	0.425
0.45	0.286	0.273	0.162	-0.324	0.398
0.5	0.301	0.239	0.136	-0.301	0.373
0.55	0.313	0.206	0.118	-0.284	0.354
0.6	0.323	0.175	0.098	-0.263	0.331
0.65	0.332	0.146	0.082	-0.244	0.309
0.7	0.339	0.118	0.068	-0.225	0.289
0.75	0.346	0.092	0.056	-0.208	0.270
0.8	0.351	0.068	0.046	-0.192	0.251
0.85	0.355	0.046	0.038	-0.176	0.234
0.9	0.358	0.025	0.031	-0.162	0.217
0.95	0.361	0.005	0.025	-0.148	0.202
1	0.364	0.000	0.021	-0.135	0.187

ANEXO II: MODELO CINÉTICO

- **Parâmetros dos modelos**

Tabela II.1 – Parâmetros cinéticos estimados para os modelos.

Parâmetros do modelo	Modelos			
	Monod	Andrews	Levenspiel	Ghose and Tyagi
μ_{\max} (h ⁻¹)	0.099	0.197		0.200
K_s (g/L)	0.001	25.25		23.587
K_i (g/L)	-	102.48		103.443
P_{\max} (g/L)	-	-		201.443
$Y_{x/s}$ (g/g)	0.031	0.031	Não ajustou	0.031
$Y_{p/x}$ (g/g)	14.749	16.332		15.700
n	-	-		-
m_s (h ⁻¹)	0.110	0.366		0.272
k_d (h ⁻¹)	0.112	0.089		0.054

Tabela II.2 – Parâmetros da equação de Arrhenius modificado estimados para os modelos.

Modelo		Parâmetros do modelo			
		A	B	C	D
Andrews	μ_{\max}	2.305	-61.786	-15.326	-152.713
	$Y_{x/s}$	-0.187	-83.083	0.050	-3.288
	$Y_{p/x}$	41.086	-52.601	43.330	-52.015
Ghose & Tyagi	μ_{\max}	2.822	-72.568	-25.370	-182.614
	$Y_{x/s}$	-0.187	-83.083	0.050	-3.288
	$Y_{p/x}$	41.086	-52.601	43.330	-52.015

- **Simulações: Modelo 2**

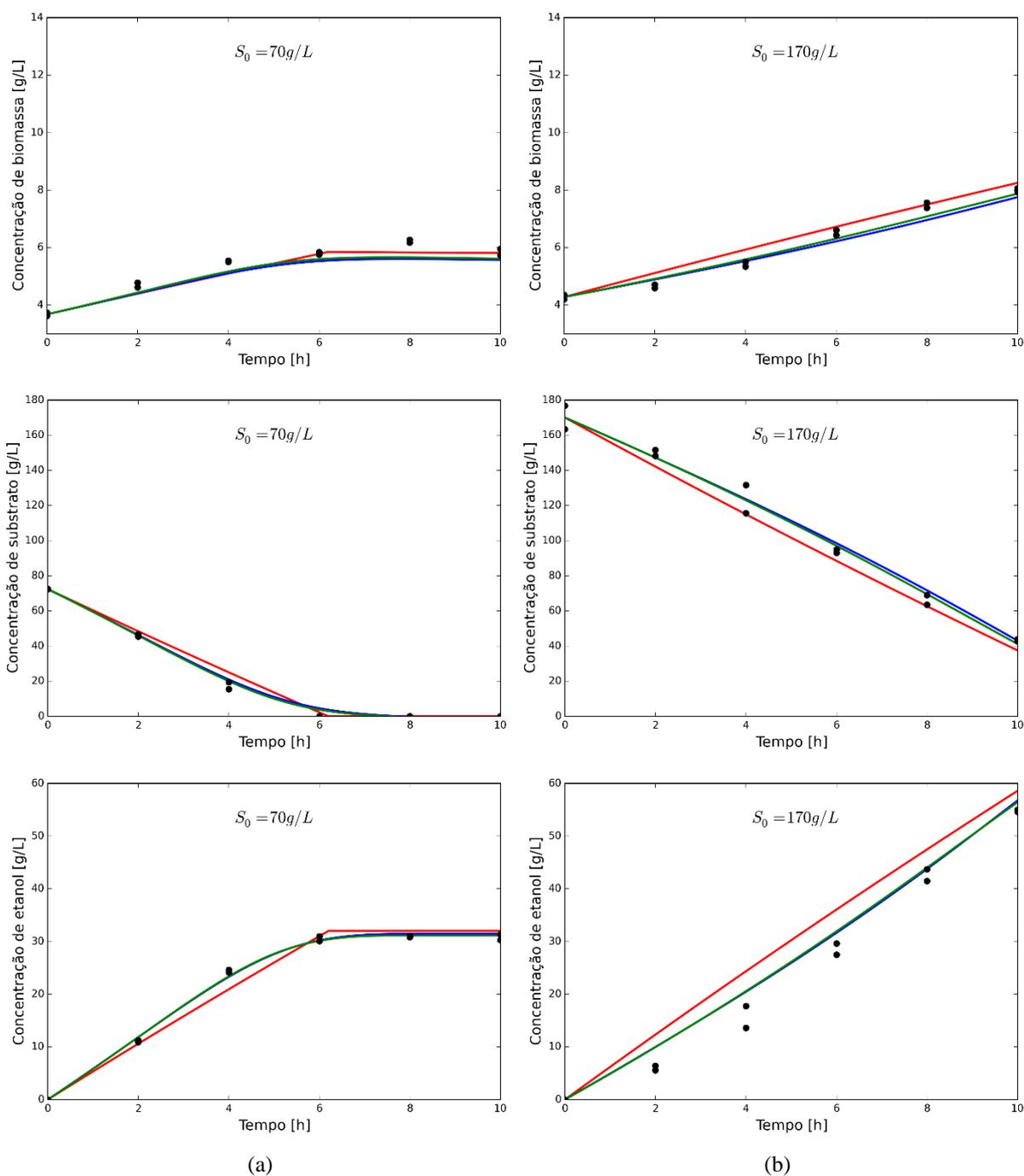


Figura II.1 - Simulação do Modelo 2 para os valores limite de concentração inicial de substrato: (a) $S_0 = 70\text{g/L}$ e (b) $S_0 = 170\text{g/L}$. (●) Dados experimentais; (—) Modelo de Monod; (—) Modelo de Andrews; (—) Modelo de Ghose & Tyagi.

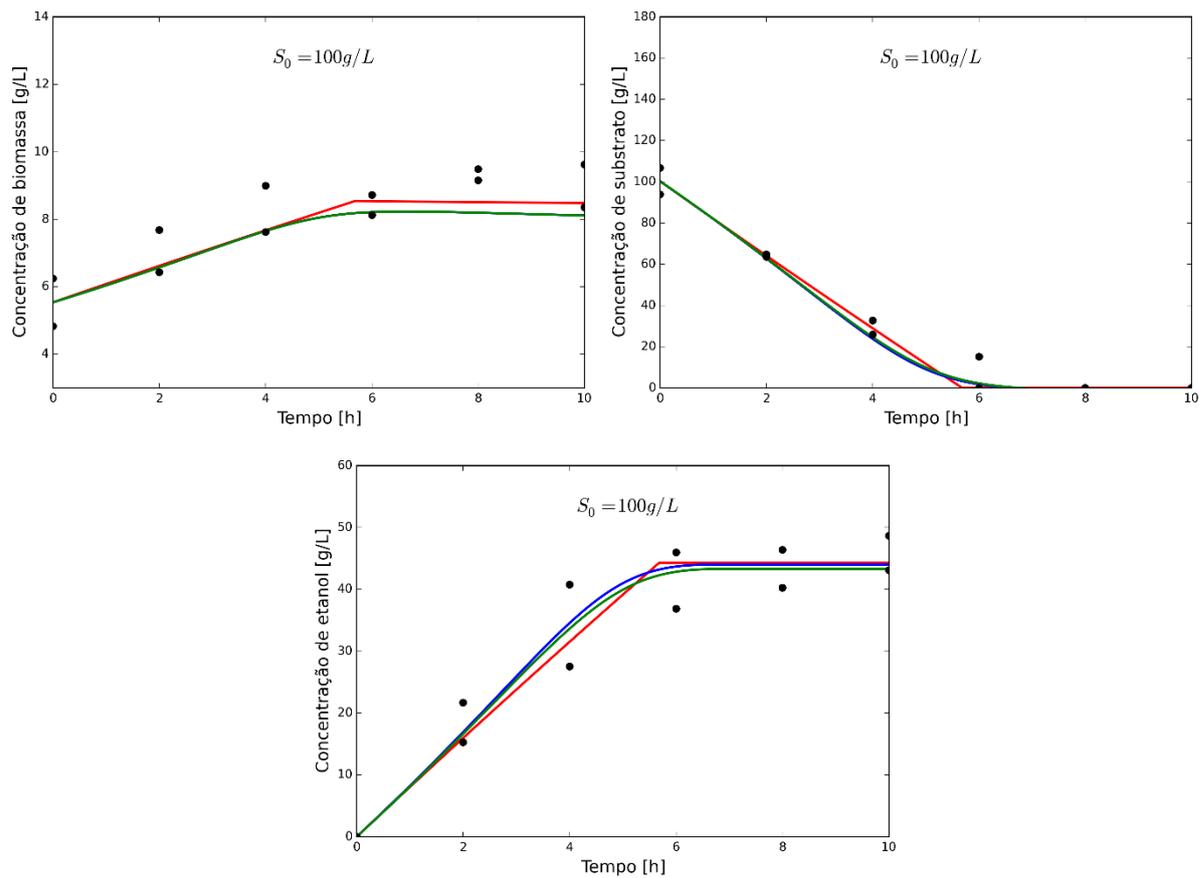


Figura II.2 - Validação do Modelo 2 utilizando teste 8: (●) Dados experimentais; (—) Modelo de Monod; (—) Modelo de Andrews; (—) Modelo de Ghose & Tyagi.

- **Simulações: Modelo 3**

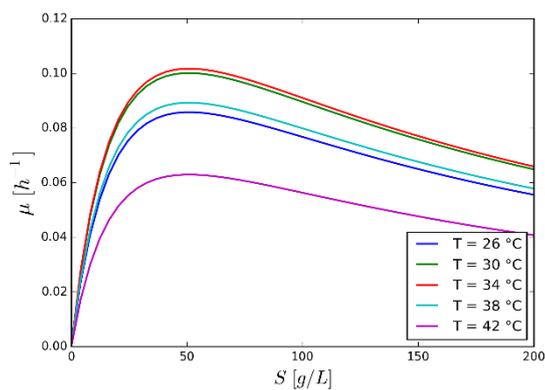


Figura II.3 - Efeito da temperatura para o modelo cinético de Andrews.

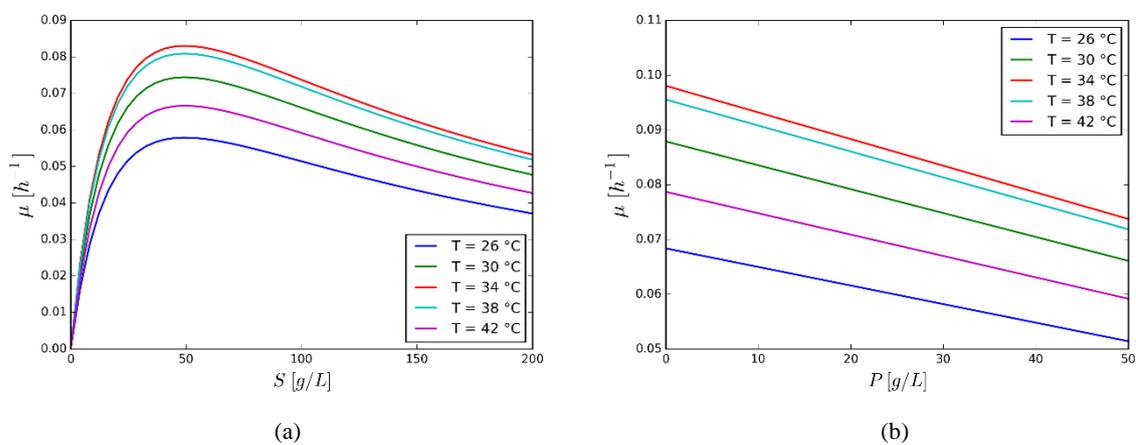


Figura II.4 - Efeito da temperatura para o modelo cinético de Ghose & Tyagi: (a) influência do substrato para $P = 50$ g/L e (b) influência do produto para $S = 100$ g/L.

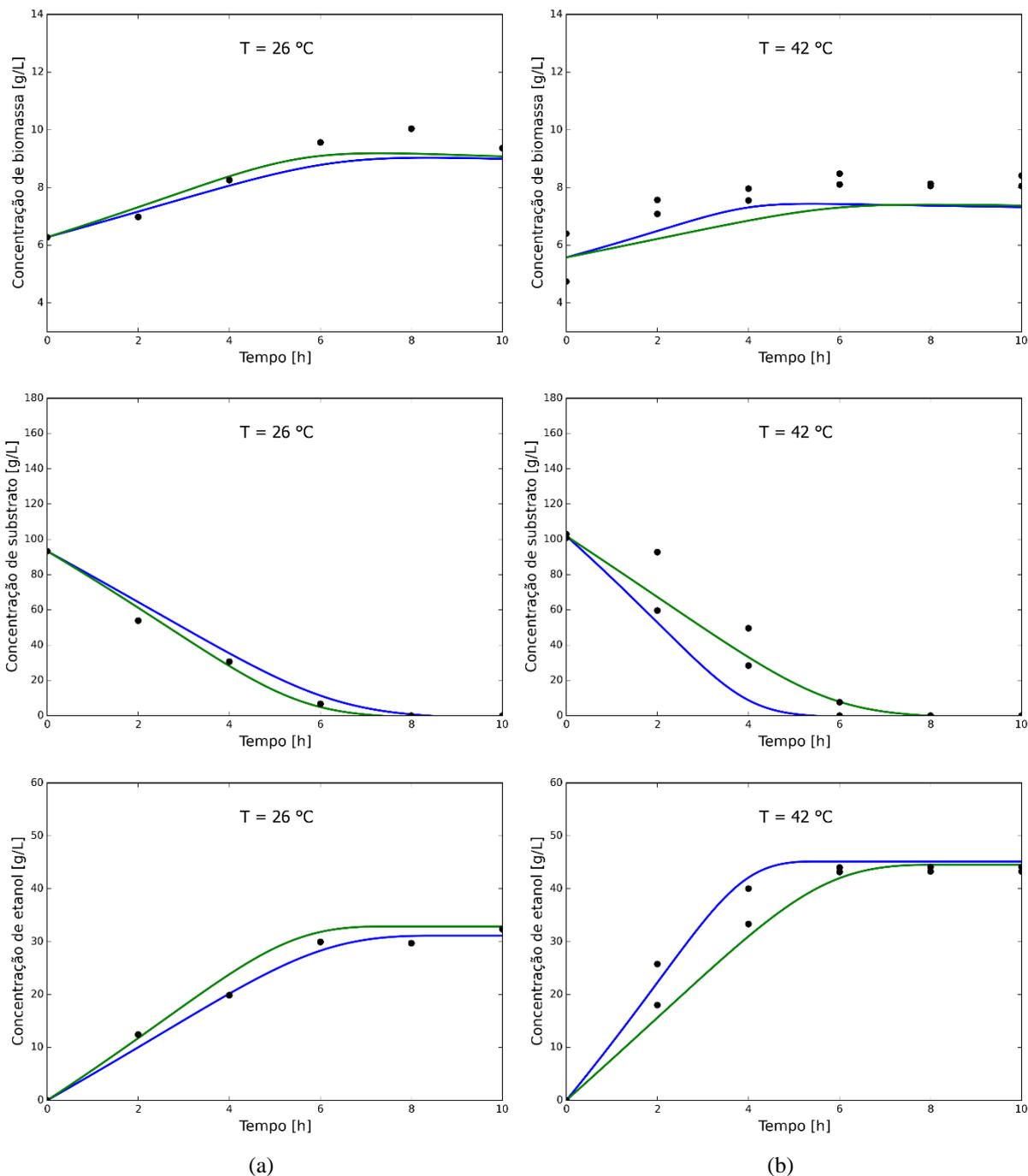


Figura II.5 - Simulação do Modelo 3 para os valores limite de temperatura: (a) $T = 26\text{ }^{\circ}\text{C}$ e (b) $T = 42\text{ }^{\circ}\text{C}$. (●) Dados experimentais; (—) Modelo de Andrews; (—) Modelo de Ghose & Tyagi.

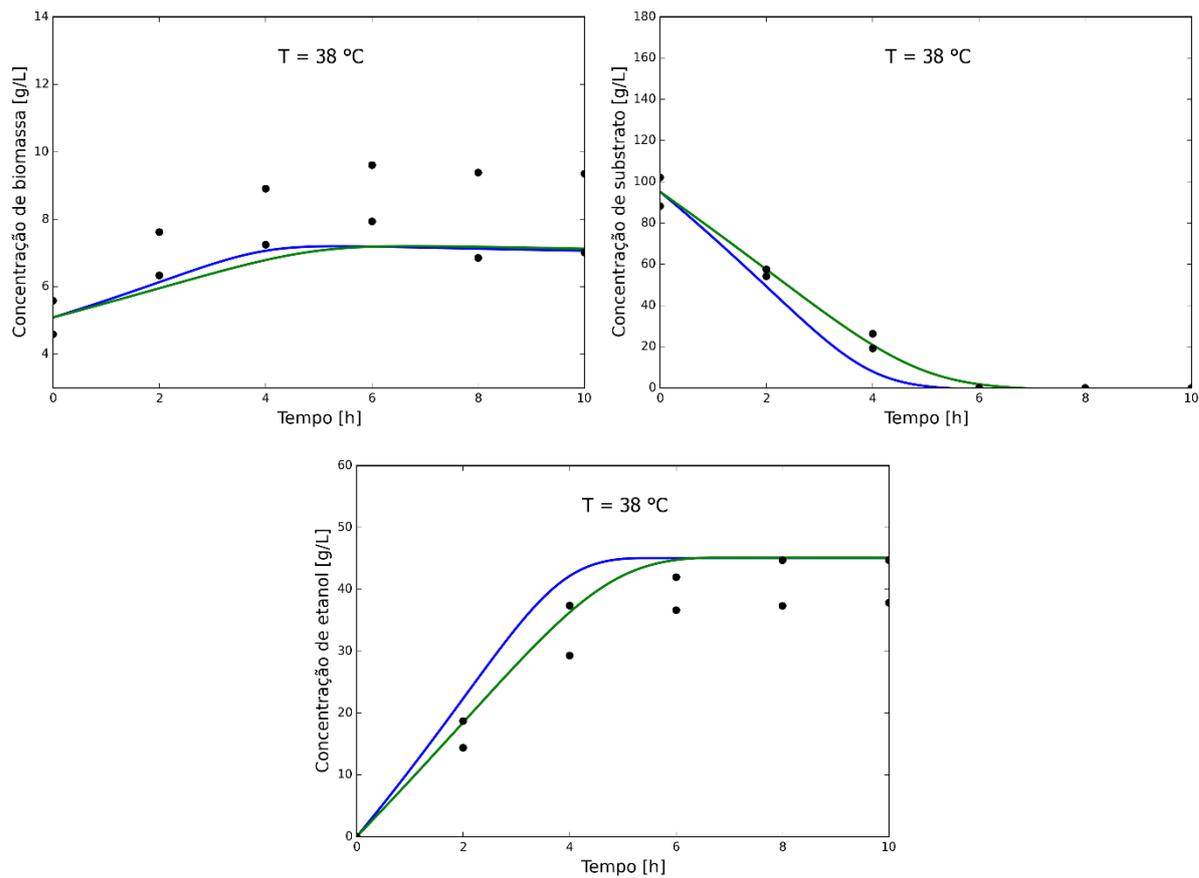


Figura II.6 - Validação do Modelo 3 utilizando teste 10: (●) Dados experimentais; (—) Modelo de Andrews; (—) Modelo de Ghose & Tyagi.

ANEXO III: SIMULAÇÕES

• Modelo 1

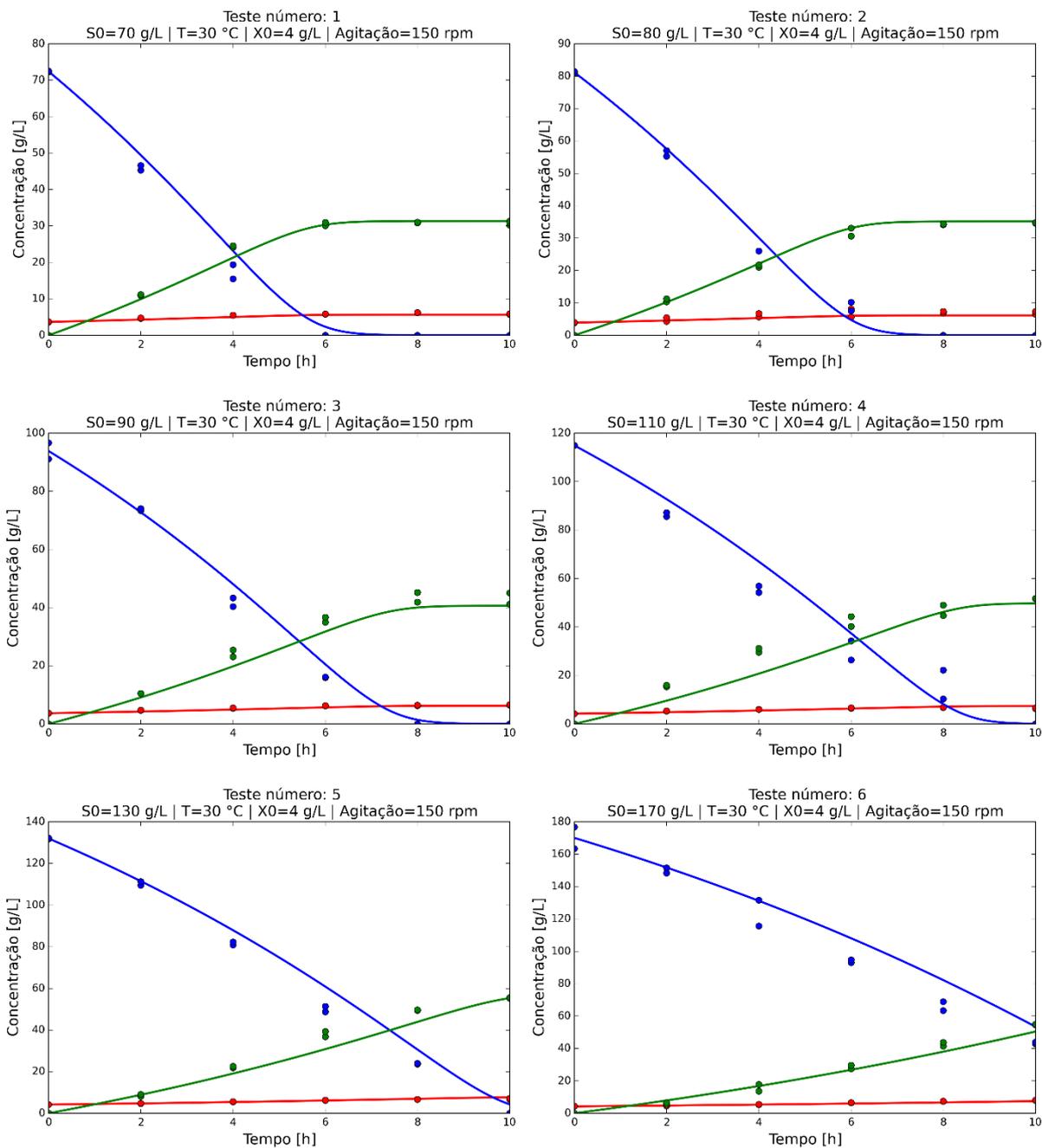


Figura III.1 - Comparação da simulação com os dados experimentais da fermentação do suco de caju utilizando *S. cerevisiae*: (●) Biomassa (Massa seca - $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de açúcares redutores totais ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de etanol ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (—) Modelo 1: modelo sem morte e manutenção celular.

• **Modelo 2**

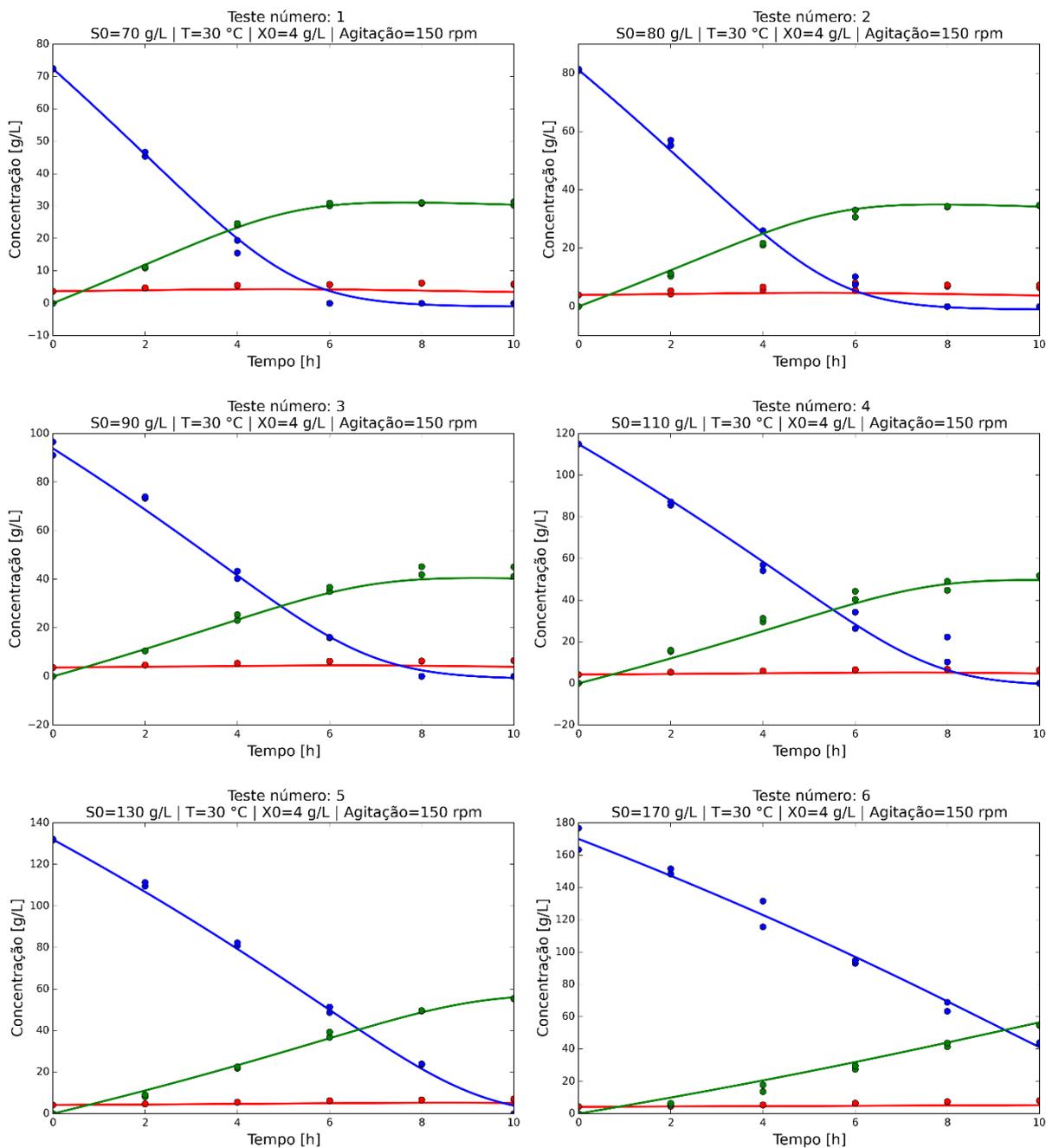
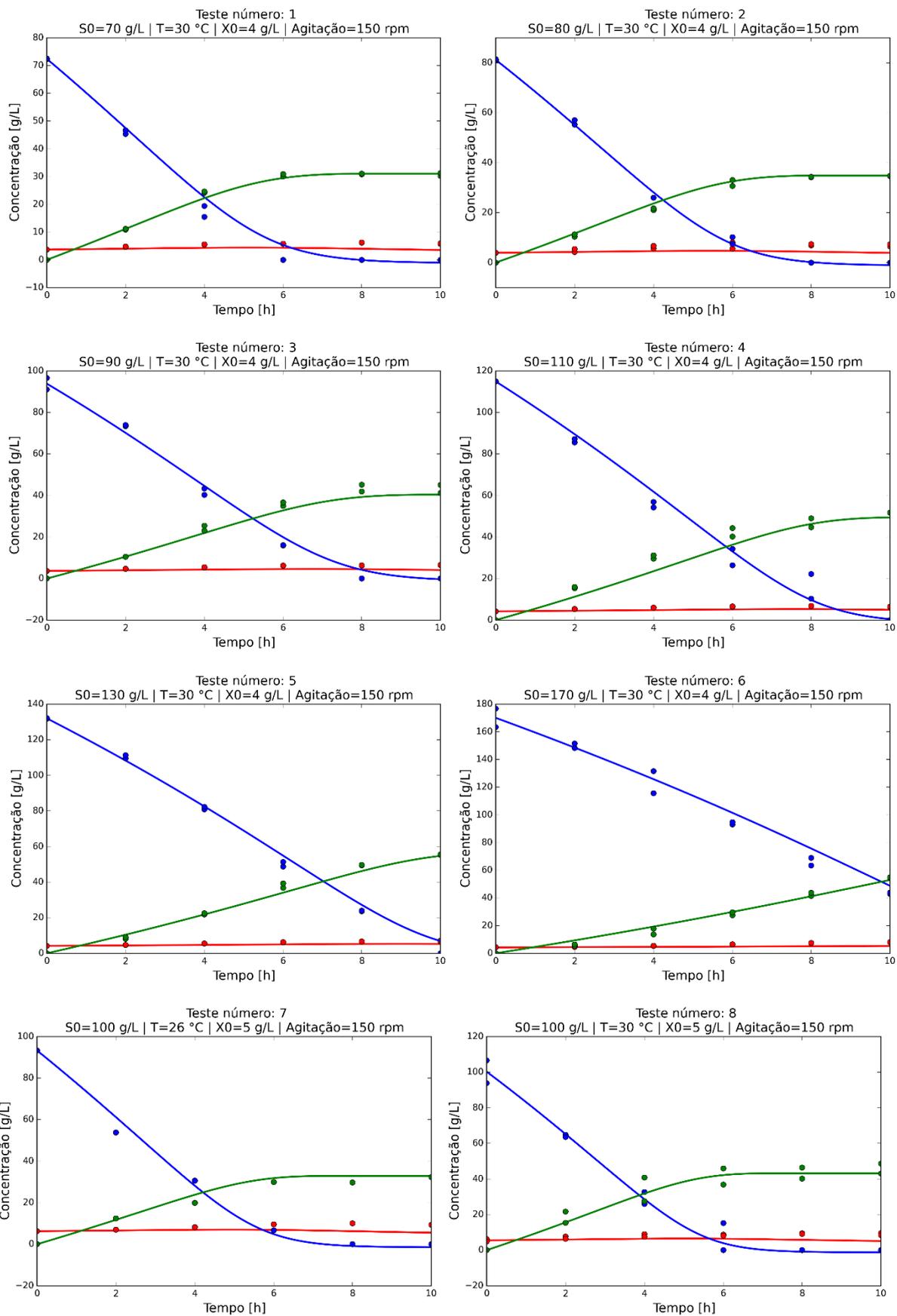


Figura III.2 - Comparação da simulação com os dados experimentais da fermentação do suco de caju utilizando *S. cerevisiae*:

- (●) Biomassa (Massa seca - $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de açúcares redutores totais ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); (●) Concentração de etanol ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$);
 (—) Modelo 2: influência da concentração inicial de substrato.

- Modelo 3



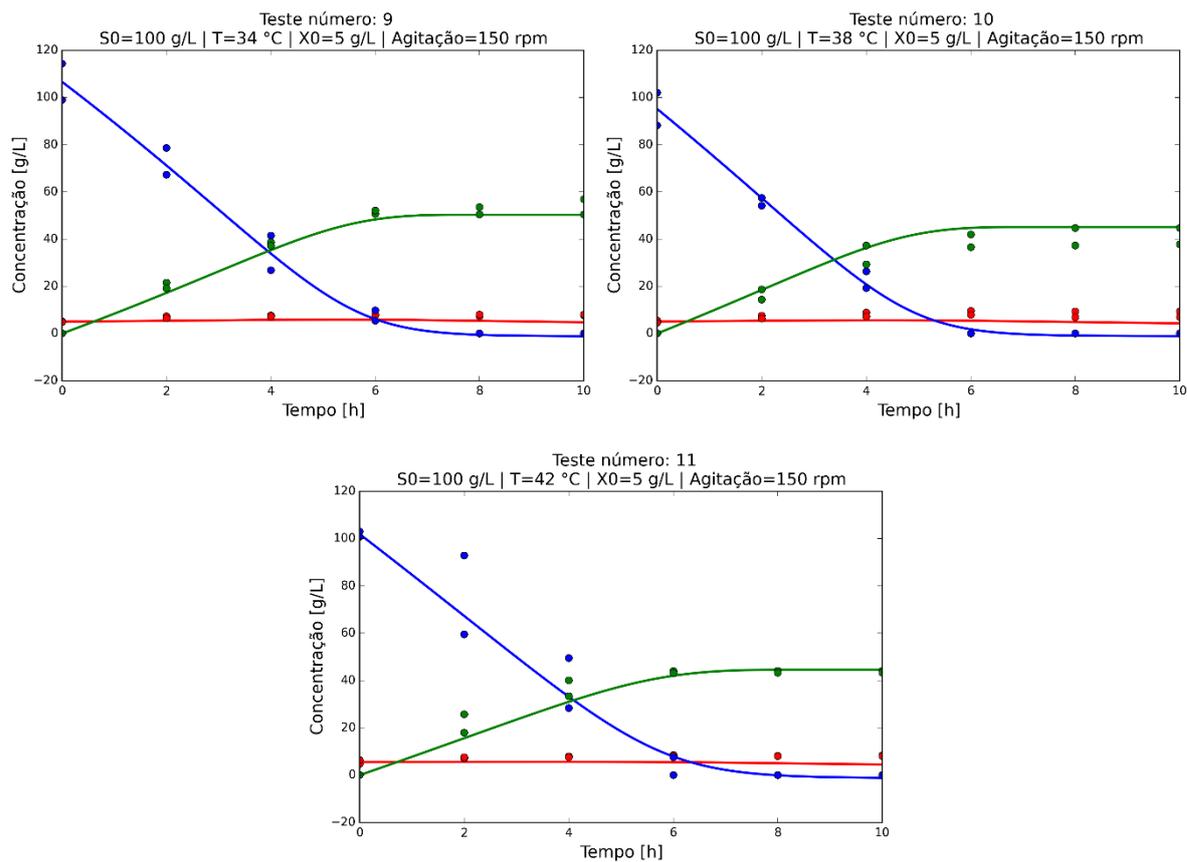
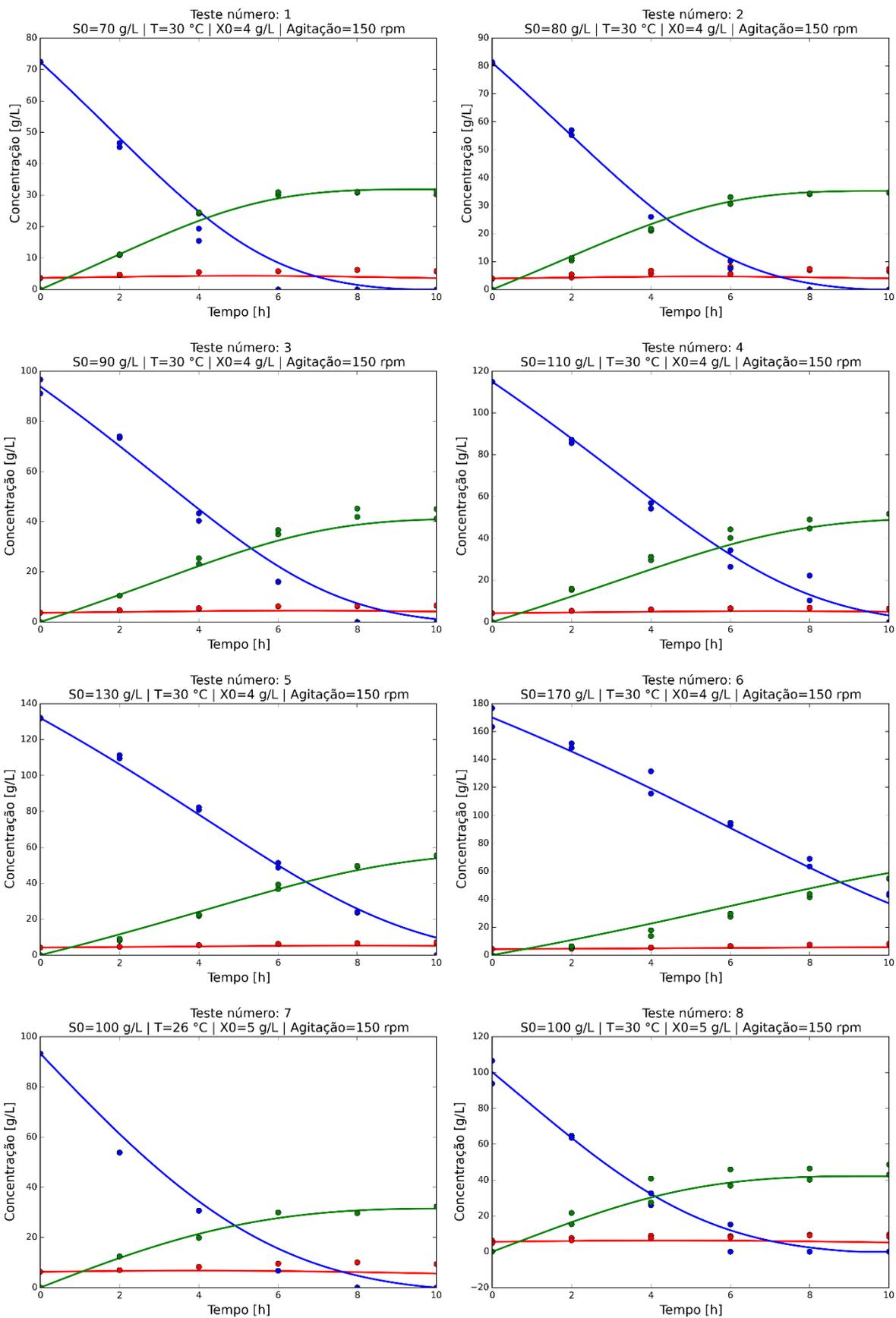
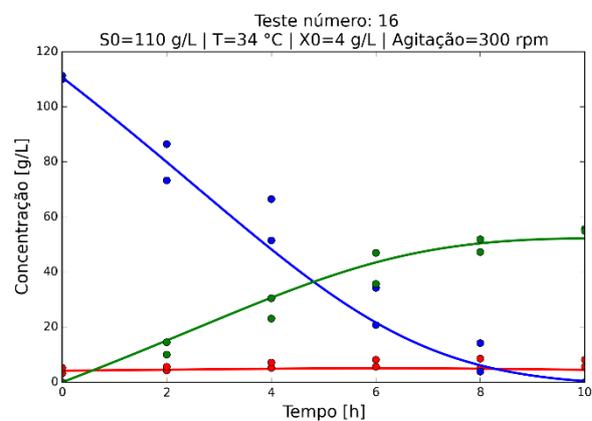
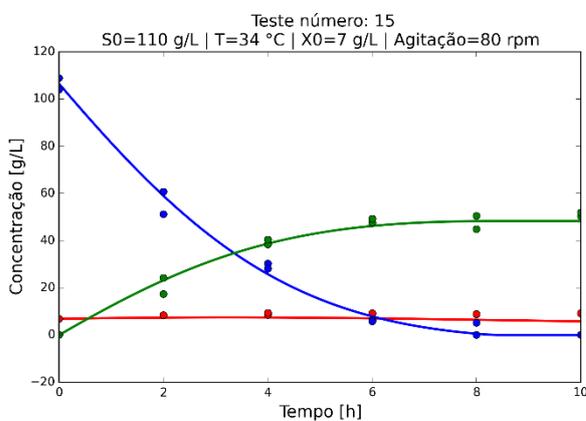
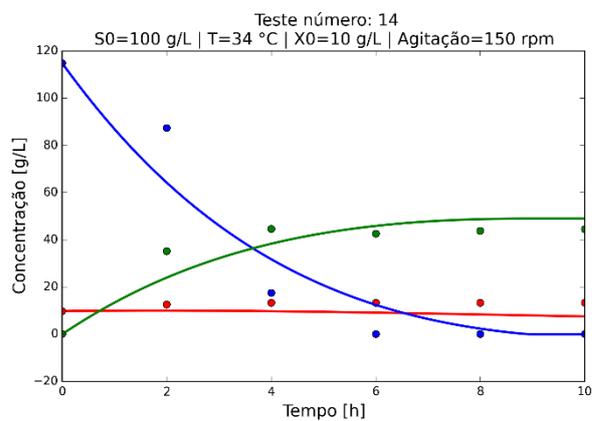
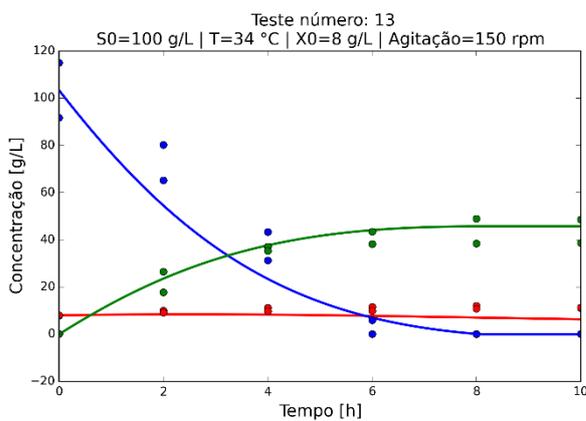
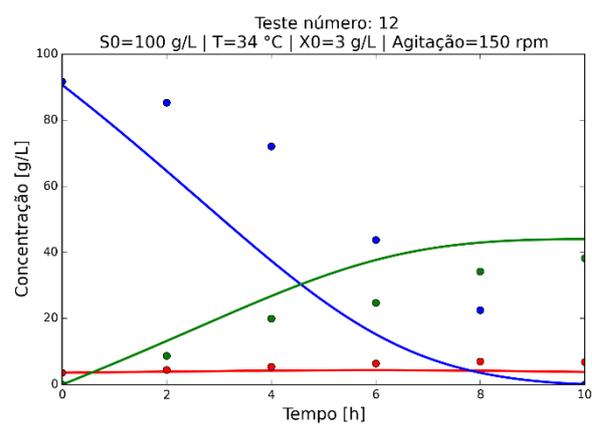
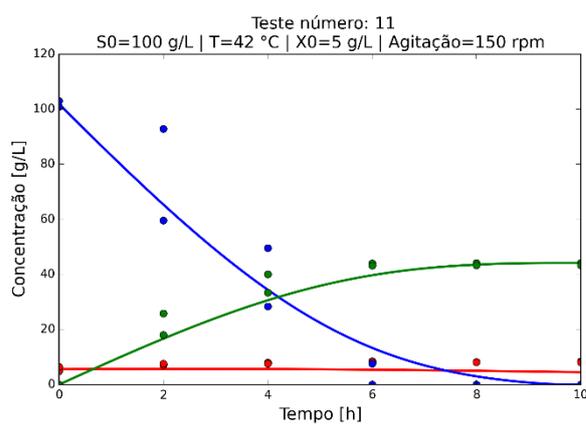
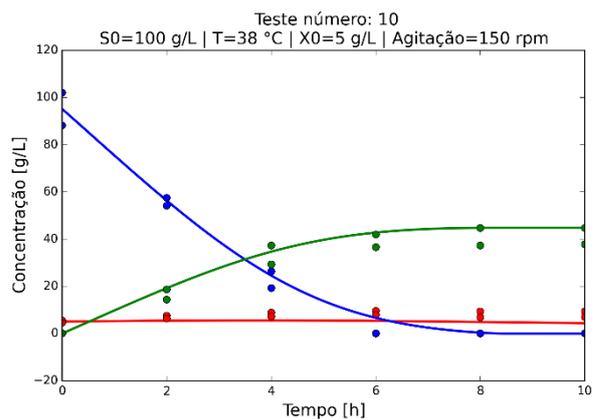
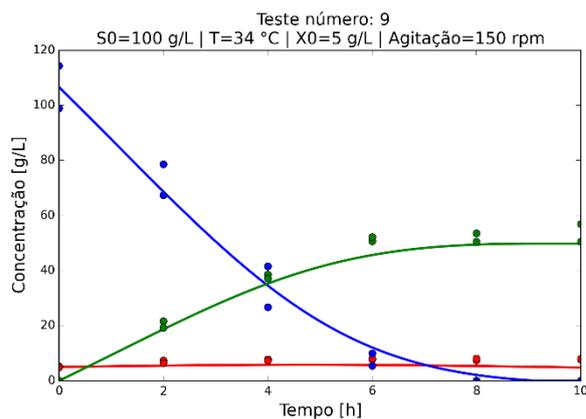


Figura III.3 - Comparação da simulação com os dados experimentais da fermentação do suco de caju utilizando *S. cerevisiae*:
 (●) Biomassa (Massa seca - g.L⁻¹); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L⁻¹); (●) Concentração de etanol (g.L⁻¹);
 (—) Modelo 3: influência da temperatura.

- **Modelo 4**





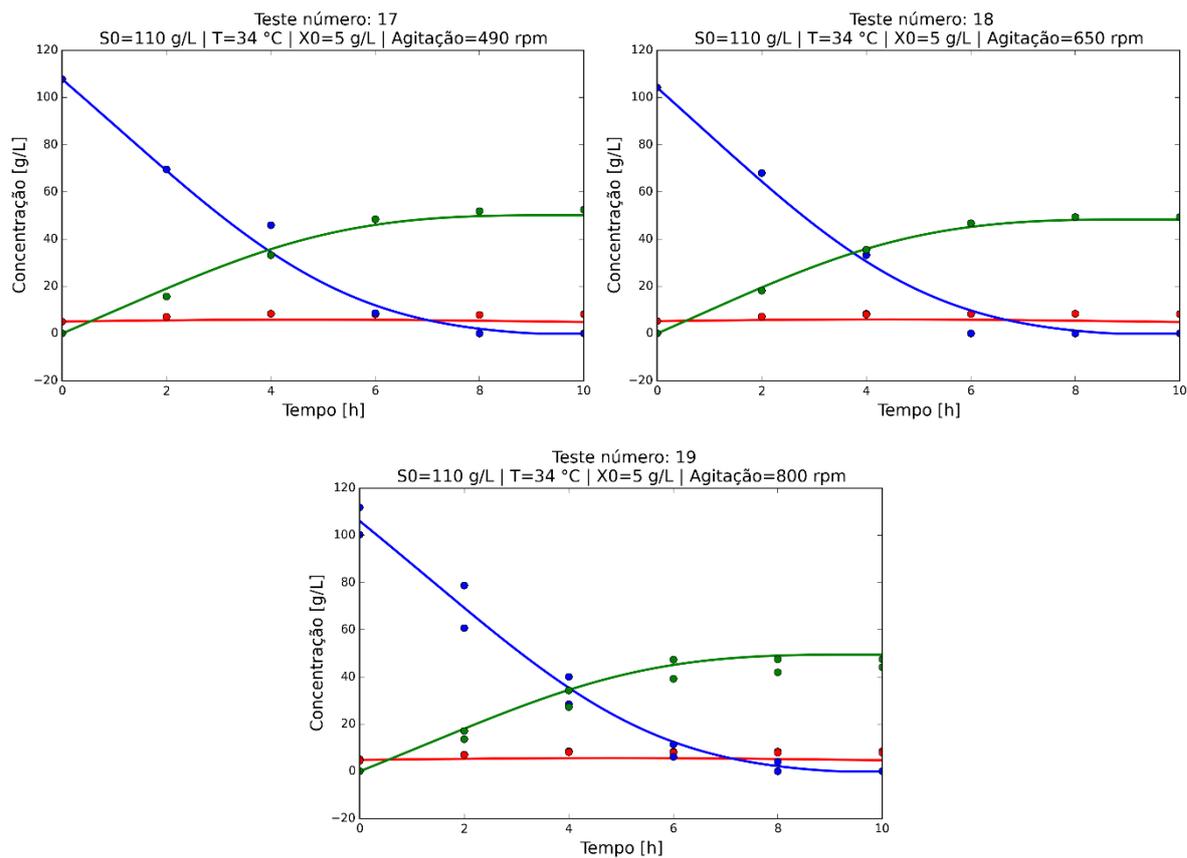
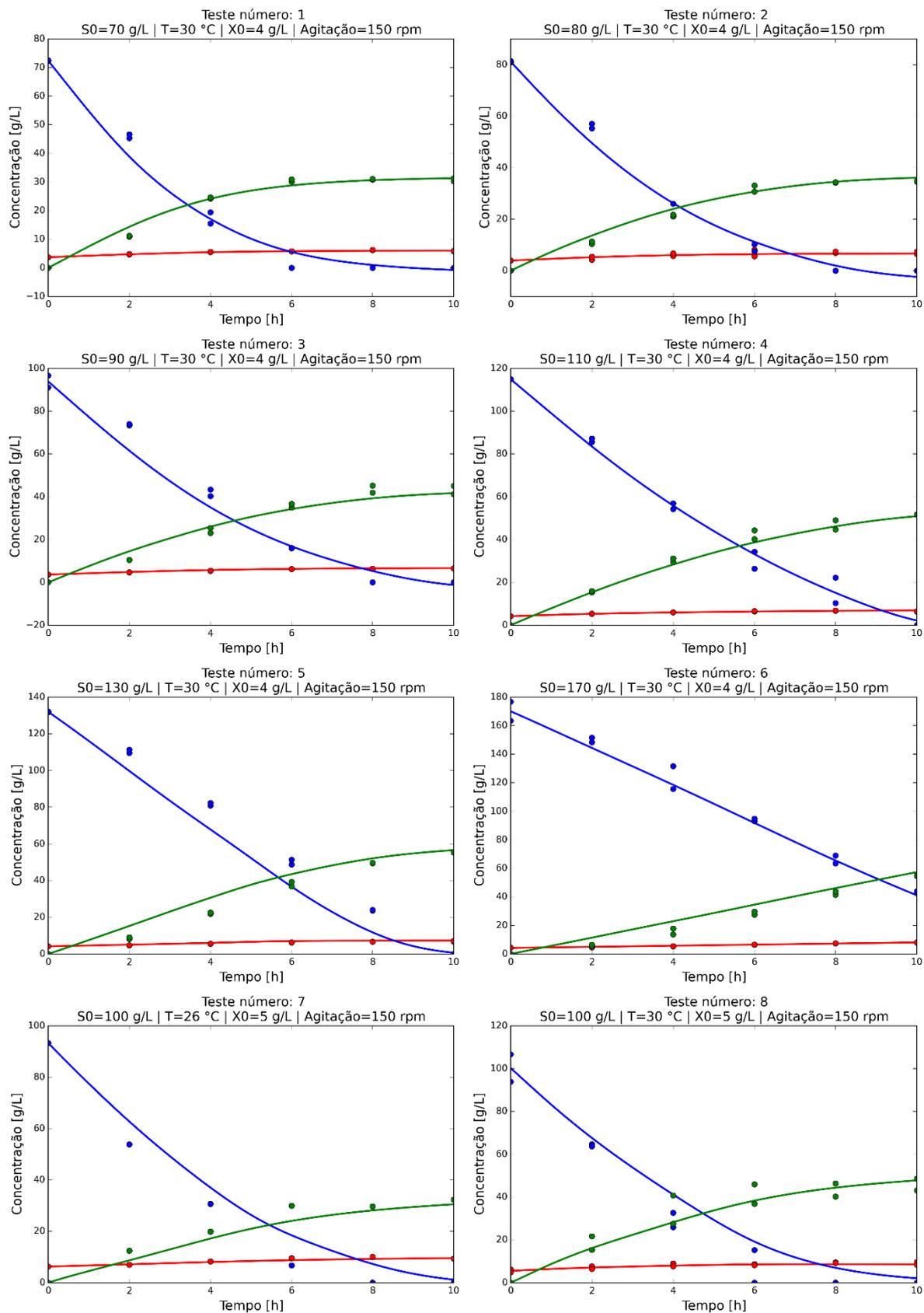
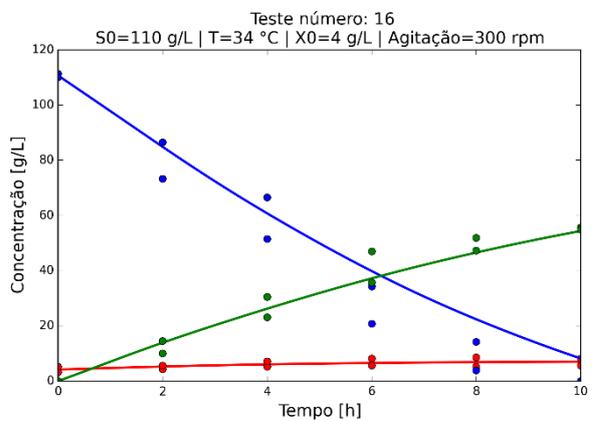
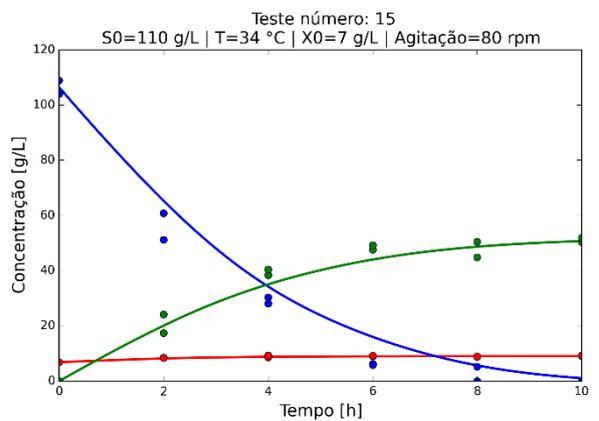
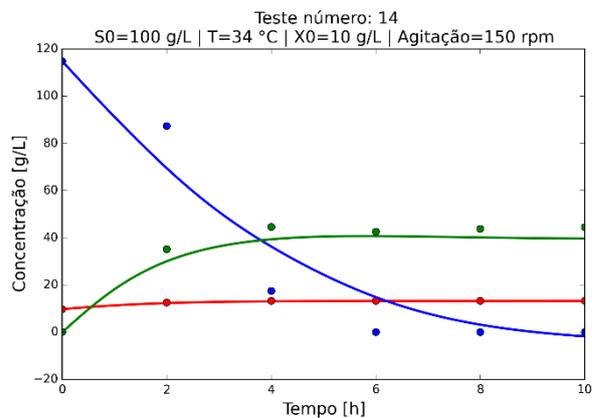
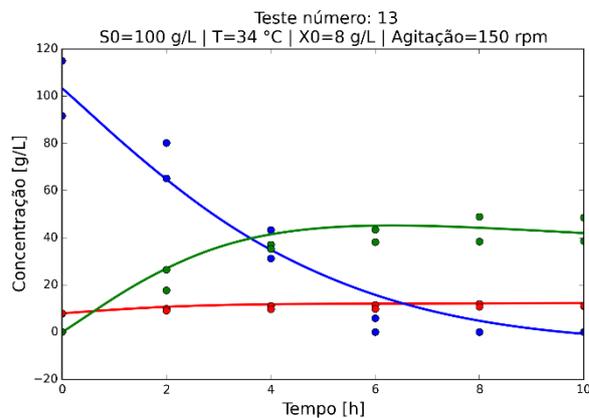
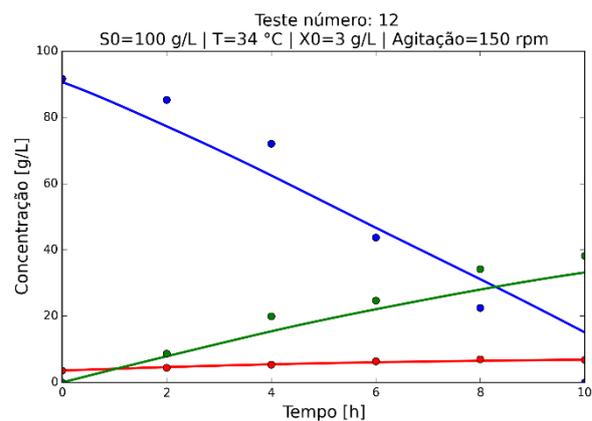
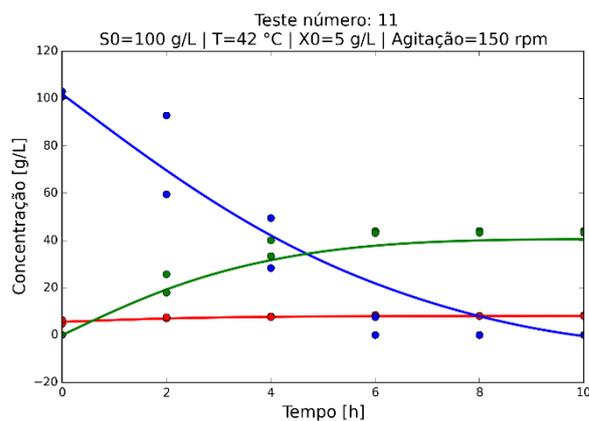
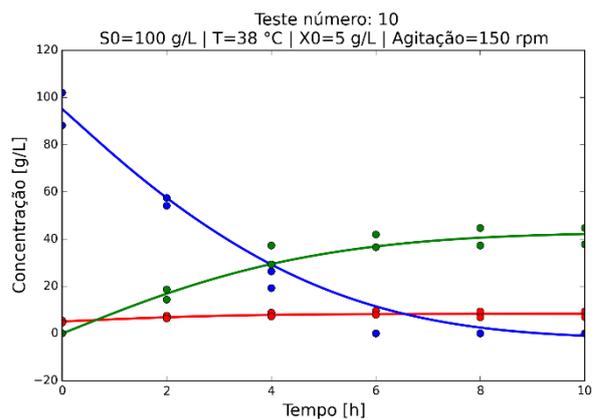
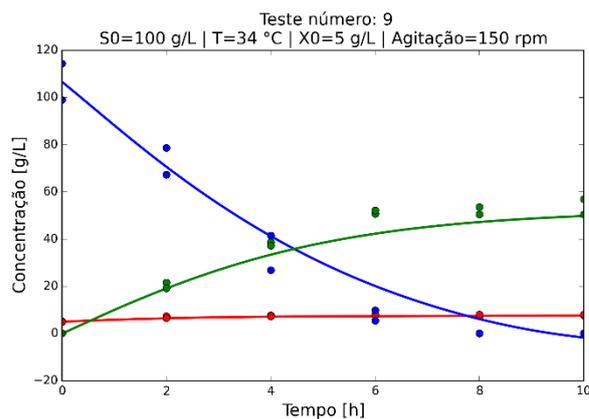


Figura III.4 - Comparação da simulação com os dados experimentais da fermentação do suco de caju utilizando *S. cerevisiae*:
 (●) Biomassa (Massa seca - g.L⁻¹); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L⁻¹); (●) Concentração de etanol (g.L⁻¹);
 (—) Modelo 4: influência da concentração inicial de célula e agitação.

- **Modelo 5**





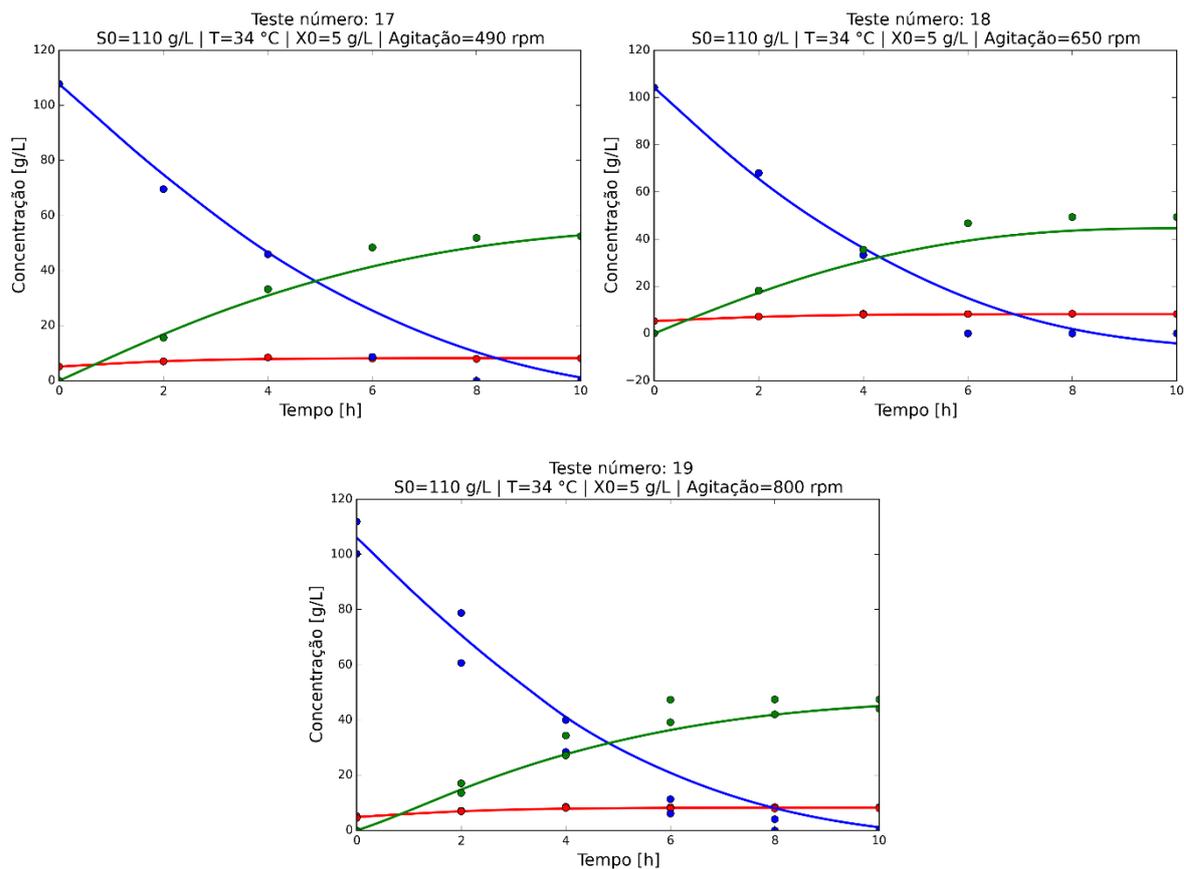


Figura III.5 - Comparação da simulação com os dados experimentais da fermentação do suco de caju utilizando *S. cerevisiae*:
 (●) Biomassa (Massa seca - g.L⁻¹); (●) Concentração de açúcares redutores totais (g.L⁻¹); (●) Concentração de etanol (g.L⁻¹);
 (—) Modelo 5: modelo híbrido.